

体の中の構造を再現するための三次元培養の挑戦あれこれ

中辻 博貴

培養皿で平面的に培養されている細胞と私たちの体の中で働いている細胞は、異なる性質を示すことが知られている。私たちの体では、いろいろな種類の細胞や細胞外マトリックス（ECM）と呼ばれる細胞外に存在するタンパク質や糖が、三次元的に複雑な構造を取っており、相互作用しながら働いているためである。イメージしやすく例えるならば、パソコンパーツ（取り出した細胞）とパソコン（体の中で相互作用している細胞集団）で性質が大きく異なるというのは納得のいく話だと思う。そこで、実際の体内の組織を再現できるように三次元的に細胞を培養する方法が研究されるようになった。よく知られた成功例として、肝細胞を三次元的に培養して移植することで肝機能・生存率を向上させ、ガン細胞では、薬剤に対する耐性が向上することが報告されている。そのため、三次元培養技術は再生医療における移植効果を向上させる手段としてや、生体内の細胞機能を評価する研究ツール、薬剤テストのためのモデルとして期待され国内外で盛んに研究されるようになった¹⁾。そこで、本稿では体の外で生体の微細な構造を模倣し、その機能を再現することを目的とした三次元培養技術のいろいろなアプローチについて紹介する。

アプローチの指針としては、大きく分けて細胞の自己組織化を利用して構築する手法と細胞の接着する足場材料を用いたアプローチがあげられる（図1）。

細胞の自己組織化を利用する手法として、もっとも盛んに用いられているものの一つにスフェロイド化技術があげられる。細胞同士の接着力が細胞-培養基材間よりも高い環境におくことで、細胞を自発的に凝集させ塊状の細胞組織（スフェロイド）が構築できる。スフェロイドにすることで細胞間の相互作用の影響を効果的に高め

ることができ、細胞機能の向上などが報告されている。さらに近年では、再生医療関連技術の発展により、特定の臓器の幹細胞が比較的容易に得られるようになり、それらを適切な条件下でスフェロイド培養することで臓器の構造・機能を持つオルガノイド、と呼ばれる組織を構築できるようにもなっている²⁾。ただ、これらの細胞凝集塊は養分や酸素の供給を拡散に頼っているため、一定以上の大きさになると内部が壊死してしまうことやECMの影響が再現されていないなどの課題も存在している。そのため、血管内皮細胞と共培養することで管構造を持たせる方法や細胞の凝集時にECM成分も一緒に凝集させる方法などの検討もなされている。

足場材料を用いた手法は、細胞接着材料で形作った細胞足場に細胞を播種することで三次元培養組織を構築する技術である。足場材料としては、細胞が接着できること、栄養分や酸素が十分に行きわたる構造もしくは性質を持つこと、生体を模倣するために構造を精密に制御できることが要求される。その物性を比較的自由に變更できるため、ECMと細胞の相互作用の研究が容易であり、また自己組織化に比べて再現性・生産性も高いという利点がある。また、最近では3Dプリンティング技術が発展し³⁾、インクジェットであればサブミリオオーダー、レーザー掘削であればマイクロオーダーで構造が制御可能になり、複雑な内部構造を持つ足場材料の構築も可能となってきている。ただし、現状では生体構造を再現する程の解像度はなく、微細構造深部まで細胞を播種することは難しい。そのため、たとえばECM繊維紙に細胞を培養したものをさらに組み合わせる構造化するというような構造化の工夫や自己組織化との複合方式などが検討されている。

三次元組織モデルの構築については、化学・再生医療・発生・物理・機械とさまざまな分野の集積により、多くの素晴らしい成果が上げられている。しかし、まだまだ強みだけでなく弱みも存在し、さらなる発展が求められている。それぞれの分野の成果、もしくは、新技術の流入によってどのように進展して行くのか、筆者も楽しみにしながら目の前の研究に取り組んでいる。

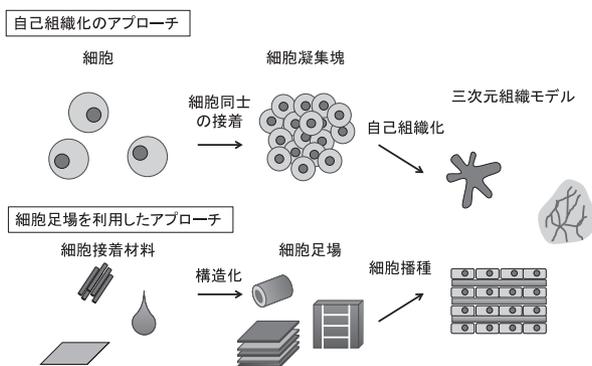


図1. 三次元組織モデル作成のためのアプローチ

- 1) 大政健史ら：三次元ティッシュエンジニアリング～細胞の培養・操作・組織化から品質管理、脱細胞化まで～、エヌ・ティー・エス (2015).
- 2) Willyard, C.: *Nature*, **523**, 520 (2015).
- 3) 中村真人 監修：バイオ・医療への3Dプリンティング技術の開発最前線、シーエムシー・リサーチ (2016).