

—特集にあたって—

新しい細胞培養技術の創出と応用

—時代の潮流に沿ったアイデアの変遷—

—竹澤俊明*

生体内の細胞は、血球や腹水がん細胞などの浮遊細胞（接着非依存性細胞）のほかは、細胞の足場（scaffold）である細胞外マトリックスに接着して多細胞性の組織を構成している接着依存性細胞である。接着依存性細胞は、栄養の供給と細胞代謝物の除去を担う間質液によって新陳代謝されながら成長している。間質液とは毛細血管壁より組織を構成する多細胞間の微小間隙に漏出した血漿成分から成る細胞外液のことで、間質液の80～90%は毛細血管へ再吸収されて血液に戻り、残りの10～20%は毛細リンパ管に吸収されてリンパ液になる。一方、生体外で細胞を成長させる培養技術は、1907年に胚発生に興味を抱いていたHarrisonが、スライドグラス上でカエルの胚組織片をリンパ液に封入して神経線維の成長を観察したことに起源を発する。現在の先端研究では、細胞培養技術を駆使して組織、器官あるいは器官系を再構築するアプローチが、再生医療や動物実験代替試験への応用を目指して展開されている。このような生体外の培養系では、細胞外マトリックスに相当する細胞の足場の固相分子群の役割は培養担体（培養基質、培養基材と同義）が、また間質液に相当する液相分子群の役割は培養液が果たすことになる（図1）。

まず、このような接着依存性細胞の培養技術がどのように発展してきたのか、その経緯を振り返ってみたい。当初は組織片の培養あるいは小動

物の胎仔などの器官の培養が試行錯誤されたが、1950年代に基礎培養液が完成してトリプシンによる継代培養法が確立されると細胞の培養が飛躍的に普及した。1960年代には様々な組織から多くの細胞株が樹立され、当初、細胞は培養液を注いだ容器の底面上で二次元的に静置培養された。1970年前後にはマイクロビーズ担体上に細胞を付着させて攪拌培養する技術、さらに限外濾過膜製ホロファイバー（中空糸）担体を多数束ねて詰めたカラム型培養容器内で細胞を灌流培養する技術が相次いで開発されて三次元の高密度細胞培養の幕開けとなり、これらの三次元培養技術は生理活性物質を分泌する機能細胞の大量培養に応用された。また、この頃より初代培養細胞の機能や形態を維持するために、細胞を単にガラスやプラスチック上で培養するのではなく、生体内の細胞環境を模倣して細胞外マトリックス成分上で培養する研究が始まる。

Bellらは、1979年に真皮由来の線維芽細胞をコラーゲンゲル内に三次元的に包埋培養して細胞の自己組織化によるゲル収縮を誘導することで真皮様組織を再構築する培養技術を確立し、1981年には真皮様組織の上に表皮角化細胞を重層培養することで再構築皮膚を作製することに成功した。1986年にKleinmanらは、マウス腫瘍組織の抽出物より基底膜様構造を再構成して培養担体（商品名：マトリゲル）に活用することに成功した。こ

*Toshiaki Takezawa（独農業生物資源研究所 遺伝子組換え家畜研究センター 主任研究員）

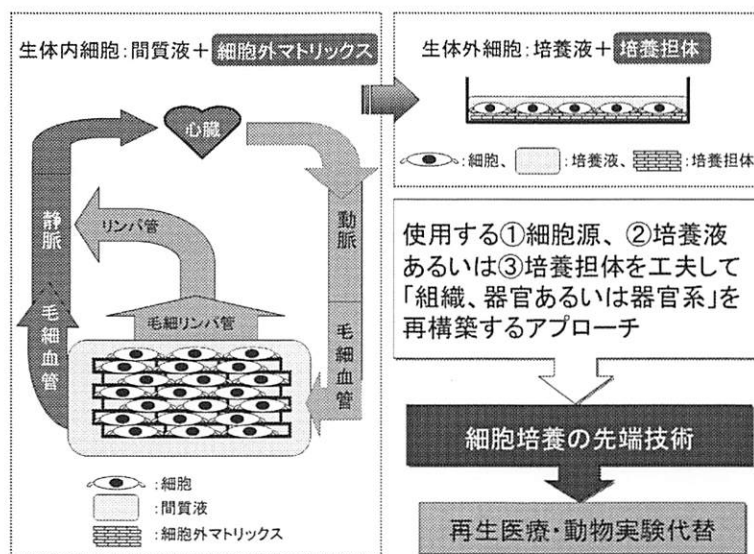


図1 生体外の培養系で「組織、器官あるいは器官系」を再構築するアプローチ

のマトリゲルは、細胞の分化機能や形態形成を誘導する培養担体として現在でも広く利用されている。1990年前後より細胞外マトリックス成分のみならず生体分解性の合成高分子などのバイオマテリアルも、培養細胞より組織を再構築する足場として使用されるようになり、1993年にLangerとVacantiは、培養細胞とその足場から組織を再構築する「組織工学」の学際的研究を提唱した。その後、様々な組織より幹細胞が調製できるようになり、幹細胞から成熟組織を再生する培養技術が急速に発展した。現在では、使用する細胞源、培養担体および培養液を工夫することによって、様々な新しい培養技術が創出されるようになった¹⁻³⁾。

それでは、このような再生医療あるいは動物実験代替試験への応用を目指した培養技術は、具体的にはどのようなアプローチで開発されているのでしょうか。どちらの培養技術でも細胞の足場となる培養担体を工夫して生体を反映した培養モデルを構築するという基本構想は共通であるが、再生医療では生体内あるいは生体内外循環系 (*ex vivo*) で創傷部や病変部を修復すること、また動物実験代替試験では生体外で生体内細胞応答を外

挿することが目的となる。したがって、再生医療では、①移植する部域で有用となる培養モデルを開発するアプローチはもとより、②移植する部域に残存している生体内細胞を賦活する固相分子群や液相分子群を開発するアプローチ、あるいは③移植するのに安全な細胞源を採取して移植部域で必要とされる成熟組織を誘導する技術を開発するアプローチなどが重要となってくる。また、動物実験代替試験では、①皮膚や肝臓など具体的な臓器に対する化学物質の薬効や毒性を評価できる培養モデルを開発するアプローチはもとより、②消化器系や呼吸器系など器官系への化学物質の影響を評価できる培養デバイスを開発するアプローチも重要となってくる。

本特集の竹澤の稿では、生物資源を活用する視点から再生医療や動物実験代替試験への応用を目指して開発したコラーゲンビトリゲル担体と組織を薄切した切片担体について紹介した。特に、コラーゲンビトリゲル薄膜担体については、皮膚モデルに注目した再生医療や動物実験代替試験に関する研究成果が得られてきた。そこで、青木・永瀬・内橋・井手口・戸田の稿では、表皮細胞と真皮線維芽細胞あるいは骨髄間質細胞より作製した

皮膚シートのラット皮膚欠損部への移植による創傷治癒効果について、また原田・絵野沢の稿では、二分脊椎症の胎児へ内視鏡手術を施す際の創傷治癒基材としての開発の現状について、さらに内野の稿では、皮膚感作性物質を評価する三次元培養ヒト皮膚モデルの開発状況について紹介して頂いた。次に、田中・山本・下村の稿では、工学的な視点から生体適合性高分子や生分解性高分子の水溶液の特性を利用して開発したハニカムフィルムについて、培養担体として利用して細胞挙動を制御する研究を紹介して頂いた。西川・中山・木村・山本・藤井・酒井の稿では、化学物質のADMET〔吸収 (adsorption), 分布 (distribution), 代謝 (metabolism), 排泄 (excretion), および毒性 (toxicity)] 予測を個体に近いレベルで行うための培養デバイスの開発状況について紹介して頂いた。八木の稿では、肝臓の再生医療の現状と特に幹細胞源を工夫したバイオ人工肝臓の開発の現状について紹介して頂いた。

今回の特集のねらいは、再生医療や動物実験代替試験に有用な細胞培養関連の先端研究のアプローチを紹介することであるが、同時にこのような学際的研究は異分野の研究者によるシーズとニーズが噛み合うことで一層発展するので関連諸分野の研究者に交流のヒントとなれば誠に幸いである。最後に、今回の特集を熱心に企画し提案された編集部の米山昌氏に感謝の意を表す。

文 献

- 1) 竹澤俊明, 再生医療のための細胞生物学 (関口清俊編), p.183, コロナ社 (2007)
- 2) 竹澤俊明, 再生医療技術の最前線 (監修: 岡野光夫, 大和雅之), p.33, シーエムシー出版 (2007)
- 3) 竹澤俊明, 動物実験代替のためのバイオマテリアル・デバイス (監修: 酒井康行, 民谷栄一), p.174, シーエムシー出版 (2007)