

## マイクロ流路と多孔質材料を用いた新たな肺胞細胞培養環境の開発と細胞治療・薬剤スクリーニングへの応用

### [1] 組織

代表者：梨本 裕司

(東京医科歯科大学 生体材料工学研究所)

対応者：鈴木 隆哉

(東北大学加齢医学研究所 呼吸器外科)

研究費：物件費 20 万円

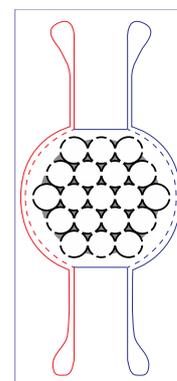
### [2] 研究経過

新型コロナウイルス感染症 COVID19 の世界的流行により、重症肺炎・呼吸不全の患者が急増している。原因となっている SARS-CoV-2 は感染力・致死率とも高く、今後数年に渡って世界の公衆衛生の脅威になり続けることが予測されている。COVID19 の患者個人への影響は多彩であり、仮に回復したとしても相当の割合で呼吸機能障害が起こることが知られ始めている (Long haul COVID)。また最新の mRNA ワクチンの迅速な開発と実施により数年以内に流行の沈静化が得られる可能性があるものの、再感染やゲノム変異によるワクチンの無効化など、今後数年に渡って COVID19 による重症肺炎の蔓延は大きな医療・社会的リスクとなりうる。

COVID19 の流行にともない様々な薬剤治療が試されてきたが、根本的な治療についてはいまだ確立していない。この理由として適切なドラッグスクリーニング環境がないこと、障害を起こした肺を組織的に回復する方法がないことがあげられる。

ウイルス性肺炎は一旦重症化すると抗ウイルス剤は基本的に無効であり、回復のためには荒廃した肺組織を再生しなくてはならない。回復能を失った肺を再生させるためには、体外から幹細胞を供給する方法が考えられる。本研究は、重症肺炎・呼吸不全に対する細胞治療を実現するための基盤技術の開発を目的としている。そのステップとしてデザイン可能な足場材料を用いて呼吸器の主要コンパートメントである気管と肺胞構造の3次元再現を目指すものである。また特に臓器・組織の局所血流の維持に必須な毛細血管ネットワークを共培養によって再現することを目指す。

多能性幹細胞から機能的細胞を分化させる技術は開発途上にある。とくに肺胞細胞への分化に関する成果は乏しく、治療に使用できるほど分化した細胞は未だ得られていない。幹細胞の最終分化は臓器形態への適応と深い関連があると考えられている。成体臓器は3次元的に複雑な構造をとる。特に呼吸器 (気管・肺) は構造自体が臓器の機能を決定づけるものであり、その組織再生・モデル化には肺に特徴的な構造の再現が必須である。本研究はマイクロ流路 (流体構造)・多孔質材料 (バイオマテリアル)・誘導性肺前駆細胞技術 (細胞工学) を組み合わせ、微細かつ複雑な肺胞微小環境を再現し、スケーラブルな肺胞上皮細胞の培養環境を創出する。

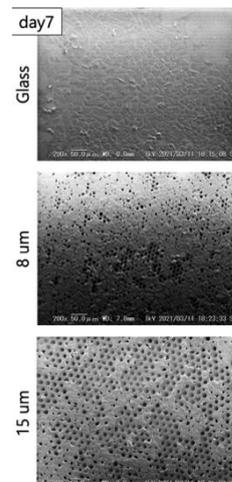


マイクロ流路のデザイン・材質については3ヶ月に1回を目処に Online ミーティングにより改善を続けている。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

まず肺癌由来肺胞上皮細胞 A549 をハニカムフィルム上で培養した。すると通常の平板培養では細胞がシート状に増殖していくことと比べて、ハニカム構造上の培養では小孔径が増していくほど、細胞が肺胞ネットワークのように網目状に培養されることがわかった。また A549 に元々発現する二型肺胞上皮の機能蛋白質であるサーファクタントプロテイン C の遺伝子発現が3日のハニカム培養で上昇していることがわかった。この培養器材は、肺胞上皮細胞に対し何らかの分化シグナルを持っていることが予想された。



マイクロチップについては流量の問題から血管内皮細胞との共培養に苦心している。血管内皮細胞の

PDMS への付着および生存が不良であり、何らかの培養条件の変更が必要と考えられた。

### (3-2) 波及効果と発展性など

本研究は2つの方向への発展可能性がある。このマイクロ流路とエマルジョンテンプレートテクノロジーはスケールアップが可能である。この微小な系で細胞分化プロトコルを確立できれば、工業的な生産により肺胞上皮細胞の大量生産環境を整えることができる。

もう一つはマイクロ流路とエマルジョンテンプレートを用いた微細培養環境“Micro-Lung”の作製である。この環境を用いれば、これまで *in vivo* でしか得られなかった臓器環境を *Ex vivo/In vitro* で再現することが可能になり、リアルタイムでの臓器固有細胞機能の解析や疾患のモデリングが可能になる。流路を組み合わせることで、多種の薬剤をスクリーニングするプラットフォームとなり得る。この環境に複数の薬剤、あるいは病原体を注入することにより実際に臓器内で起こっている病態を *ex vivo* で再現できるようになる。

このどちらも産業的価値が高く、本研究終了後の展開としてはJST さきがけへの応募、あるいはAMED 再生医療拠点ネットワークプロジェクトへの応募が考えられる。

### [4] 成果資料

本研究に関連した発表はない。