

課題番号 47

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 祐司

(東北大学学際科学フロンティア研究所)

対応者：鈴木 隆哉

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：阿部 博弥

(東北大学学際科学フロンティア研究所)

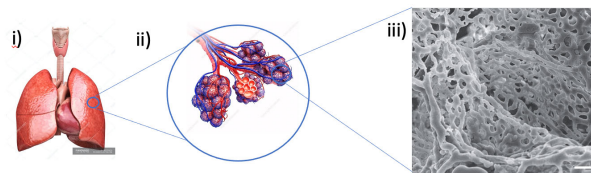
研究費：実験用消耗品：5万円、試薬：10万円

[2] 研究経過

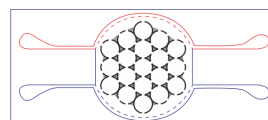
多能性幹細胞から機能的細胞を分化させる技術は開発途上にある。とくに肺胞細胞への分化に関する成果は乏しく、治療に使用できるほど分化した細胞は未だ得られていない。幹細胞の最終分化は臓器形態への適応と深い関連があると考えられている。成体臓器は3次的に複雑な構造をとる。特に呼吸器(気管・肺)は構造自体が臓器の機能を決定づけるものであり、その組織再生・モデル化には肺に特徴的な構造の再現が必須である。私は以前、肺・気管支の構造を模したテンプレートが多能性幹細胞や肺上皮細胞の分化状態の維持に密接に関与していることを明らかにした。この発見は、臓器構造を臓器特異的細胞培養環境に取り入れることの有効性を示唆している。本研究の目的は、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ことである。

以下、研究活動状況の概要を記す。

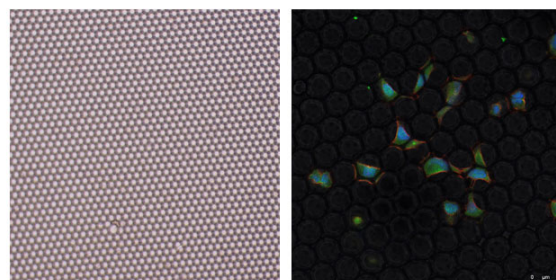
代表者の梨本と加齢研対応者の鈴木はマイクロ流路を用いたヒトES細胞の分化誘導研究を以前より行っていた。また鈴木と分担者の阿部は多孔質基材が細胞に及ぼす物理的影響の研究を共同で行っていた。これらの技術を統合することにより、肺組織微小環境をin vitroで再現する培養基盤が作成できる可能性に思い至った。



以下に記すのが着想した肺微小環境マイクロ流路基盤である。

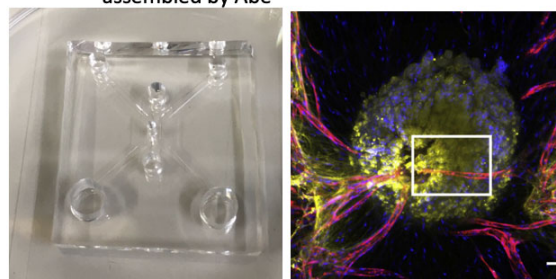


まず肺胞構造を模したハニカムフィルムが肺上皮細胞に与えるシグナルを検討し、同時にハニカム構造をインテグレートできる流路の検討を行った。



Honeycomb film, assembled by Abe

Suzuki, unpublished data



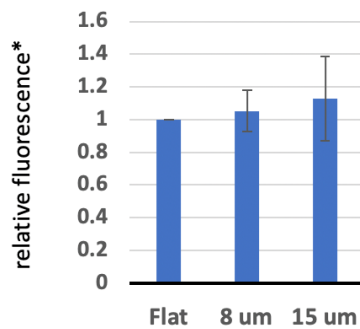
Nashimoto, et al., Biomaterials 2020

[3] 成果

(3-1) 研究成果

ハニカム構造は肺上皮細胞の増殖には特に影響を与えなかった。

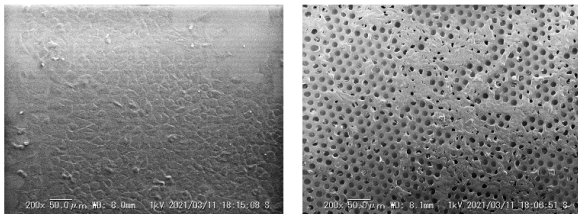
●Cell proliferation assay



Resazurin reduction assay showed no significant difference among 3 days of either flat or honeycomb culture. *fluorescence intensity is standardized to flat culture wells.

一方でハニカム構造に肺上皮細胞を培養すると、肺胞様の構造を取ることがわかった。

●Scanning electron microscope



Scanning electron microscopy observation of A549 lung cells cultured on honeycomb film (pore size 15 um) revealed self organizing network resembling to alveolar structure in 7 days, which suggest there might be a geometric signal that can direct A549 lung cells to more mature alveolar cells.

Honeycomb 構造が肺胞微細構造を模しているという仮説に基づき肺細胞を培養したところ、仮説のとおり肺上皮細胞に適した微小環境である可能性が示唆された。引き続き多能性幹細胞由来細胞を Honeycomb フィルムへ培養し、分化定着があるかどうかを確認する。

(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。一つは正確な微小環境再現を利用したドラッグスクリーニングプラットフォームの開発であり、もう一つはマイクロ流路とエマルジョンテンプレートスケールアップすることによって得られる肺胞上皮細胞の大量培養環境構築である。

また折しも新型コロナウイルス 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。COVID19 は感染力・致死率とも極めて高く、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。重症ウイルス肺炎に対する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。本研究は、重症肺炎・呼吸不全に対する細胞治療を開発するための基盤技術となりえる。

[4] 成果資料

(1) 鈴木隆哉、梨本祐司、阿部博弥、藤野直也、「マイクロ流路と多孔質材料を用いた肺胞局所構造の再現」 FRIS Annual Meeting 2022/The 2nd TI-FRIS Symposium 2022 年 3 月 1 日 東北大学学際フロンティア研究所