

多能性幹細胞の分化制御を 目指すデバイス技術

研究代表者

藤井 輝夫

Teruo Fujii

東京大学生産技術研究所 教授



はじめに

細胞や組織の挙動を理解する上で、細胞外微小環境が大きな役割を果たすことが指摘されて久しいが、従来の実験手法では、細胞を取り巻く微小環境を精密に設計・制御することが困難であった。これに対して、マイクロ流体デバイスを用いれば、微小スケール流れの特徴である層流を利用するなどして、精密な液性条件制御が可能である。

本プロジェクトでは、マイクロ流体デバイスの内部に人工バイオ界面を組み込むことにより、細胞外微小環境における液性及び流れの条件と、細胞の接着条件とを統合的に設計・制御できるシステムを作ること目標に掲げている。人工バイオ界面とは、特定の細胞に対して「緩い」結合能を有する人工ペプチドが固相化された界面のことであり、これを用いることにより、液性条件のみならず、細胞の接着条件をも制御できる可能性がある。

本講演では、これらの新たなデバイス技術を駆使して、多能性幹細胞の分化制御を行った事例を報告し、この技術の応用可能性について論じたい。

どのような制御が行えるか

一般にマイクロ流体技術を用いると、図1に示すような微小空間における培養条件の制御を行うことができる。たとえば、培養液の送液系を制御すれば、複数の液性因

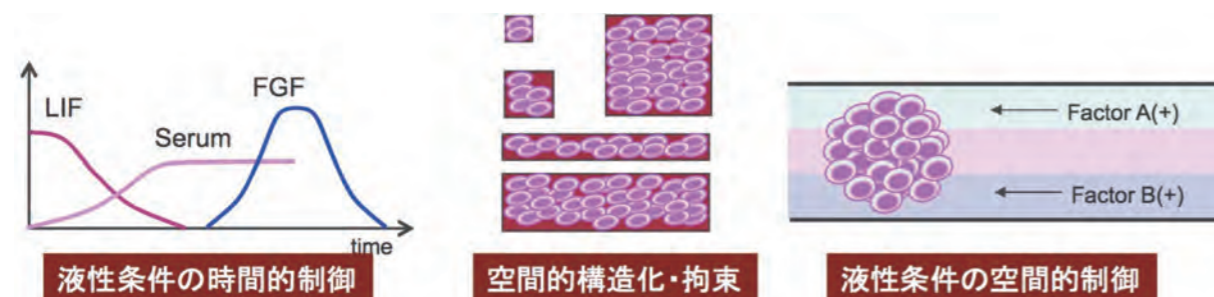


図1 マイクロ流体アプローチによる培養条件の制御

子の濃度を時系列的に変化させることが可能である。また、マイクロ構造を用いて、細胞の空間配置をある程度保ちながら培養を進めることもできる。一方、前述のように微小スケール流れの特徴である層流を利用すれば、空間特異的に特定の液性因子を作用させる、といったこともできそうである。もちろん、層流パターンで送液する培養液の異なるストリームに、それぞれ異なる種類の人工ペプチドを含有させておけば、図2に示すように、部位特異的にペプチドを固相化することができる。これによって、デバイスの底面に対する細胞の接着条件を空間的に規定することも可能である。

細胞分化制御デバイス

本プロジェクトでは、このようなデバイス内の微小環境制御手法を用い、多能性幹細胞の分化制御を行うことを目的として、細胞分化制御デバイスの設計・製作を進めている。その中の代表的な例として、接着状態の多能性幹細胞の分化制御を行う2層構造のデバイスの写真を図3に示す。

このデバイスでは、上層流路に細胞を播種し、下層流路入口から異なる組成の培養液を導入することによって層流を形成する。膜を介して培養液に含まれる因子類が細胞に作用し、層流パターンに対応した細胞の応答を観察することができる[1]。

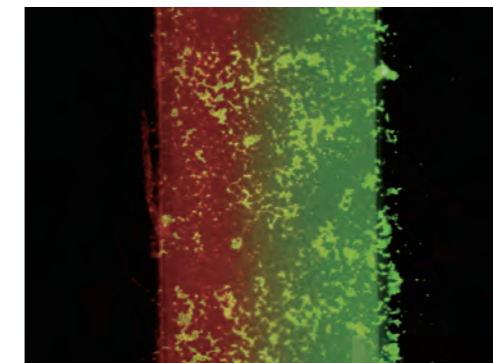


図2 人工バイオ界面のデバイスへの導入

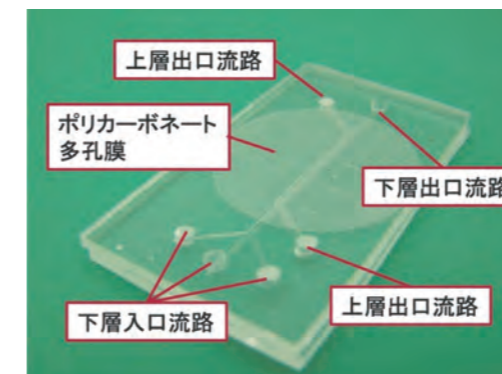


図3 細胞分化制御デバイス(2層接着状態)

iPS細胞の分化制御の例

実際にマウスiPS細胞の分化制御を行った例を図4に示す。このiPS細胞は未分化マーカーであるNanogのレポーターとしてGFPが組み込まれたものであり、未分化状態では蛍光を発するが分化状態になると蛍光が消失するものである。図4Bの蛍光パターンから、2種類の層流パターンA及びBに対応して、それぞれ流路の右サイド及び中央部分の蛍光強度が強く、未分化に保たれていることがわかる。これら蛍光強度の強い部分は、いずれも未分化維持因子であるLIFを含む培養液が導入されている部分に対応している。

おわりに

iPS細胞やES細胞等の多能性幹細胞については、基礎研究のみならず、その応用研究が急ピッチで進められようとしている。その一方で、従来の手法では、細胞が有する自己組織能力そのものを引き出すことに主眼が置かれており、外部からこれを制御しようとするアプローチは少ない。本手法を用いた研究を通じ、今後の多能性幹細胞の応用展開に資することができれば幸いである。

参考文献

[1] J. Kawada, et al., Lab on a Chip 12 (2012) pp.4508-4515.

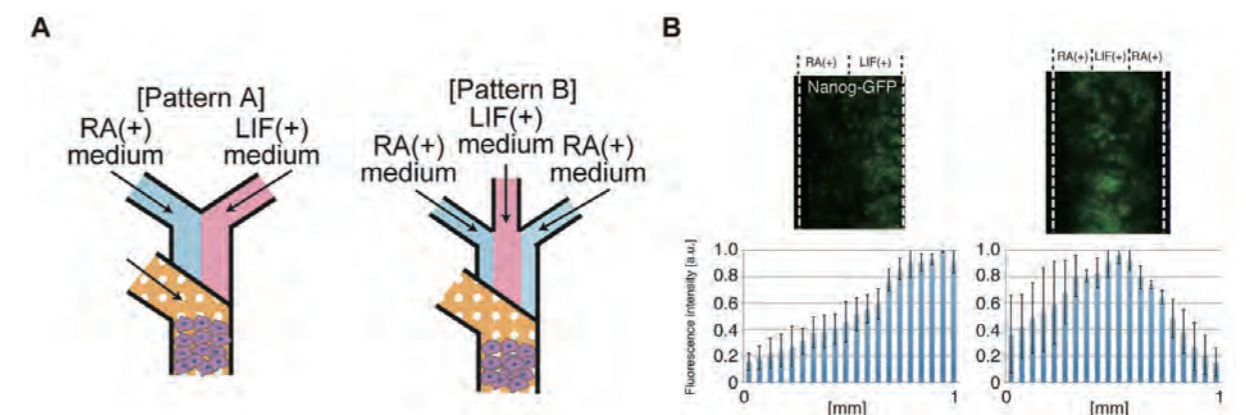


図4 デバイスによる多能性幹細胞の分化制御。(A) 層流パターン。(B) 対応する分化パターン