

## 新しい三次元細胞培養法—マイクロメッシュ細胞培養—

名前：黒澤 修 (くろさわ おさむ)

所属：理化学研究所

専門分野：バイオナノテクノロジー、生物工学

キーワード：三次元培養、マイクロメッシュ培養、細胞機能亢進

連携希望：オルガノイド等マイクロフィジオリジカルシステムの研究をされている方。培養細胞が未成熟であるため機能評価ができずに困っておられる方。細胞シートを用いた再生医療に関連した研究をされている方。



マイクロメッシュ細胞培養法は、大きな開口部（細胞サイズよりも十分に大きい）と細いメッシュラインを有するマイクロメッシュ上で細胞を培養する方法である。これにより、細胞と基板（メッシュライン）との接着を制限し、細胞間接着で維持された細胞培養が可能となる。これまでに、1) 基板間接着に依存しない細胞シート作製、2) 細胞の配向制御、3) ヒト iPS 細胞からの栄養膜の分化誘導など、ディッシュ培養では達成できなかった機能を細胞に誘導できることを示してきた[1]。

本研究では、マイクロメッシュ培養で三次元 (3D) 培養した HepG2 細胞を用いて、細胞機能の成熟・亢進、3D 培養細胞の内部構造の顕微鏡観察、および 3D 培養細胞の長期培養に関しての検討を行った。

まず、マイクロメッシュ培養によって細胞成熟が起こるかどうかを調べるため、通常のディッシュ培養、スフェロイド培養、マイクロメッシュ培養、および灌流マイクロメッシュ培養の4通りの方法で5日間培養した。次に、各細胞に対して、アルブミンおよび薬剤代謝酵素の遺伝子発現レベルを RT-PCR 解析した。その結果、マイクロメッシュ培養、特に灌流マイクロメッシュ培養では、アルブミンおよび CYP1A2 等の細胞成熟・機能に関わる遺伝子の発現が増大していることが確認された。

図1は、メッシュ上で3D培養した HepG2 の共焦点顕微鏡画像を示している。多層の平面構造を形成した細胞塊の内部の細胞を1細胞レベルで観察できることが確認された。

ところで、スフェロイド培養は3D培養法として汎用されているが、培養が進むにつれて、内部の細胞が壊死を引き起こすため、長期培養が困難であるとの問題を抱えている。一方、マイクロメッシュ培養法では、増幅細胞が厚さ方向だけでなく横方向にも広がるため、細胞塊の厚さの増加は緩やかであり、数週間の長期培養が可能であることが実験的に確認されている。

今後、異なる種類の細胞が層状構造に積み重なった共培養や、臓器を構成する複数の細胞で構成されるオルガノイドの長期培養への応用が期待される。

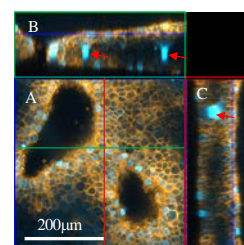


Figure 1: Orange : DiI, Blue : DAPI, Red arrow :

[1] K. O. Okeyo et. al., *Tissue Engineering Part C: Methods*, **21** (10) (2015) 1105.