

生体の環境を工学的に再現する

大阪大学大学院工学研究科

応用化学専攻 有機工業化学領域 教授 松崎 典弥

1 はじめに

筆者は、現在所属する応用化学専攻有機工業化学領域に2006年8月に助手として採用され、2019年8月に同領域の教授に昇任された。当該領域は、大阪工業大学 応用化学第二講座として1929年に設立され、石油化学、高分子化学、油化学、機能性高分子化学、生体材料化学と、工業化学から生活化学、医用化学へと、それぞれの時代のニーズに即した高分子化学の基礎学問から応用まで研究を展開してきた。本稿では、最近取り組んでいる研究内容と今後の抱負を紹介させていただきたい。

2 超高齢化社会に向けて

我が国では少子高齢化が急速に進展した結果、2008年に人口のピークを迎えた後は減少に転じ、2020年は初めて50万人超の減少幅となった。一方、65歳以上の高齢者数は増加の一途をたどっており、2050年には65歳以上の高齢者1人に対する20～64歳以下の労働者割合が1.2人になると推計されている。これは、労働者1.2人で高齢者1人を支えることを意味しており、1970年（高齢者1人に対する労働者の割合＝8.5人）の7倍、2010年（同割合＝2.6人）の2倍の負担となる。2017年度に医療機関に支払われた医療費の総額は42兆円と過去最高を更新した。2040年には67兆円になると予測されている。この超高齢化社会を乗り切るためには、労働者の負担軽減、つまり医療費の削減が求められている。医療費の削減に効果があると期待されているのが、「予防医療」である。つまり、予防を充実させることで、病気にかからないようにして治療費（医療費）を削減する、という方針である。日本では予防は保険適用ではないが、アメリカでは健康を改善するというエビデンスのある予防は保険適用になっている。我が国においても、予防医療を積極的に推進することが期待されている。

3 個別化医療へ

予防医療を実現するためには、まず、早期診断・早期治療を確立する必要がある。国民一人一人に適した治療

法を早く見つけ、治療を施すことが重要である。同じ病名であっても、特に、がんのように遺伝子変異が患者間、腫瘍内のがん細胞間でも異なる場合、患者一人一人に最適な治療法が異なる。そのため、個別化医療を実現し、病気になったとしてもなるべく初期段階で最適な治療を施し、完治させることができれば、医療費の削減に効果的であり、将来的な予防医療にもつながると期待されている。

個別化医療を実現するために重要なのが、患者の細胞をその性質を維持した状態で培養することである。患者の細胞を大量に培養し、様々な検査や薬剤への応答性を評価することで、患者一人一人に最適な治療法を初めて見出すことが可能になる。しかし、一般的なプラスチックの培養皿を用いた培養方法では、培養の過程で細胞の性質が変化してしまう。例えば、患者由来のがん細胞を体外で培養すると遺伝子情報の変異が起こることが知られている。そのため、現在、唯一可能な方法は、高度免疫不全マウスにがん細胞を移植するPatient derived xenograft (PDX) マウス法である。しかし、PDXマウスは高額で死にやすく、1個体で1条件しか見られないためスループット性が低いなどの課題を有する。なぜ、一般的な培養法では維持されず、PDXマウスでは維持されるのか。その原因は明らかにされていない。

4 生体微小環境の再現

では、どのようにすれば患者由来のがん細胞を体外で性質を維持して培養できるようになるのか？我々は、生体内での腫瘍環境に着目した。腫瘍は、がん細胞だけの塊ではなく、線維芽細胞、毛細血管、毛細リンパ管、免疫細胞など様々な細胞を含み、細胞以外にもコラーゲン線維やヒアルロン酸などの複数種の細胞外マトリックス (ECM) で構成されている。がん細胞は、生物学的なシグナルの影響だけでなく、物理化学的な影響、例えば弾性率の影響を強く受けることが最近の研究で明らかにされている。そこで、物理化学的な因子を制御することでがん細胞の性質を維持できるのではないかと仮説を立

てた。特に、乳がんや膀胱がんなどの硬い固形腫瘍は、高密度のコラーゲン線維と線維芽細胞で主に構成される間質と呼ばれる組織内部にがん細胞が存在している。従って、まず、コラーゲン密度を再現した間質組織の作製に取り組んだ。

5 沈殿培養法

これまで、ハイドロゲルや繊維状の足場材料のなかでがん細胞を培養する研究が多数報告されているが、がん間質の20～30wt%という高濃度のコラーゲン密度と比較して、0.3～1.0wt%と極端に低いコラーゲン濃度しか再現できていなかった。これは、コラーゲンの水溶性が低いこと、また、多孔性足場材料の内部に細胞を導入する培養方法もあるが、気孔率を70～80%以上にしなければ酸素・栄養不足となるため細胞が死滅するため足場材料の密度を上げることができない、というのが原因であった。

そこで、我々は、細胞と同等サイズのコラーゲンを一緒に組織化させることで、細胞が均一に分散し、かつコラーゲンの高濃度化が実現できるのでは、と考え、新しい培養方法として沈殿培養法を考案した。具体的には、100～200 μm のコラーゲンマイクロファイバー (CMF) と細胞を均一に分散し、遠心により組織化して培養する手法である。

コラーゲンスポンジをホモジナイザーで開繊し、100～200 μm のCMFを作製し、がん細胞や線維芽細胞、血管内皮細胞と混合して非接着の96ウェルプレートに添加、遠心分離により沈降させた後に5日間培養した(図1)。得られた直径1～2mmのボール状の組織の組織学的評価を行った結果、コラーゲン濃度は約30wt%とがん間質と同等であることが分かった。また、圧縮弾性率を測定した結果、報告されているがん組織と同等の50kPaであった。さらに、抗CK20抗体や抗CD31染色より、がん細胞クラ

スターの周囲にコラーゲン繊維や線維芽細胞、毛細血管が存在し、生体のがん間質組織に類似した状態であることが確認された。詳細は割愛させて頂くが、マウスに移植したがん細胞に近い遺伝子発現プロファイルや生理学的性質を有することが明らかとなった。本沈殿培養法は、患者がん細胞の性質を維持して生体外での培養を可能とする革新的な培養方法になると期待される。現在、がん研有明病院、がん化学療法センターと共同で、実際に患者がん細胞を用いた培養に取り組んでいる。

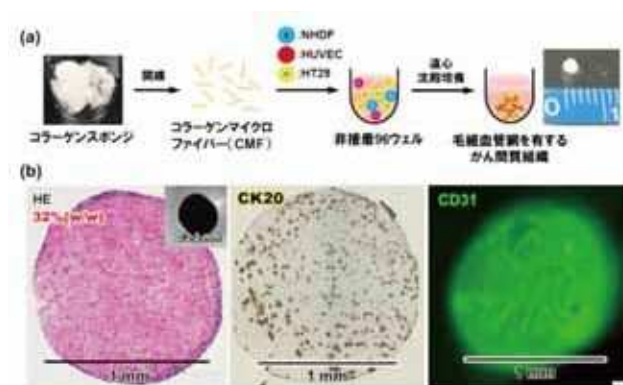


図1：沈殿培養法のイメージ(a)と作製したがん間質組織の組織学的写真(b)。

6 おわりに

本項では、生体の環境を生体外で再現するための我々の研究を紹介した。医療は生物学が中心の領域であるが、生体内は物理化学的に制御された空間であるため、化学的な切り口で取り組むことで、これまで達成できなかった結果が得られると期待される。工学系ならではのアプローチで医療分野に貢献していきたい。

(鹿児島大学 応用化学 平成11年卒

13年修士 15年博士)