

光操作による幹細胞の制御

概要

iPS細胞から特定の細胞種へと分化誘導する方法が数多く開発されている。しかし、生体内の組織形成を模倣できるような、異なる細胞種の局所的な相互作用を操作することは困難だった。本調査研究ではそれぞれの研究者が培ってきた光応答性材料、光操作、iPS細胞の分化誘導の技術を組み合わせ、iPS細胞由来細胞種の局所的なパターンングを作り出し、異なる細胞種で構成される組織形成の模倣と再生医療への応用を目指した。

① iPS細胞の分化状態を操作できる光応答性培養基材の開発

これまでの先行研究により、培養基質の化学的性質や弾性率の違いによって幹細胞の分化状態の制御ができることが知られている。そこで、本調査研究では化学的性質や硬さが変えられるような光応答性培養基材の開発を行った。NIMSのグループではすでに生理的な弾性率を有するアクリルアミドゲル表面に光応答性を付与し、細胞移動を局所的にコントロールすることに成功している (Kamimura et al., Biomaterials Science 2016, in press)。従って、この基材を出発点として、分化状態の制御ができる基材の開発を目指した。ただ、予想外の光応答性基材によって分化状態が操作できる場合もあり得るので、スクリーニングができるような材料を揃えられるように配慮した。光応答性材料に対するiPS細胞の接着性や増殖の変化にも留意しなくてはならない。接着性や増殖には影響を与えず、分化状態だけに影響を与える材料の開発を行った。

② 局所的な細胞分化を実現できる光操作法の開発

①で開発された光応答性培養基材に対し、適切な化学変化を促すことのできる光照射条件の探索を行った。また、生物学的に意味のある局所的なパターンングの条件検討も実施した。これらの条件検討においては照射した光が細胞に対して直接的に与える影響に留意しなくてはならない。照射した光が直接iPS細胞の接着性や増殖には影響を与えない条件の検討を行った。

③ iPS細胞の適切な培養条件の構築とその分化状態・相互作用の解析

本調査研究期間に用いる培養条件として、まずiPS細胞の未分化性を維持できるものを使用した。未分化性を維持しているiPS細胞では神経・皮膚などになる外胚葉、心臓・筋肉などになる中胚葉、胃腸・膵臓などになる内胚葉にそれぞれ分化していく。未分化細胞と分化した細胞では位相差顕微鏡下の形態の違いで判別できるが、どの細胞種に分化しているかはそれぞれの細胞種のマーカータンパク質の発現を免疫染色法やレポーター遺伝子の蛍光発現タンパク質の発現で評価する必要がある。光照射により局所的に分化した細胞が出現すれば、未分化細胞との隣接するパターンングを作り出すことができる。その隣接部では異なる細胞種としての相互作用が見られるはずであり、その挙動を形態や分化マーカーなどで評価した。

以上の研究の概要と関係性を図1に示した。さらに本研究の方法の模式図を図2に示した。

図1 本調査研究の概要

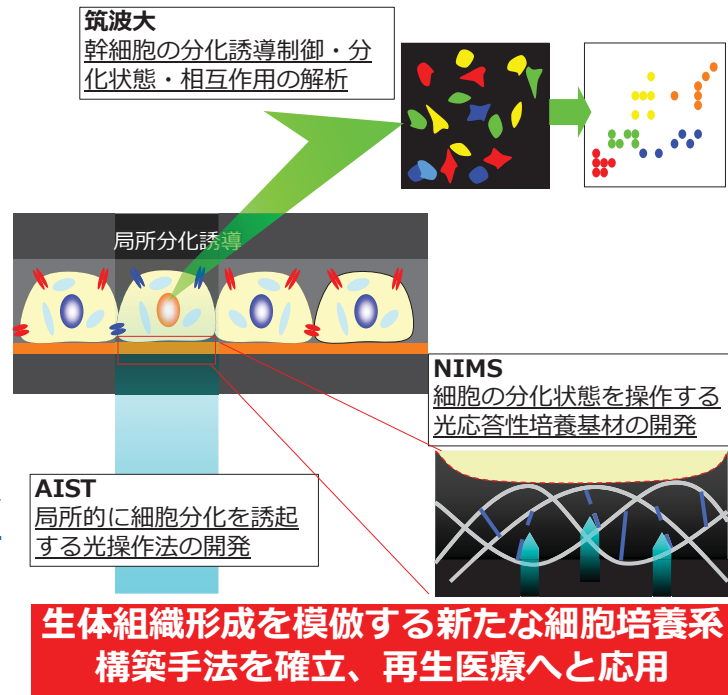


図2 光応答性材料を介したiPS細胞の分化制御の模式図

