

## 細胞のメカノバイオロジーと足場材料物性



土 戸 優 志

### 1 はじめに

再生医療の中で工学の視点から種々の再生組織の作製を目指す組織工学は、Langer や Vacanti らによる精力的な研究によって発展してきた<sup>1)</sup>。中でも、ヒトの外耳をマウスの背中に移植するというデモンストレーション実験をきっかけとして、再生医療に関する研究が世間で大きな注目を集めるようになった。再生組織の作製にあたって、細胞、足場材料（スキヤフォールド）、増殖因子という三要素が組織工学における重要な要素として広く知られている<sup>2)</sup>。再生組織を作製するにはまず、生分解性材料を用いて臓器の立体形状を作製して、目的の組織を形成し得る細胞をその材料表面へ播種する。そこに、組織中に存在する様々な増殖因子や成長因子などを、適切なタイミングで添加することによって組織形成を促す、というのが一般的なアプローチである。さらに近年では、これらの三要素に加えて、生体組織や細胞にかかる様々な物理的・力学的な刺激によっても、細胞は種々の応答を示すことが明らかになりつつある。本稿では、細胞における力の検出機構を簡単に紹介したのち、材料学的な観点から力学的な刺激と細胞挙動との関係について紹介する。

### 2 細胞における力の検出機構

細胞は、アクチン繊維や中間径フィラメント、微小管によってその骨格を形成している。アクチン繊維や中間

径フィラメントは足場材料との間の接着部位とつながって、細胞全体に広がってネットワークを形成している。細胞は、足場材料上の細胞外マトリックスと接着斑のインテグリンを介して結合しており、このインテグリンは細胞の内側で接着斑を構成するタンパク質であるピンキュリンやタリンと結合し、さらにアクチン繊維とつながっている（図1）。細胞内においては、力学的刺激により接着斑を構成する分子が立体構造変化し、そのリン酸化量が変化したり、アクチン繊維との結合部位が増加したりすることによって、細胞内へと力学的なシグナルが伝達される。硬い足場材料の上では、やわらかい足場よりも  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の変化が大きいことが明らかになっており<sup>3)</sup>、これは力学的な刺激を受けた接着斑の近傍では、機械刺激受容チャネルが活性化されて局所的に細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が増加しているためである<sup>4)</sup>。一方、アクチン繊維は数十本が束になっており、ミオシンやトポロニン、アクチニンが周期的に入り込んだ筋肉と類似の構造を取っていて、アクチン繊維はATPを消費しながら収縮することで、化学エネルギーを物理エネルギーに変換して力を発生させることができる。近年の研究で、細胞はこのような能動的なアクチン繊維の収縮で接着斑を引っ張ることで、足場材料の硬さを調べていることが明らかになった<sup>5)</sup>。このように、細胞は足場材料から受けた力を受動的に検出するだけでなく、細胞周辺の力学的性質を能動的に調べる機構が存在しており、その仕組みの解明が進んでいる。

### 3 足場材料の物理的特性と幹細胞の分化制御

再生組織の作製において、幹細胞の分化を精緻に制御することが非常に重要な位置を占めている。幹細胞から目的とする細胞への分化は通常、細胞増殖因子やサイトカインなどの生化学的分化誘導因子を用いて行われるが、その分化効率は一般的には低く、これらの方法で組織を作製するほどの細胞数を確保するには多大なコストがかかるという大きな課題がある。そこで近年、細胞が接着する足場材料となる基材の材質や表面形状、力学的特性などの材料物性によって幹細胞の分化を制御する技術の開発が注目を集めている。

Discher らは、表面にコラーゲンをコーティングして細胞接着性を持たせ、架橋度の制御によってヤング率を変えたポリアクリルアミドゲルの表面に、幹細胞を播種して約1週間培養した<sup>6)</sup>。その結果、ヤング率0.1~1 kPaのやわらかい材料表面では幹細胞は神経細胞へと分

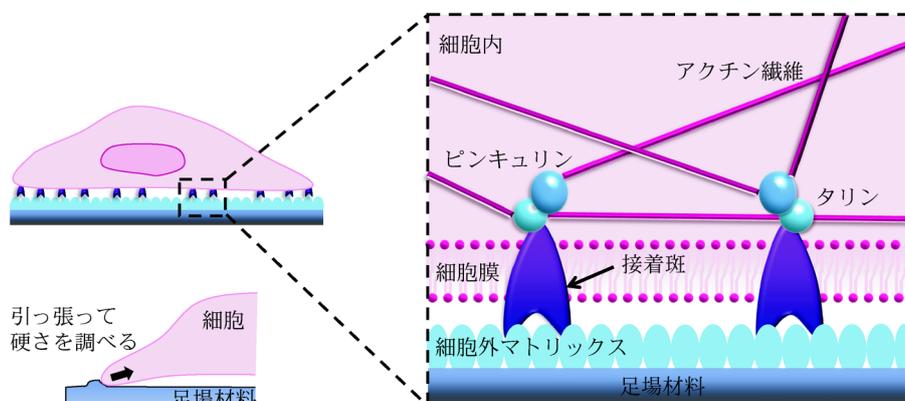


図1 細胞と足場材料の接着

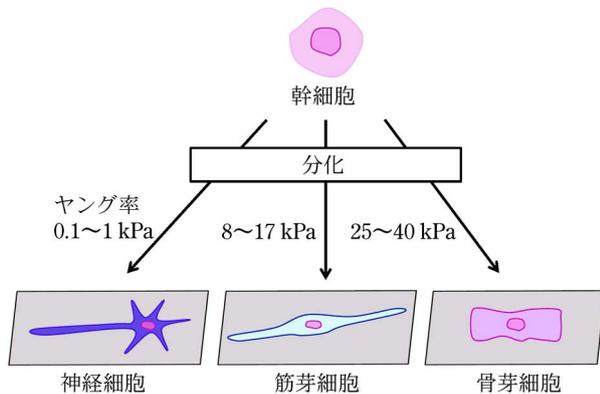


図2 足場材料の硬さに依存した幹細胞の分化系統決定

化し、中間の硬さである8~17 kPaでは筋芽細胞、25~40 kPaの硬い材料表面においては骨芽細胞へと分化するという、幹細胞の分化が足場材料の硬さのみに依存して進むという興味深い知見を見出した(図2)。これは、足場材料の力学的特性や細胞内の張力バランスなどから生理的に与えられた力学的な刺激が細胞に負荷されることによって、細胞が力に対する受容機構を用いてそれらの刺激を認識し、力という物理的シグナルを化学的シグナルに変換して細胞内へと情報伝達することで、細胞内の遺伝子発現をコントロールしているためであることを明らかにしている<sup>9)</sup>。幹細胞の分化において生化学的な分化誘導因子を用いた場合には分化系統の決定に数週間かかることが多く、力学的刺激による分化誘導では短期間で分化系統が決定されることから、幹細胞の分化制御において力学的なシグナルの重要性が強く示唆されている。

また、Winnerらは、約0.25 kPaのやわらかいゲルの表面上で幹細胞を培養したところ、幹細胞の細胞周期が停止することを報告した<sup>8)</sup>。さらに、幹細胞を3種の硬さの表面(0.25 kPa, 7.5 kPaのゲル, 硬いガラス基板)で培養したのちに分化誘導すると、0.25 kPaゲルの表面上での幹細胞の分化誘導効率が極めて高いことを示し、幹細胞の分化能をやわらかい足場材料を用いることによって保持できる可能性がある。実際に、中西・有賀らは工学的手法で微細なパターンを有する足場材料を製作し、幹細胞と足場材料の接着面積を制御して足場材料から受ける力を弱めることによって幹細胞性を維持することに成功しており、力学的なシグナルが大きな影響を与えていることを見出している<sup>9)</sup>。

#### 4 足場材料の物理的特性と細胞の運動制御

細胞培養の足場となる基材の硬さは、幹細胞の分化系統を決定しているだけでなく、細胞運動方向の制御にも大きな影響を与えている。細胞は足場材料の硬さを認識し、物理的なシグナルと化学シグナルを細胞内で自在に変換して細胞の運動方向を決定している。Loらは、互いに隣接させたヤング率の異なるポリアクリルアミドゲル上に細胞を播種してその運動の様子を観察したところ、やわらかいゲル上から硬いゲルの方に細胞が不可逆的に移動していくことを見いだした<sup>10)</sup>。細胞の接着斑は、足場材料のヤング率に依存して成長するために、特定の方向にけん引力が働き、細胞が変形して細胞の運動方向が決定する。このような細胞の運動性は、細胞の形状の違い、つまり細胞種によって大きく異なる。細胞の

移動には、足場材料の強度の勾配が、線維芽細胞は6~8 kPa/ $\mu\text{m}$ の差が必要で、血管平滑筋細胞においては10~40 Pa/ $\mu\text{m}$ で細胞が移動することが報告されている<sup>11)12)</sup>。このように、足場材料の物理的特性制御は、細胞群の局在を動的に制御するためにも重要であり、複数種の細胞によって構成される再生組織を効率的に複製する上でも極めて重要である。

#### 5 おわりに

再生組織工学では、組織を構築する細胞と、その細胞が接着する足場材料の表面との間の相互作用を制御することが必須である。細胞と足場材料との間に生じる張力の計測には、ゲルなどの足場材料に蛍光ビーズを埋め込んでその変位を観察する蛍光ビーズ法や、マイクロピラー状の足場の歪みと方向を計測する手法、FRETに基づく方法が代表的な方法であり、接着斑やアクチン繊維の太さ・長さやその細胞内局在が、張力と相関があることが明らかになっている。こうした細胞と足場材料や、細胞内で生じる力と細胞の機能制御に関するメカノセンシング機構の解明は、生細胞でリアルタイムに計測可能な技術により支えられており、様々な力を検出する手法の開発が望まれている。我々の生体組織を構成している細胞はすべて力学的な負荷を受けており、力学的なシグナルに応答して細胞機能を制御することによって生体組織としての恒常性を維持している。このように生化学的なシグナルだけでは説明できなかった生命現象について明らかにすることで、再生組織の作製のみならず、様々な疾患の原因解明にも役立つことが期待される。

#### 文 献

- 1) R. Langer, J. P. Vacanti : *Science*, **260**, 920 (1993).
- 2) R. Lenza, R. Langer, J. P. Vacanti : “*Principles of tissue engineering (4th edition)*”, Edited by R. Lenza, R. Langer, J. P. Vacanti, p. 3 (2014), (Academic press, Cambridge).
- 3) T. Kobayashi, M. Sokabe : *Curr. Opin. Cell Biol.*, **22**, 669 (2010).
- 4) K. Hayakawa, H. Tatsumi, M. Sokabe : *J. Cell Sci.*, **121**, 496 (2008).
- 5) S. V. Ploynikov, A. M. Pasapera, B. Sabass, C. M. Waterman : *Cell*, **151**, 1513 (2012).
- 6) A. J. Engler, S. Sen, H. L. Sweeney, D. E. Discher : *Cell*, **126**, 677 (2006).
- 7) A. Zajac, D. E. Discher : *Curr. Opin. Cell Biol.*, **20**, 609 (2008).
- 8) J. P. Winer, P. A. Janmey, M. E. McCormick, M. Funaki : *Tissue Eng.*, **15**, 147 (2009).
- 9) J. Song, X. Jia, K. Minami, J. P. Hill, J. Nakanishi, L. K. Shrestha, K. Ariga : *ACS Appl. Nano Mater.*, **3**, 6497 (2020).
- 10) C.-M. Lo, H.-B. Wang, M. Dembo, Y.-L. Wang : *Biophys. J.*, **79**, 144 (2000).
- 11) T. Kawano, S. Kidoaki : *Biomaterials*, **34**, 7563 (2013).
- 12) B. C. Isenberg, P. A. Dimilla, M. Walker, S. Kim, J. Y. Wong : *Biophys. J.*, **97**, 1313 (2009).



土戸優志 (Yuji TSUCHIDO)

早稲田大学先進理工学部生命医科学科 (〒162-8480 東京都新宿区若松町2-2 TWIns)。東京医科歯科大学大学院生命情報科学教育部高次生命科学専攻博士課程修了。博士(理学)。《現在の研究テーマ》細菌検出、分子認識、自己集合科学、超分子化学、再生組織工学。《趣味》ウォーキング。

E-mail : y-tsuchido@aoni.waseda.jp