

細胞スフェロイドを用いた生物学的研究の動向



荒川 哲大

1 はじめに

細胞スフェロイドとは、細胞同士を意図的に凝集させ、細胞間相互作用や物質輸送に関与する生体特有の微小環境を再現させた3次元組織モデルであり、一般的な平面培養細胞と実験動物の中間に位置付けられる¹⁾。1944年、Holtfreter²⁾によって初めて報告されて以来、さまざまな作製法が開発・改良されてきた³⁾。基本的な概念として、細胞が培養容器に接着することを抑制し、細胞同士の凝集を促すことが共通している。図1に代表的な細胞スフェロイド作製法であるa)細胞非接着培養法、b)ハンギングドロプレット法、c)回転培養法の概要図を示す。細胞非接着法(図1-a)は、アガロース等の親水性ポリマーを培養皿に被覆させ、細胞が培養皿に接着するのを抑制し、細胞同士の凝集を促すことで細胞スフェロイドを作製する手法である。ハンギングドロプレット法(図1-b)は、培地溶液の液滴を培養容器上部から吊り下げることで培養皿と接触することなく培養する手法である。回転培養法(図1-c)は、回転子の速度を細胞が容器底面に接着しない、かつ細胞同士が凝集できる条件に調節した上で培養する手法である。多くの手法は、一般的な細胞培養設備があれば消耗品の購入のみで比較的容易に実施可能である。各手法のPros/Consについては、Cuiらによってわかりやすくまとめ

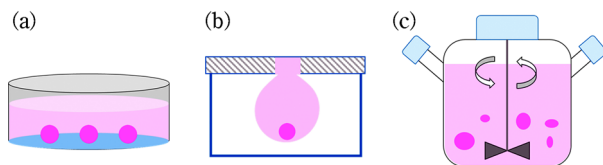


図1 代表的な細胞スフェロイド作製法の概要図
(a)細胞非接着培養法、(b)ハンギングドロプレット法、(c)回転培養法。

Trend of Biological Studies Using Multicellular Spheroids (MCS).

られているため参照されたい³⁾。本稿では、細胞スフェロイドを用いた研究応用例にフォーカスして紹介する。

2 応用例①：腫瘍モデル

細胞スフェロイドの応用例は、腫瘍細胞から作製されたものが最も多い。腫瘍細胞から作製された細胞スフェロイドは *in vitro* モデルでありながら、実際の腫瘍組織と同様に、①増殖性部位 (proliferating zone)、②非増殖性部位 (quiescent zone)、③壊死性部位 (necrotic zone) を形成し、栄養素や老廃物の濃度勾配も再現されることが報告されている³⁾(図2)。当該研究における評価手法には、遺伝子解析が用いられることが少なくないが、イメージング技術と組み合わせることで評価モデルとして細胞スフェロイドを活用した際の真価が発揮されると考えられる。すなわち、従来の平面培養された細胞モデルでは困難であった、薬剤が組織へ浸潤する様子に加え部位特異的な形態変化等の情報も取得可能となる。抗がん剤である白金製剤を暴露させた細胞スフェロイドを高感度な元素イメージング法で解析した研究では、白金製剤が細胞スフェロイド内の壊死部位選択的に集積することが明らかとなっている⁴⁾。これらの情報は、腫瘍に対する薬剤の作用メカニズム解明および創薬への有益な情報になると考えられる。細胞スフェロイドは容易かつハイスループットに作製可能なモデルであるため、創薬の候補化合物スクリーニングに特に有効である。

3 応用例②：実験動物代替モデル

細胞スフェロイドは、毒性評価のための動物実験の代替手法としても期待されている。その背景には、動物愛護の観点から動物実験に関する3Rの原則(① Replacement; 代替法の利用、② Reduction; 使用動物数の削減、③ Refinement; 実験方法の洗練)を実践するための代替法開発が喫緊の課題となっていることがある。従来の平面培養細胞では、実験動物を用いた毒性評価結果との比較において、しばしば乖離^{かいり}が生じることが報告されており、その要因は微小環境に起因するものであると考察されている⁵⁾。細胞スフェロイドは生体同様の微小

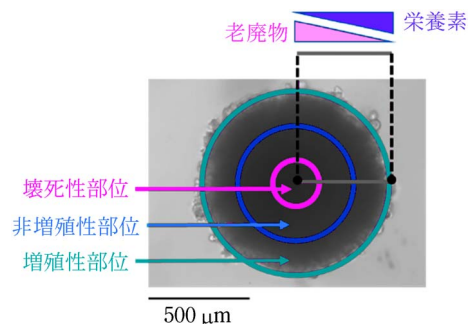


図2 腫瘍細胞から作製された細胞スフェロイドの概要図

環境を再現可能な *in vitro* モデルであることから、妥当性の高い実験動物代替法になり得ると強く期待されている。欧州食品安全機関は2018年にガイドラインを発表しており、そこでは実験動物による評価の穴埋めとして、*in vitro* 評価と化合物の物性情報から生体毒性を予測する *in silico* アプローチについて言及されている⁶⁾。そのため、*in vitro* 評価の妥当性が今後ますます重要となると考えられる。現状、生体毒性の評価モデルとして妥当性が証明された細胞スフェロイドモデルは少なく、今後の実用化に向けた研究が進展していくことを期待したい。

4 応用例③：再生医療分野

昨今、再生医療分野においても細胞スフェロイドを用いた興味深い研究が報告されている。それは、*in vitro* 系で小型臓器を作製するといったものである。一例として、谷口らはiPS細胞から分化誘導した肝臓組織を構成する3種類の細胞を用いて細胞スフェロイドを形成させることに成功している⁷⁾。作製された細胞スフェロイドは、実際の肝臓組織と同様にアルブミンを分泌することが確認されており、まさに *in vitro* において肝臓様の組織を作り出すことに成功したと言える。再生医療分野では、心筋組織や神経系細胞塊など、様々な臓器・組織の構築が精力的に行われているため、今後の研究動向にも注目したい。

5 おわりに

本稿では、細胞スフェロイドの生物学的研究の動向として、現在、応用が盛んな①腫瘍モデル、②実験動物代替モデル、そして③再生医療分野における研究を取り上げ解説した。細胞スフェロイドの応用可能性は有望視されているものの、現時点では未成熟な技術であると考え

る。一方で、分析科学者にとってはこの比較的新しい分析対象から‘どのような情報が読み出せるか’を検証・工夫することは、興味深い研究題材になり得ると考えられる。分析科学と細胞工学が連携し、細胞スフェロイド技術の発展をけん引することに期待したい。

文 献

- 1) H. Järveläinen, A. Sainio, M. Koulu, T. N. Wight, R. Penttinen: *Pharmacol. Rev.*, **61**, 198 (2009).
- 2) J. Holtfreter: *J. Exp. Zool.*, **95**, 171 (1944).
- 3) X. Cui, Y. Hartanto, H. Zhang: *J. R. Soc. Interface*, **14**, 20160877 (2017).
- 4) S. Theiner, S. J. Van Malderen, T. Van Acker, A. Legin, B. K. Keppler, F. Vanhaecke, G. Koellensperger: *Anal. Chem.*, **89**, 12641 (2017).
- 5) F. Joris, B. B. Manshian, K. Peynshaert, S. C. De Smedt, K. Braeckmans, S. J. Soenen: *Chem. Soc. Rev.*, **42**, 8339 (2013).
- 6) Guidance on risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain: Part 1, human and animal health., EFSA. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5327> (2021年1月12日, 最終確認).
- 7) T. Takebe, K. Sekine, M. Kimura, E. Yoshizawa, S. Ayano, M. Koido, S. Funayama, N. Nakanishi, T. Hisai, T. Kobayashi, T. Kasai, R. Kitada, A. Mori, H. Ayabe, Y. Ejiri, N. Amimoto, Y. Yamazaki, S. Ogawa, M. Ishikawa, Y. Kiyota, Y. Sato, K. Nozawa, S. Okamoto, Y. Ueno, H. Taniguchi: *Cell Reports*, **21**, 2661 (2017).



荒川哲大 (Akhiro ARAKAWA)

味の素株式会社バイオ・ファイン研究所 (〒210-8681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1)。名古屋大学大学院工学研究科物質制御工学専攻修了。博士(薬学)。《現在の研究テーマ》幹細胞の分化制御を目的としたメタロミクス研究。《趣味》猫観察、ゴルフ。
E-mail : akhiro_arakawa@ajinomoto.com