

大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻
生物プロセスシステム工学（BPSE）研究室の紹介

<http://www.bio.eng.osaka-u.ac.jp/ps/indexj.html>

(連絡先:紀ノ岡正博 E-mail:kino-oka@bio.eng.osaka-u.ac.jp)

1. はじめに

当研究室は、2009年4月の私（紀ノ岡）の着任を機に産声を上げた新生ラボである。2010年4月に金美海（助教）が、2011年6月に長森（講師）が着任し、博士研究員4名、実験補佐員1名、事務補佐員2名、学生22名（博士後期課程3名、博士課程前期課程14名、学部生5名。うち4名が外国人留学生。）の総勢32名（2012年4月現在）が日々活発な教育・研究活動を行っている。

当研究室(BioProcess Systems Engineering Lab.)では、一連の生物的イベント（生物プロセス;BioProcess）や、その反応場（システム;Systems）を解釈し（知の探求;Science）、バイオの力を利用・活用することで、人類の営み（生活、産業活動の維持）に幸せを導くこと（知の利用;Engineering）を目指している。特に、生物反応を支配する素子（遺伝子やタンパク質、シグナル伝達物質など）や、その反応場を提供する空間（細胞・組織など）を対象として、「ヒト組織の成り立ちを理解し、育む技術を構築・利用する」ことや、「細胞の仕組みを解明し、制御し、利用する」ことに興味を持ち、生物プロセス工学の観点から、再生医療技術の実用化（製品化）に向けた課題の解決や、新規な革新的バイオ医工学技術の創生を目指して、研究活動に取り組んでいる。より具体的には、再生医療・組織工学の領域において、細胞・組織製品の製造にかかる技術構築や、創薬分野における新規なドラッグクリーニングシステムの構築を目指している。

私たちの研究発想は、化学工学という学問を基軸としている。化学工学は、化学製品の製造に際し、「どうやって作るか」を工学的な視座に基づきデザインし、製造の仕組みを実現するための方法論であり、その方法論を発酵食品やバイオ医薬品などを含む、いわゆるバイオ製品の製造に展開したのが生物化学工学と呼ばれる領域である。製品を工業的に製造するには、研究室で得られる「何が出来るか」といった基礎的な知見だけでは十分ではない。品質が担保された製品を計画的に製造することを可能にするためには、まず一連の工程（プロセス）を確定し、個々のプロセスにおいて、適切な反応器（バイオリアクター）を設計、必要な原料（培地など）を適量供給、反応器内を最適な環境下にて管理（プロセス制御）するなど、条件・手段・手順・操作を最適化する必要がある。その達成には、対象となる生物反応を現象として理解するだけではなく、数値（速度論的）解析に基づきパラメーターにて状況把握した上で、対象としている製造工程を総合的に判断し、道筋を論理的に導く力が必要になる。私たちは生物化学工学の観点から、再生医療・組織工学の領域において、実験室における医学・生物学的知見と、細胞・組織製品の製造プロセス実現の橋渡しを担うことができる“バイオプロセスの構築にこだわる培養工学チーム”でありたいと考えている。

2. 育む技術の再生医療への展開

従来の細胞培養工学は、端細胞が培地中に分散する懸濁培養系（均一相反応系）を取り扱い、各種医薬品製造プロセス（有用物質生産）の実用化に古くから貢献してきたが、近年では、細胞集塊や組織として培養する技術の進歩に伴い、動物細胞は培養組織（3次元構造）を維持し、細胞固有の物質や組織自体を生産する試みがなされている。一方、これらの細胞・組織の培養は不

均一相反応と考えられ、製品の生産プロセスを構築するにあたっては、従来の均一反応系では顕在化していなかった固有の特徴が存在する。よって、時空間的に変動する不均一相系生物反応としてこの問題を捉え、細胞組織の成り立ちを理解するとともに、実践的な培養工学の体系化が求められている。

再生医療分野における組織工学は、対象とする臓器・組織ごとに個々の研究者が医学、材料工学などの多分野の境界領域において研究を重ね創成されてきた。組織工学の発展は、種々の細胞群を組織へと再構築することを可能とし、移植素材へと利用されてきた。その成果の一部は、培養組織製品として上市するに至っている。しかし、組織工学製品を産することで、再生医療を万民に広く届けるには、対象とする臓器・組織の種類を問わず、共通する生産原理（体系化された培養工学）を導き出し、汎用性・頑強性を備えた製造プロセスの構築を推し進める必要がある。このような培養工学に関するモデル原理の確立は、培養プロセス中の工程管理を可能にするだけでなく、組織工学製品全般の品質管理に対する規格化・指針導出を可能にすると期待される。しかし、培養工学の観点から当該分野の技術開発に携わる研究者は未だ少なく、人材教育も含め多くの研究者の参加が望まれている。

当研究室では、ヒト培養細胞を対象として、培養工学に関するセンスを磨くべく、図1に示した3つの研究テーマに取り組み、再生医療分野における要素創成（Outcome）、更には産業創成（Output）を指向している。具体的には、生産プロセス研究を通じた培養工学センスを備えた人材（人財）の育成と輩出、再生医療分野における培養プロセス（生産システム）に関するガイドライン策定（レギュラトリーサイエンス）、組織製造技術における標準化、などの当該技術の産業化に求められる要素の創成により、再生医療分野や創薬スクリーニングシステム分野に携わる

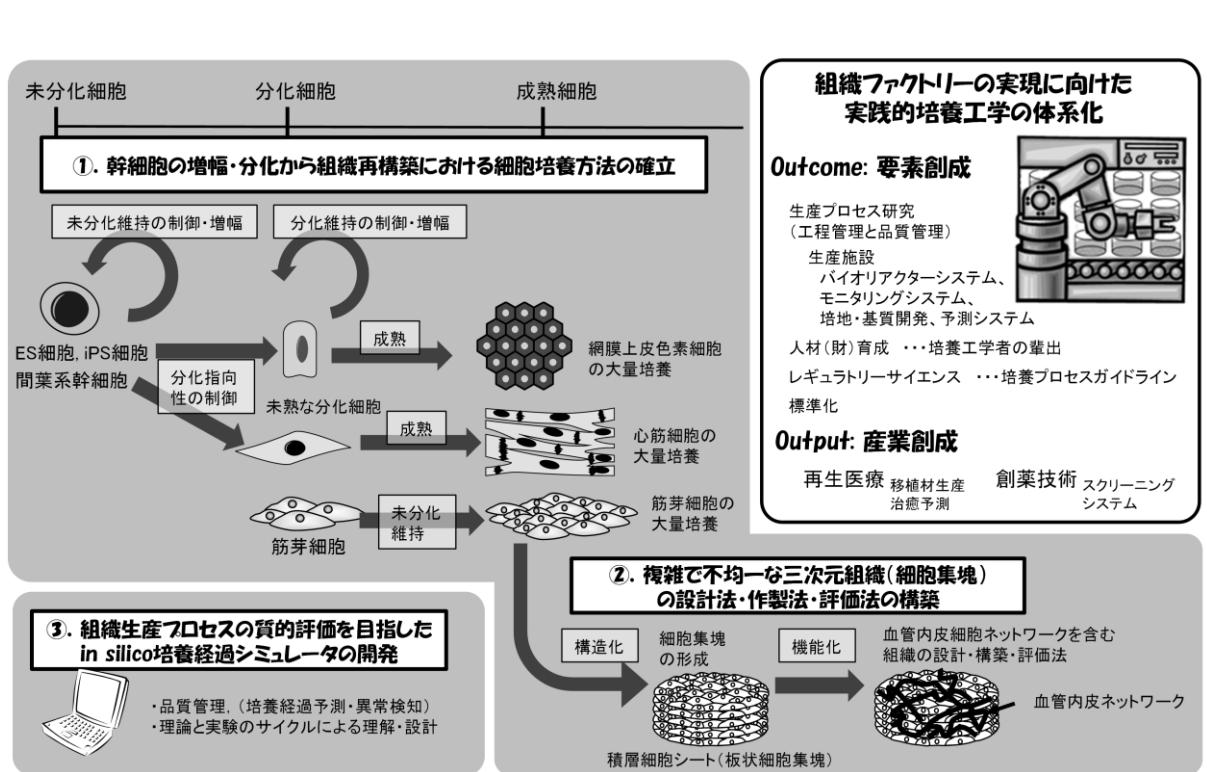


図1 研究テーマ概要

幹細胞関連産業への貢献を目指していきたい。以下に3つの研究テーマの概略を紹介する。

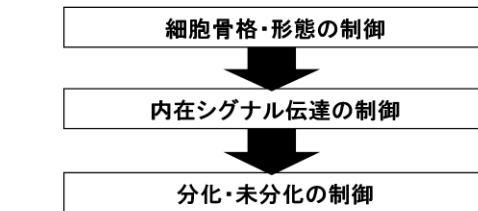
① 幹細胞の増幅・分化から組織再構築における細胞培養方法の確立

培養面設計による細胞形態・分化の制御といった基礎的知見の理解から、完全自動化された培養装置の開発までを対象とし、幹細胞の未分化能維持・増幅、分化指向性の制御、分化細胞の分化能維持・増幅・成熟の各プロセスの体系化を目指す。細胞には接着する場（足場）が必要であり、接着を介した形態変化および骨格形成が、内在シグナル伝達を変化させ、増殖・分化能力を左右する最も重要な環境因子の一つであることが明らかにされてきた。多くは、液性因子の添加による分化制御を目指しているが、近年、培養面の役割についても注目されている。これまでに、骨格部としてのデンドリマー構造、リガンド部としてのD-グルコース、種々の密度等の変数設計にて、トランスポータをターゲットとした形態制御に取り組み、未分化維持・分化誘導・分化維持を可能にするための培養面の設計戦略を構築した（図2）^{1,2)}。現在は、iPS細胞や間葉系幹細胞、筋芽細胞、網膜色素上皮細胞を対象に、手法論構築に取り組んでいる。自動培養装置の開発においては、図3に示した自動継代可能なインテリジェント培養システム等の開発を通じ^{3,4)}、組織培養プロセスの工程・品質管理において培養装置の自律化が有効な手段であることを示すとともに、産業化において必要な要素技術や道具類の仕様や規格化について広く検討してきた^{5,6)}。現在は、iPS細胞からの網膜色素上皮細胞の自動成熟培養装置や筋芽細胞を用いた細胞シート製造設備の開発に取り組んでいる。

② 複雑で不均一な三次元組織（細胞集塊）の設計法・作製法・評価法の構築

積層細胞シートを題材とし、三次元組織内の細胞の遊走・接着・分裂・分化などのイベントを理解するための定量的・立体的解析ツール開発に取り組み、組織内部での細胞遊走や組織空間内での不均一な住み分け

未分化・分化制御を可能にする培養面設計戦略



培養面の変化によってたらされる形態変化

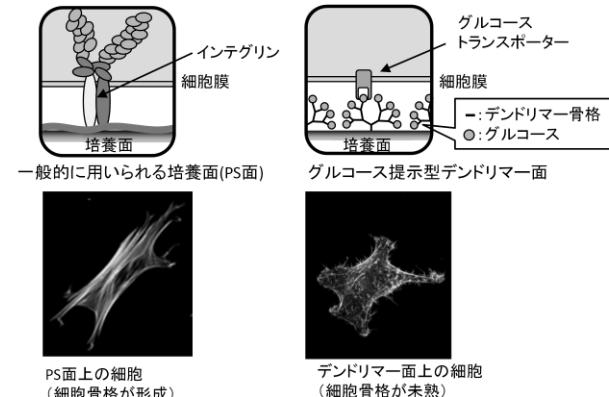
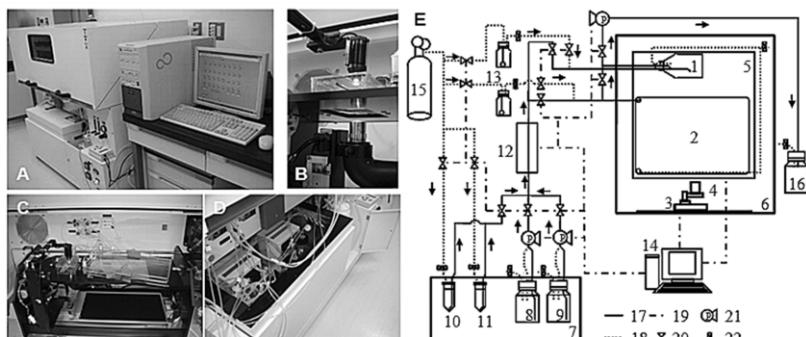


図2 細胞形態の制御による細胞分化誘導

これまでに、骨格部としてのデンドリマー構造、リガンド部としてのD-グルコース、種々の密度等の変数設計にて、トランスポータをターゲットとした形態制御に取り組み、未分化維持・分化誘導・分化維持を可能にするための培養面の設計戦略を構築した（図2）^{1,2)}。現在は、iPS細胞や間葉系幹細胞、筋芽細胞、網膜色素上皮細胞を対象に、手法論構築に取り組んでいる。自動培養装置の開発においては、図3に示した自動継代可能なインテリジェント培養システム等の開発を通じ^{3,4)}、組織培養プロセスの工程・品質管理において培養装置の自律化が有効な手段であることを示すとともに、産業化において必要な要素技術や道具類の仕様や規格化について広く検討してきた^{5,6)}。現在は、iPS細胞からの網膜色素上皮細胞の自動成熟培養装置や筋芽細胞を用いた細胞シート製造設備の開発に取り組んでいる。



A: 培養装置全体, B: 培養ユニット, C: 観察ユニット, D: 貯蔵ユニット, E: 装置ライン図

1:第1培養容器、2:第2培養容器、3:電動ステージ、4:デジタルカメラ、5:容器設置台、6:インキュベータ、7:冷蔵庫、8:新鮮培地、9:緩衝液、10:細胞剥離液、11:剥離停止液、12:ヒータ、13:加湿器、14:コンピュータ、15:供給ガスボンベ(5% CO₂/air)、16:使用済み培地、17:液ライン、18:ガスライン、19:電気シグナルライン、20:電磁バルブ、21:チューブポンプ、22:無菌フィルター

図3 自動継代可能なインテリジェント培養システム

などの現象を理解・利用することで、複雑な三次元構造を有する組織を設計可能とする新規な方法論の構築を目指している。特に、筋芽細胞からなる積層細胞シートは内部流動が生じていることを見出し⁷⁾、細胞流動性が伴う“動く足場”と位置付けた(図4)。さらに、細胞シート内部への血管内皮細胞の遊走・血管内皮ネットワー

ク形成を定量解析し、内皮細胞ネットワークの空間制御を試みている。また、一連のプロセスをコンピュータで表現可能な三次元培養シミュレータを開発することで、培養組織構築の形状などの質的予測を行っている。

③ 組織生産プロセスの質的評価を目指した培養経過シミュレータの開発

移植を前提とした培養細胞・組織の生産は、医薬品製造プロセスとは異なり、患者自身の細胞が原料、移植細胞・組織が製品であるテラメイドプロセスであるため、原料の不均質性、生産スケールの変動など固有の特徴を見出し、培養工程管理および組織製品品質管理を行う手法論の確立が不可欠である。培養経過の予測や培養異常の検知を目的としたプロセスシミュレーターは、プロセス設計やスケジューリングに有効である(図5)。セルラーオートマトンモデルを用い、実在培養(*in vitro culture*)のデータに基づく細胞間のコミュニケーションを加味した仮想培養(*in silico culture*)モデルの構築を進めている^{8,9)}。さらに、ヘテロ性を考慮し、かつ立体的・時系列的変化に対応したシミュレータを構築し、組織レベル(巨視的レベル、mm, cmオーダー)での集塊増殖、分化へと展開することで、組織生産における工程管理ならびに品質管理への展開を目指している。

4. 結び

当研究室では“ものづくり”を礎としたアウトプット側からのアプローチを重視した研究を展開し、再生医療技術の産業化を支える基盤技術の構築を目指している。その過程で、汎用品として上市されている分析・解析装置を用いるだけでなく、本稿で紹介したように、ハード&ソフトの両面につ

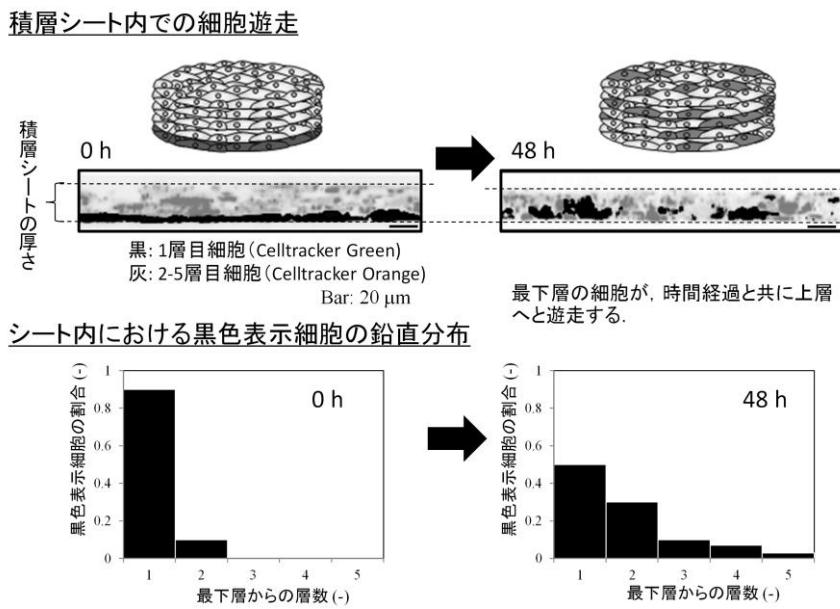


図4 積層筋芽細胞シート内の細胞の流動性評価

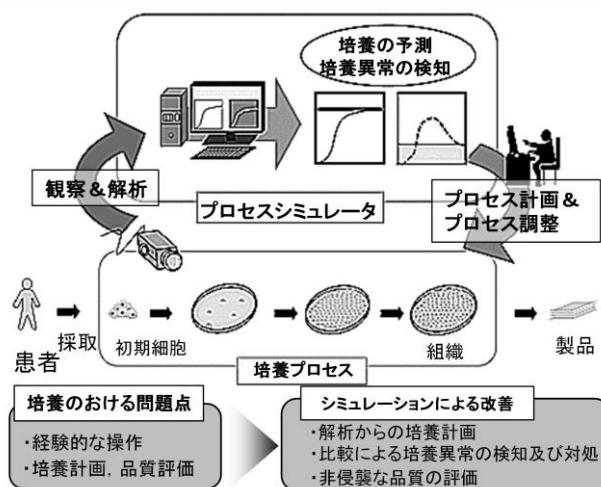


図5 組織生産における培養経過シミュレータの役割

いて“役に立つ道具作り”を重視している。独自に開発した技術・方法論で得られる情報は、従来の解析手法では解らなかった現象を明らかにし、新たな応用へと展開されるものと考えている。今後も、「私達らしさ」を大切にし、独自技術の創出と人材（人財）の送出を心掛け、再生医療を含む幹細胞産業へ貢献したいと願っている。

参考文献

- 1) M.-H. Kim et al.: “Cardiomyogenic Induction of Human Mesenchymal Stem Cells by Altered Rho Family GTPase Expression on Dendrimer-Immobilized Surface with D-Glucose Display”, *Biomaterials*, 31(30), 7666-7677 (2010).
- 2) M.-H. Kim et al.: “Designing Culture Surfaces Based on Cell Anchoring Mechanisms to Regulate Cell Morphologies and Functions”, *Biotechnol. Adv.*, 28(1), 7–16 (2010).
- 3) M. Kino-oka et al.: “Automating the Expansion Process of Human Skeletal Muscle Myoblasts with Suppression of Myotube Formation”, *Tissue Eng.*, 15(4), 717-728 (2009).
- 4) M. Kino-oka and M. Taya: “Recent Developments in Processing Systems for Cell and Tissue Cultures toward Therapeutic Application”, *J. Biosci. Bioeng.*, 108(4), 267–276 (2009).
- 5) 紀ノ岡正博: “第1章 細胞治療・再生医療における培養システムの役割”, “細胞治療・再生医療のための培養システム”, pp.3-16, シーエムシー出版, 東京 (2010).
- 6) 紀ノ岡正博: “臨床応用を目的とした細胞・組織生産における培養工学の役割”, 化学工学, 74(6), 284-287 (2010).
- 7) M. Kino-oka et al.: “Evaluation of Vertical Cell Fluidity in a Multilayered Sheet of Skeletal Myoblasts”, *J. Biosci. Bioeng.*, in press (2011).
- 8) M. Kino-oka et al.: “A Kinetic Modeling of Chondrocyte Culture for Manufacture of Tissue-Engineered Cartilage”, *J. Biosci. Bioeng.*, Vol.99, No.3, pp.197-207 (2005).
- 9) 浦柄信吾ら: “移植用組織生産における細胞挙動シミュレーション”, ケミカルエンジニアリング, 55(11), 814-818 (2010).