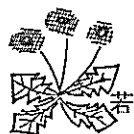


研究の再出発



者

川瀬 雅也*

Re-start of my study

Key Words : re-start, tissue engineering, biomaterials, modification, gene delivery

1) はじめに

一昨年の6月に、10年あまりを過ごしました香川大学(はじめの8年間は教育学部、後の2年あまりは農学部におりました)より大阪大学薬学研究科にまいりました。大阪にまいりまして、気分も新たに研究生活を再出発させましたので、もう若者といえる年齢かどうかわかりませんが(気分はまだ、十分若者です)、私の研究をこのコーナーで紹介させて頂きたく存じます。

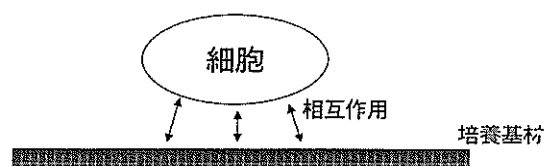
2) 細胞培養基材の開発

このテーマは、私が香川大学におります時から、現在の私の籍があります研究室の教授である八木先生と共同で進めてまいりましたものです。

細胞培養基材とは何かと申しますと、文字通り、動物細胞培養を行う際に、細胞がその上に接着する足場(Scaffold)のことで、これがなければ細胞培養が行えない、細胞培養において最も重要なものの一つです。ほとんどの動物細胞は培養時に何かに接着しなければ生きて行くことは出来ません。そして、現在、接着性を向上させた、動物細胞培養用基材が幾種類も市販されております。

では、何故、培養基材の研究を行うのかという疑問が出てくると思います。市販の培養基材は多くの種類の細胞に使えるようなものではありませんが、決して、最適なものではありません。現在、注目を集

め、急速に研究の進んでいる組織工学・再生医学の分野に目を転じてみますと、そこでは、幾種類もの細胞を用い、これらの細胞を目的とする細胞に分化させたり、目的量にまで増殖させたり、あるいは、長期に保持したりということが必要になってきます。ここで求められる培養基材とはどのようなものかを考えた時、細胞ごとに目的に応じて最適化したものとなるかと思えます。



細胞ごとに相性のいい基材表面の性質は異なる

細胞の種類に応じた Scaffold が必要

オーダーメイド Scaffold

Fig. 1

そこで私どもは、Fig. 1にありますように、細胞と基材間には種々の相互作用が存在し、用いる細胞によりこれら相互作用に対する応答は異なってきます。つまり、細胞ごとに相性が違うことになります。これら相互作用を調整したり、あるいは、新たな相互作用を作り出すようにすれば、細胞の分化誘導・増殖・機能発現を補助するような培養基材が作り出せるのではないかと考え、細胞ごとに最適化した培養基材(Scaffold)の開発研究を進めております。

この研究を進めるに当たり、まず、最初にたてました作業仮説は、細胞と基材との接触は基材表面で起こることから、表面の性質をコントロールすればいいのではないかとということです。そして、表面に

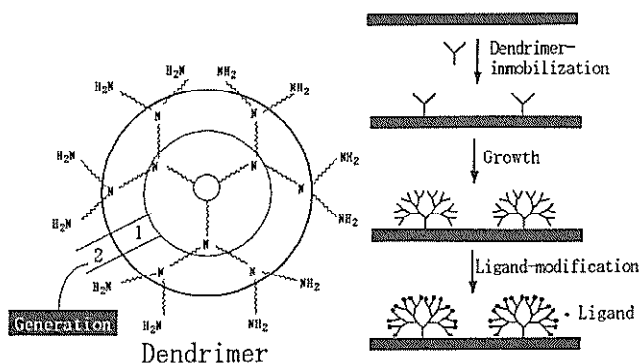


* Masaya KAWASE
1961年10月生
1990年京都大学大学院工学研究科工業化学専攻博士課程修了
現在、大阪大学・大学院薬学研究科、助教授、工学博士、生物工学
TEL 06-6879-8196
FAX 06-6879-8199
E-Mail kawase@phs.osaka-u.ac.jp(全て小文字)

リガンド修飾 dendriマー

【特徴】

- 世代(分岐点の層)数の増加に伴い末端基の数が指数関数的に増加
- 末端基に細胞と親和性の高い物質をリガンドとして固定が可能
- 1つの修飾点に多数のリガンドを導入できる
- 数種のリガンドを一つの dendriマーに導入できる



Application of dendrimer for cell culture substrates

Fig. 2

出来るだけ密に細胞との親和性の高い、もしくは、細胞機能に影響を与える分子を導入するという事を目指して研究を進めてまいりました。この目的を達成するために注目いたしましたのが、Fig. 2に示します dendriマーです。Fig. 2の左側に、最も代表的な末端にアミノ基を持つ dendriマーの構造を示します。図中にもありますように、 dendriマーは規則的に枝別れした非常に対称性の高い構造を持つ分子であり、末端基の数が分岐点の層(世代と呼んでいます)の増加に伴い指数関数的に増加するという性質を持っています。また、末端基はアミノ基に限られるわけではなく、他の官能基をとることも可能です。そして、これら末端基を細胞と相互作用する物質(リガンドと呼びます)で修飾することが可能です。これらの性質をうまく利用し、Fig. 2の右に示しますように、 dendriマーを基材表面に導入することで、1つの修飾点に多数リガンドを導入することが可能となります。

私共は、肝臓疾患の治療に役立てるため、バイオ人工肝臓補助システムの研究を長らく続けてきており、この発展として、肝臓の再生医学に進もうとしております。この研究の中で、肝細胞に適した培養器材の開発に、上記の dendriマー修飾基材を用いました。リガンドとして、フルクトースを用いますと、 dendriマー未修飾の基材上で培養した場合に

比べて、肝細胞の接着が改善され、かつ、細胞の機能が高く維持されることがわかりました¹⁾。また、検討を進めますとフルクトース修飾 dendriマーの効果により、細胞死の原因の一つでありますアポトーシスが抑制されていることもわかりました。さらに、リガンドに工夫を加えました結果、長期に、より肝臓組織に近いとされる細胞凝集体(スフェロイド)(普通は、すぐに基材から剥離し取扱いが難しいものです)を基材上に維持することを可能とし、バイオ人工肝臓の実現に一步近付くことが出来ました²⁾。

細胞を、肝癌細胞に代えて検討をいたしましたところ、リガンドにフルクトースあるいは肝細胞成長因子(Gly-His-Lys; GHK)を用いることで、肝癌細胞における増殖抑制と肝特異的機能の亢進の効果をもたらすことを示しました。また、レシチンをリガンドとした場合には、上とは逆に肝癌細胞の増殖促進が認められました。ここに示しましたフルクトースの効果は、フルクトース単独で細胞に与えた場合には見られませんでしたので、フルクトースをリガンド化して始めて発揮されるものであることも見出ししております^{3,4)}。このように、化学修飾 dendriマーは基材表面の高機能化に極めて有用であることを示してまいりました。

3) 肝保護物質

肝臓に関わる研究の一端として昨年より肝保護物質というテーマで研究をスタートいたしました。これは、信州大学医学部とつくばの食品総合研究所と私共の3者の共同研究として進めております。肝臓疾患の治療では、損傷した部位の再生を促進することはいうまでもありませんが、生き残って働いている肝細胞が損傷を受けないように保護することも重要な課題です。生き残った肝細胞を保護するためには、副作用のない安全な肝保護物質が必要となります。私共の研究は、まさに、このような肝保護物質を見つけようとするものであります。

現在、数個の候補物質(天然物と、その誘導体)を選び、それらの肝保護効果について検討をしております。幾つかの物質において、良好な結果が出つつあり期待を込めて研究を進めている最中です。

4) 経口遺伝子導入

この研究も、上の肝保護物質の研究と同じく、私が大阪大学にまいりましてから始めたもので、大阪

大学医学部との共同研究として進めております。このテーマはこれまでの物とは異なり、直接、肝臓とは関係がありません。この研究を始めた切っ掛けは、医学部の先生からキトサンを使って経口遺伝子導入を行い、ピーナッツアレルギーの治療にも応用可能との報告があり、この方法を使いたいので、このような材料を作れないかと相談を受けましたことです。私自身、毎年、花粉症に悩んでおり、アレルギー治療がこの系で簡単に行えるならとの興味もあり手を付けました。最初は、論文にあるから、簡単に進むだろうと思っていたのですが、いざ、始めてみますと論文の通りには行かず、自前で技術を開発しなければならぬことがわかりました。現在は、経口で胃に遺伝子導入を行えるようになっておりますが、アレルギー治療の観点からは小腸に遺伝子を導入することが望ましく、小腸に効率良く遺伝子を導入するための技術の開発を進めております。

5) 研究以外のこと

助教授という立場上、学生の教育にもタッチする機会があります。前任地でも10年間、学部学生の教育と教養課程の教育に携わり、8年間は教育学部で教員養成を行ってきた経緯もあり、教育のことはいつも気にかけております。大阪大学で2年が経とうとしており、その間に講義をする機会もあり、次のような感想を持ちました。阪大の学生さんは、さすがに、優秀です。しかし、その反面、高校までの教科内容の減少と、入試制度のためか、私が話をする機会のある学生さんは皆、あまり、数学や物理は好きではないようです。生物志向の学生さんの中には化学も敬遠する人もいます。本当にこれでいいのでしょうか。全てに精通する必要はないのですが、ある程度の基礎的な力をどの分野にも持ってはじめて

想像的な仕事のアイデアがうまれるのではないかと
いう気もいたします。どうすれば、このことを学生
さんに上手く伝えられるのか、また、教える側はど
うすれば、ちゃんと導けるのか。相手にその気がな
ければ、いくら教え方を工夫しても教育効率はあが
らないのは自明です。学生さんに、どう自覚しても
らうかが一番重要だと思っており、そのための方法
にアイデアが必要になってきます。しばらく考えて
みたいと思っております。

6) おわりに

これまでの自分の研究を振り返ってみまして、そ
のベースにありますのは、やはり、学生時代に身に
付けた知識と技術です。その後、ベースにいろい
ろなものをプラスしたり、ある時は、削除したりして
今日まで来ております。大学を移ってきて時間も経
ち、ペースが出来てきましたので、再出発のつもり
で、勉強し直しつつ、研究のさらなる発展をはかり
たいと考えております。

最後に、私のこのような拙い文章を掲載させて頂
く機会を与えて頂きましたことに改めて感謝いたし
ます。また、これまでの、そして、これからの私の
研究を支えて頂いております多くの方に、この場を
借りて感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) M.Kawase *et al.*, *J. Biomed. Mater. Res.*, 54, 519-524(2001)
- 2) S.Higashiyama *et al.*, 投稿中
- 3) M.Kawase *et al.*, *J. Biosci. Bioeng.*, 88, 433-437(1999)
- 4) M.Kawase *et al.*, *Artif. Organs*, 24, 18-22 (2000)

