

大阪大学との縁について



若 者

堀 口 一 樹*

How Osaka University brought me up

Key Words : Induced pluripotent stem cell, Suspension culture,
Chemical engineering

はじめに

筆者は2017年11月より、工学研究科生命先端工学専攻生物工学コースの助教に着任し、紀ノ岡正博教授の下で教育・研究活動に従事している。大学・大学院ともに他大学で過ごしていたため、大阪大学に所属して研究するのは今回が初めてであるが、大阪大学（特に吹田キャンパス）は私にとって非常に縁の深い場所である。着任して1年ほどが経過したころ、貴重な執筆の機会をいただいたので、自分と大阪大学との関わりやこれまでの研究を振り返り、またこれからの研究活動について、半ば所信表明のような内容になるが紹介したい。

私と大阪大学

前述のとおり私はつい1年ほど前に大阪大学に着任したばかりである。しかし、大阪大学吹田キャンパスを初めて訪れたのはもっと前で、幼少期、当時微生物病研究所の助手であった父に連れられたのが初めてになる。おそらく1990年代前半、幼稚園児ぐらいの頃のことであったと思う。実験や執筆作業に夢中だった父の目を盗んで研究室を脱走した挙句道に迷い、実験動物室の前でどうしようもなくなって泣いていた記憶が残っている。

小学校に上がり、父が助教授に上がった頃も、土日を中心にしばしば吹田キャンパスを訪れた。少年

野球をやっていた筆者は研究室対抗のソフトボール大会に呼ばれることもあった。約20年後、今度は教員として学生に混じってソフトボール大会に参加することになるとは当時は思ってもみなかった。

高校生にもなると、さすがに頻繁に父の研究室を尋ねることはなかったが、大学受験で志望校を決めかねていた時に父の研究室の助教授や助手の先生や学生のお話を伺いに研究室を尋ねた。当時の先生や学生も皆研究に忙しい中、時間を割いて自分の進路選択や研究内容に触れつつ、いろいろなアドバイスをいただいたことを覚えている。結局、生化学を学びたいという希望と、自由の校風への憧れから、京都大学工学部工業化学科へ進学した。大学に進学した後は、しばらく大阪大学を訪れることはなく、次に訪れることになるのは大学院に進学した後のことである。

学部～大学院修士課程

生化学を志して化学系の学部に進学した筆者であったが、紆余曲折を経て、保存則（系に投入される量から放出される量を差し引くと系で消費/生成される量がわかる）と移動現象（ものは濃度が高いところから低いところへ流れる）という至ってシンプルな理論で物事を捉え、設計できる化学工学に魅力を感じ、学部卒業後、生物化学工学分野への進学を希望して東京大学大学院工学系研究科へ進学した。

大学院では、後に師事することになる紀ノ岡教授が代表を務める「戦略的イノベーション創出推進事業」および「再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業」の援助の下、人工多能性幹細胞（iPS細胞）の浮遊培養における凝集体形成制御に関する研究に取り組んだ。学生の身にもかかわらず、プロジェクトの会議の場に参加させていただいたことは、何よりも得難い貴重な経験だった。



* Ikki HORIGUCHI

1987年5月生まれ
東京大学大学院 工学系研究科 バイオ
エンジニアリング専攻博士後期課程
(2015年)
現在、大阪大学大学院 工学研究科
生命先端工学専攻 助教 博士(工学)
TEL : 06-6879-7445
FAX : 06-6879-4246
E-mail : horiguchi@bio.eng.osaka-u.ac.jp

浮遊培養は生物でよく行われる接着培養と異なり、細胞の増殖に接着面を用いないため、容器を単純化できる利点があり、スケールアップ・大量培養への応用に優れている。これまでには抗体、ホルモン、抗生物質、色素などの有用物質の生産を目的として、大腸菌や酵母、動植物の細胞で試みられている。近年では、移植に必要な数の細胞の確保を目的としてiPS細胞や間葉系幹細胞などの浮遊培養が試みられている。

iPS細胞は浮遊培養では凝集体を形成することが知られているが、細胞の分散が不十分であると過剰に凝集し、大型の凝集体を形成してしまい、増殖が停止してしまう。一方で、分散させようと強いかく拌を行うと、剪断応力によって細胞が死滅したり、凝集体の形成が不十分で増殖が遅延したりといった悪影響がある。そのため、集まりすぎず、分散しすぎず、そしてストレスを与え過ぎない条件設定が必要である。この微妙な条件設定がiPS細胞の大量培養を行うにあたって、現在でも大きな足かせとなっている。

修士課程では、アルギン酸ゲルカプセル内にマウスiPS細胞を封入して培養することで、細胞の凝集を抑制して培養する手法の確立を行った。実験開始当初は細胞がカプセルを突き破ってしまったり、全く成長しなかったりと歓迎できない現象も多々あったが、カプセルの中でのiPS細胞凝集体の挙動は想像以上に従来の浮遊培養と異なっており、通常であれば起こるはずの細胞分化が起きていないことを免疫染色やPCRで明らかにしたときはなんとも言いぬ興奮を感じた。

大学院博士課程

分野は変わったものの、博士号を取りたい、大学で研究教育をしたいという希望は当初から変わらず、修士課程修了後もそのまま博士課程に進学した。今思えば、幼少期に大阪大学に出入りしていた経験が少なからず影響していたのだと思う。指導教官の厚意と機会に恵まれ、博士課程1年の夏から8カ月間、カナダへの留学をさせてもらった。この留学によって、国外にいてもなんとか生きていけるのではないかというおぼろげな自信と、科学の営みは世界共通であるという確かな実感を、博士号を取得する前に得られたことはありがたいことだったと思う。

博士課程2年になり留学から戻ってからは、幸いにして日本学術振興会の特別研究員(DC2)の援助もあって、留学時代に習得したヒトiPS細胞の培養を始めた。当初は修士課程の研究内容であるカプセル化を継続しようと考えていたが、培養後の回収がより容易になることから、カプセル化を行わない直接浮遊培養での凝集体形成制御に踏み切った。これまでと違って細胞が固定化されていないため、凝集体の形成は細胞自身に任せることになる。そのため、かく拌条件や培地組成といった細かい条件によって、形成される凝集体の形態が大きく変わってしまう。博士課程2年の冬に特定の脂質が凝集体の形成を抑制することを発見し、この成果をまとめあげて博士論文を仕上げた。最後の実験を終えたのは博士論文提出1週間前であったから、結構な綱渡りだったと思う。この成果は幸いにして興味を持っていただいた企業の協力の下、特許化され、現在でも商品化に向けて研究が続いている。

博士号取得後～大阪大学に着任するまで

博士号取得後は、浮遊培養中の運転条件と、それによってiPS細胞が引き起こす現象との関係性について興味を持った。特に浮遊培養のかく拌によって生じる液流の状態と結果として生じるiPS細胞の凝集体の形成・増殖・細胞死の関係の解明は、iPS細胞の大量生産を考える上で重要である。その際、細胞自身にかかる剪断応力の推定は重要な課題であるが、複雑な液流に乗って自由に移動する細胞にかかる剪断応力を実験的に測定することは困難であるため、計算による推定が主なアプローチとなっている。これに対して、高速度カメラと粒子トラッキングを用いた加速度測定を行い、それを元に細胞にかかる剪断応力を簡易的に推定する手法の確立を目指した。6ウェルプレート内の限られたスケールではあるが、凝集体の平均加速度が細胞の増殖・死細胞に対応していることを明らかにした。

この頃は同時に、企業の協力の下、実際に凝集体を形成する細胞の浮遊懸濁培養に適した培養容器の開発にも取り組んだ。企業の技術者と議論しながらイメージした製品が出来上がっていくことはこれまでの研究生活ではなかったことで、とても充実した経験であった。議論した企業の技術者とは幸いにして、大阪大学に着任した今でも交流の機会を得られ

ている。

着任後、これから

改めてこれまでの研究を書いていくと、カプセル化から凝集抑制剤、剪断応力の推定、培養容器の設計と、iPS細胞の浮遊培養を中心に、自分の興味に従って手広く研究・ものづくりをしてきたように思う。大学教員として着任した今、これらの研究活動で得た知見を学問として体系化、確立していくことが必要になってくると考えている。特に、培養動作によって生じる様々な物理現象に対する細胞応答（増殖・死・分化など）を保存則と移動現象を軸とした化学工学的な視点から明らかにしていく、それがひいてはiPS細胞をはじめとした細胞を用いた産

業の発展に繋がっていくと考えている。そのような作業を幼少期から慣れ親しんだ大阪大学の吹田キャンパスで行うことになるのは何らかの縁なのだと思う。

おわりに

最後になるが、本原稿の執筆の機会を与えてくださった大阪大学生物工学国際交流センターの藤山和仁教授、そして、これまでの研究生活にてご指導いただいた京都大学大学院工学研究科の大嶋正裕教授、東京大学大学院工学系研究科の酒井康行教授、大阪大学大学院工学研究科の紀ノ岡正博教授に感謝を申し上げて本稿の締めくくりとしたい。

