



2017年11月13日

報道関係者各位

慶應義塾大学  
荏原実業株式会社

## 未分化ヒト iPS 細胞の大量培養を可能とする培養基材の開発に成功

慶應義塾大学理工学部機械工学科の宮田昌悟准教授と、慶應義塾大学医学部循環器内科の福田恵一教授をはじめとする藤田淳特任准教授、遠山周吾特任助教他、および荏原実業株式会社(東証1部 本社:東京都中央区、代表取締役会長兼社長:鈴木久司) 計測器・医療本部の大平美智男、高橋秀一、中田英夫の研究グループは、未分化 iPS 細胞を大量培養する際に必要となる特殊タンパク質のコーティング量を、大幅に削減可能とする培養基材の開発に成功しました。

プラスチック製の細胞培養ディッシュ(シャーレ)の表面に、荏原実業株式会社製の EKBIO-1100 装置を使用して特定波長の紫外線(UV光)を照射し、分子構造を改質して分子構造を分析することで、iPS 細胞の接着、未分化維持、増殖を促進する分子構造と、阻害する分子構造を明らかにしました。

この結果をもとに市販の細胞培養ディッシュの表面を改質することで、マウス iPS 細胞では全くコーティングを必要とすることなく培養が可能となりました。加えて、ヒト iPS 細胞においても必要とされるコーティング物質の使用量を大幅に削減することに成功しました。この表面改質処理手法は純粋に物理学的手法で実施されるため、試薬コストの大幅な低減が見込まれ、ヒト iPS 細胞の大量培養の高効率化が期待されます。そのため、この培養基材および基材の表面改質技術を用いることで、iPS 細胞を用いた再生医療の基礎研究と臨床応用が大きく進展するものと考えます。

本研究の成果は国際特許として出願済みであり、また、第39回日本バイオマテリアル学会大会(船堀、2017年11月20~21日開催)にて「培養基材のUV/ozone表面改質を用いたヒト iPS 細胞培養における接着基質コート量の低減」として公表予定です。

### 1. 研究の背景

ヒト iPS 細胞は、あらゆる細胞に分化出来る能力(多分化能)を持っています。しかし、その一方でこの能力を完全に保ちながら iPS 細胞を大量に増殖させることは難しいとされています。培養条件に問題がある場合には iPS 細胞はその能力を失ってしまい、目的の細胞へと分化させることができなくなります。細胞の培養は、細胞培養用のプラスチック基材に接着させて培養しますが、細胞によってはプラスチック基材上で直接細胞を培養することが困難な場合があります。

ヒト iPS 細胞の培養では、プラスチック表面にマウス由来のフィーダー細胞という iPS 細胞の接着を助けて多分化能を維持する細胞層を接着させておくか、細胞接着の足場となる特殊なタンパク質でコーティングすることが必要です(図1)。しかしながら、臨床応用ではマウス由来のフィーダー細胞の混在は避けなければならない上に、特殊タンパク質は極めて高価であるため、大量の細胞を培養して組織を再生する場合には、コストが臨床応用への大きな障壁となっていました。

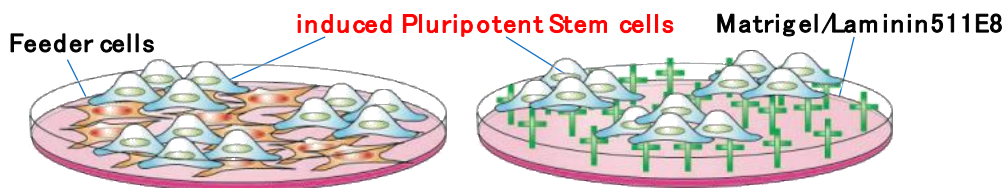


図1. ヒト iPS 細胞の培養法

慶應義塾大学医学部が取り組んでいる再生心筋細胞移植による重症心不全治療では大量の心筋細胞が必要とされますが、心筋細胞は増殖能が乏しいため iPS 細胞を大量培養する必要があります。これまでの培養法で、iPS 細胞を大量培養するにはコストがかかりすぎるため、実用化のためにはコストを大幅に下げする必要があります (図2)。そこで慶應義塾大学医学部・理工学部と荏原実業株式会社は共同で、iPS 細胞の多能性を維持しながら、かつ、必須とされている特殊なタンパク質使用量を、大幅に削減可能とする細胞培養基材の開発に数年前から取り組んできました。

慶應義塾大学医学部が提供した高品質の iPS 細胞株、培養技術、多能性評価法と同理工学部が提供した培養基材の表面分子構造の改質手法に加えて、荏原実業株式会社のオゾン処理に関する諸技術を併せ、市販の細胞培養ディッシュと表面改質技術を活用したヒト iPS 細胞の培養の高効率化を実現する細胞培養基材の研究を進めました。

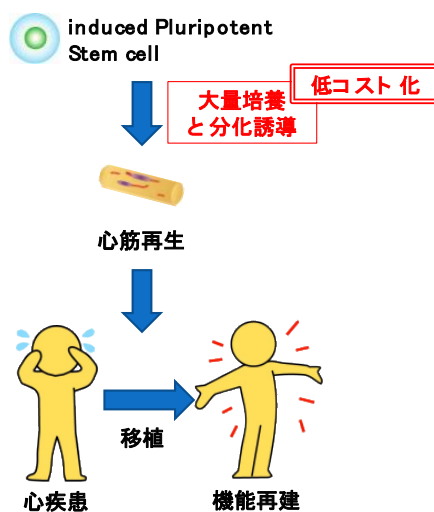


図2. ヒト iPS 細胞を用いた心疾患を対象とする再生医療とその課題

## 2. 研究成果

本研究グループは共同で、UV 光を酸素雰囲気中で照射することで、オゾンおよび活性酸素を生成し、活性酸素の強酸化性を利用して市販ポリスチレン製培養基材の表面分子構造を改質する技術(以降、UV/ozone 表面改質技術)を開発しました。そして、この改質技術を用いて複数の条件下で、ポリスチレン製細胞培養基材に表面改質を施し、マウス ES 細胞および iPS 細胞を培養してどの条件下で改質された基材が細胞の増殖や多能性の維持に最適であるかを解明しました。

その結果、マウス ES 細胞と iPS 細胞をフィーダー細胞や足場となる特殊タンパク質のコーティングをせずに単独で培養することに成功しました(図 3)。さらに、マウス ES 細胞および iPS 細胞の研究データに基づいてヒト iPS 細胞株での培養実験を実施したところ、多能性を維持しながら足場材料となるタンパク質(マトリゲル、ラミニン 511E8)の使用量を 20~50%にまで低減させても、培養が可能であることを明らかにしました(図 4)。

ヒト iPS 細胞の大量培養では、足場材料に要するコストが高いことが全体のコストを押し上げることにつながっており、本技術を用いることで再生医療に必要なヒト iPS 細胞の培養コストを改善することが期待されます。

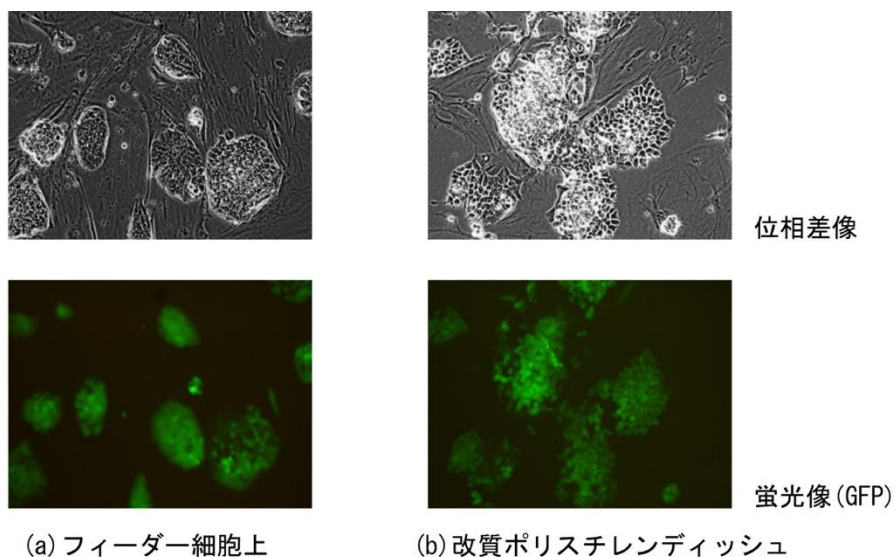


図 3. マウス iPS 細胞の完全単独培養の実現

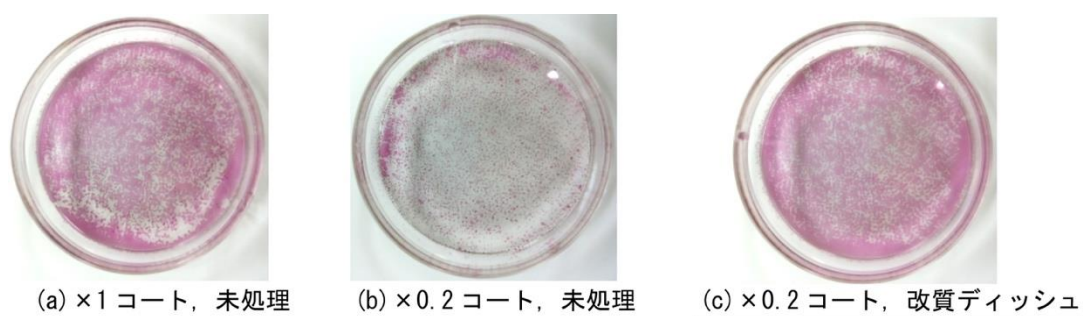


図 4. ヒト iPS 細胞における接着基質の削減効果(マトリゲルの使用量を 20%まで削減)

### 3. 今後の展開

今回、ヒト iPS 細胞の低コスト化を可能とする細胞培養基材の表面改質技術を開発したことにより、国内外での臨床応用を目的とするヒト iPS 細胞研究は大きく促進されるものと期待されます。また、開発された UV/ozone 表面改質技術は、特殊な試薬を用いることなく大気圧環境下で UV 光の照射のみで実施可能な技術であり、ほぼ全ての一般的なポリスチレン製細胞培養基材に適用可能な汎用性の極めて高い培養基材の改質手法となります。今回の成果は、研究グループが目指す iPS 細胞を用いた重症心不全の再生医療の具現化への大きな一歩と考えており、さらなる技術開発に繋がっていきたいと考えています。

### 4. 本研究への支援

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の「医療研究開発推進事業費補助金 (橋渡し研究加速ネットワークプログラム、橋渡し研究戦略的推進プログラム)」、「再生医療実現拠点ネットワークプログラム (再生医療の実現化ハイウェイ)」の支援によって行われました。

#### <用語解説>

#### 1 : 胚性幹細胞 (ES 細胞 : embryonic stem cell)

ES 細胞は受精後 6~7 日目の胚盤胞から細胞を取り出し、それを培養することによって作製される多能性幹細胞の一つで、あらゆる組織の細胞に分化することができる。

#### 2 : 人工多能性幹細胞 (iPS 細胞 : induced pluripotent stem cell)

体細胞に特定因子を導入することにより樹立される、ES 細胞に類似した多能性幹細胞。2006 年に京都大学山中教授の研究グループにより世界で初めてマウス体細胞を用いて樹立された。受精卵を破壊する必要がなく、患者自身の細胞から作製することが可能なため、免疫拒絶の問題が理論上無い。

#### 3 : フィーダー細胞

ES、iPS 細胞を培養する際に培養条件を整えるために基質となる線維芽細胞。マウスの胎児由来の線維芽細胞が用いられることが多い。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送信させていただいております。

#### ・研究内容についてのお問い合わせ先

慶應義塾大学 理工学部機械工学科 准教授 宮田昌悟 (みやた しょうご)

TEL : 045-566-1827 FAX : 045-566-1495 E-mail : miyata@mech.keio.ac.jp

#### ・本リリースの配信元

慶應義塾広報室 (竹内)

TEL : 03-5427-1541 FAX : 03-5441-7640

Email : m-koho@adst.keio.ac.jp <http://www.keio.ac.jp>

荏原実業株式会社 計測器・医療本部 (中田)

TEL : 044-981-0560 FAX : 044-981-0561

Email : ejoznqa@ejk.co.jp <https://www.ejk.co.jp/>