

ソフトアクチュエータの蠕動運動による細胞組織塊の高速形成

東京農工大学 工学研究院 准教授 倉科 佑太

〔研究の概要〕

三次元細胞組織の形成は、二次元細胞組織と比較して高い生体内再現性を持つことから、再生医療や薬剤スクリーニングにおいて注目を集めている。しかし、生体内に近い形で三次元細胞組織を大量に形成する従来の方法は確立されていない。そこで本研究では、主にポリジメチルシロキサン (PDMS) 製の空気圧培養デバイスとハイドロゲルマイクロウェルを組み合わせ、圧力刺激を細胞に与えて三次元細胞組織を形成する方法を提案する。本研究では、空気圧で膨張する培養デバイスが、デバイス内のアガロースゲルで製作したマイクロウェルを介して細胞に圧力を加えた。その結果、培養中に細胞組織に空気圧刺激を与えることで、細胞組織の分化が促進された。この提案方法は、再生医療や薬剤スクリーニングに向けた三次元培養による細胞成熟に期待できる。

〔研究経過および成果〕

三次元細胞組織の形成は、ディッシュやフラスコなどで培養する二次元細胞組織と比較して、より生体内の再現性が高いことから、現在の再生医療や薬物スクリーニングにおいて注目されている。とくに、機械的刺激を用いた細胞培養は細胞の分化を促進し、理想の細胞組織を得ることができる。しかし、機械的刺激による細胞培養は、培養装置の大きさや複雑さから大量培養が難しいという問題がある。そのため、生体内により近い三次元細胞組織を大量に形成する方法は確立されていない。このため本研究は、主に PDMS でできた空気圧培養デバイスとハイドロゲルマイクロウェルを組み合わせ、圧力刺激を細胞に与え、より生体内

に近い三次元細胞組織を形成する (図 1)。

空気圧培養デバイス (図 2a,b) に 0~0.1 MPa の空気圧を印加し、その際のデバイス培養部の収縮率を測定した。空気圧制御システム (図 2c) を用いて、デバイスを空気圧で収縮させた (図 2d)。その結果、デバイス収縮率測定では、空気圧の増加に伴いデバイス培養部は収縮し、最大約 6% まで収縮した。また、空気圧を印加した時のデバイスの挙動を、COMSOL を用いて有限要素解析した (図 2e)。デバイスの PDMS チャンバーが膨張し、デバイス中心部の培養部分が収縮することを確認した。細胞を培養するハイドロゲルマイクロウェルは空気圧培養デバイスの中心にある培養部にアガロースゲルを用いて製作した。

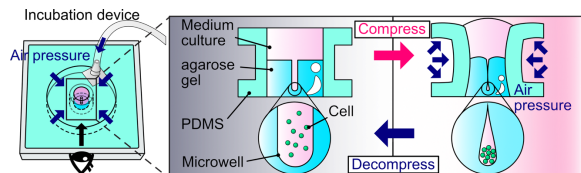


Figure 1: Conceptual illustration of culturing cellular tissue in a hydrogel microwell by applying air pressure.

細胞培養ではマウスの軟骨前駆細胞である ATDC5 を用いて、細胞に空気圧を印加して細胞組織形成し、それらの細胞組織を免疫染色した。培養時間は 6, 12, 24 時間、空気圧は 0~0.06 MPa で ON-OFF を繰り返す条件で培養した。また、細胞は培養前にアガロースゲルで形成されたマイクロウェルの中に播種され、そ

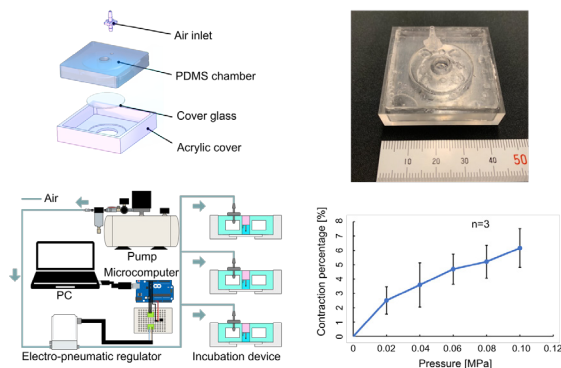


Figure 2: Pneumatic culture device and control system. (a) Device design. (b) Fabricated pneumatic culture device. (c) Culture device control system. (d) Culture area shrinkage ratio of the device when applying air pressure. (e) Finite element analysis of the inflated device by air pressure (cross-section).

の後はマイクロウェルの乾燥を防ぐため、ウェル上を培地で満たした。その後、免疫染色により細胞組織の細胞核、軟骨細胞の分化で産生される collagen II、分化に必須な転写因子である Sox9 をそれぞれ青、緑、赤色で染色し、共焦点観察した(図 3a)。

1. 結果・考察

COMSOL を用いた空気圧印加時のデバイスの有限要素解析では、また、2 種類のアガロースを用いたマイクロウェル収縮率測定では、低強度ゲルの A2576、高強度ゲルである A9539 のどちらの場合でも最大収縮率は約 10%であった。その為、細胞培養実験ではより高いゲル強度を持つ A9539 を使用した。

空気圧を印加して培養した細胞組織を免疫染色した結果、6 時間では空気圧を印加した細胞組織は、印加しなかった細胞組織と比較して、細胞がより凝集していた。さらに、空気圧あり、なしの細胞組織は collagen II の発現量にあまり差が無かったのに対して、空気圧印加した細胞組織の Sox9 はどの時間で比べても、印加しなかった細胞組織と比較してより発現していた(図 4b, c)。このことから、空気圧による圧力刺激

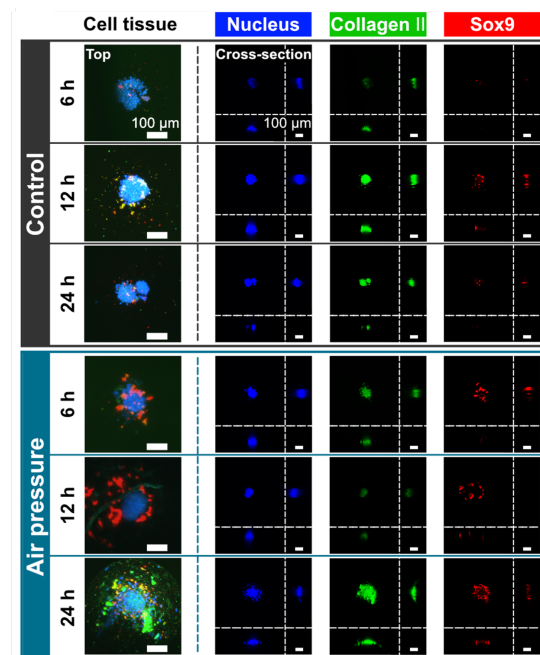


Figure 3: Cellular tissues by air pressure. Cell nucleus, collagen II, and Sox9 immunostained by blue, green, and red.

を細胞に与えることによって、細胞組織の分化因子の発現が促進されることが示唆された。

本研究では提案方法により細胞組織の細胞分化因子の発現が増加し、細胞組織の成長が促進された。この空気圧刺激を用いた細胞培養は再生医療や薬物スクリーニングの分野に応用されることが期待される。
[発表論文]

1. ○R. Kawamae, et. al., “Forming Spheroid Using Hydrogel Microwell and Pneumatic Soft Actuator,” MEMS2024, 2024.
2. ○ R. Kawamae, *et al.*, “Forming spheroids in micro-molded agarose gels using mechanical stimuli,” μ TAS 2024 proceeding, 2024.
3. ○河前遼太ら, “空気駆動ソフトアクチュエータによるひずみが細胞組織形成に及ぼす影響”, Cheminas 50, 2024.