

2016年8月12日

AGC旭硝子

国立研究開発法人 日本医療研究開発機構

AGC 旭硝子、再生医療に用いる iPS 細胞の大量培養プラットフォームを開発 —研究論文が英 Nature Publishing Group の Scientific Reports に掲載—

AGC旭硝子（旭硝子株式会社、本社：東京、社長：島村琢哉）は、iPS細胞^{注1}等を培養するための微細加工細胞培養容器（EZSPHERE[®]注2）を開発し、国立研究開発法人 日本医療研究開発機構（AMED）の「再生医療実現拠点ネットワークプログラム」の支援を受け、この培養器で均一な細胞塊状のiPS細胞を大量調製し、同一容器内で目的細胞に分化誘導することに成功しました。（代表研究者：AGC旭硝子 技術本部先端技術研究所 熊谷博道特別研究員）

その研究成果をまとめた論文が、英国Nature Publishing Groupの電子ジャーナル「Scientific Reports」に2016年8月10日にオンラインで掲載されました。（<http://www.nature.com/articles/srep31063>）

iPS細胞等、多能性幹細胞^{注3}の臨床応用には、細胞塊を大量調製する必要がありますが、これまでの培養手法では、均一な細胞塊の調製に限界がありました。

AGCグループでは、プラスチック製培養器の表面にレーザーで数百μm径の小孔を形成し、さらに低接着性の特殊コートを施したEZSPHERE[®]を開発しました。この培養器でiPS細胞を培養した結果、培養器表面への細胞接着が抑制され、短時間で効率的に均一な細胞塊が形成されました。さらに、同一の培養器で目的細胞への分化誘導に成功しました。

iPS細胞等、多能性幹細胞を利用した再生医療、あるいは創薬（医薬品スクリーニング）への活用は今後ますます発展していきます。本研究で明らかにした均一な細胞塊の大量調製方法は、その重要な基盤技術になることが期待されます。

なお、論文の要旨については別添資料をご参照ください。

AGCグループは、経営方針 *AGC plus* の下、世の中に「安心・安全・快適」を、お客様に「新たな価値・機能」を、プラスする技術開発と製品づくりに取り組んでいます。今後も戦略事業のターゲット領域の一つであるライフサイエンスの分野において、お客様に満足頂ける、新たな価値をプラスした製品やソリューションをご提供できるよう技術革新を進めてまいります。

以上

◎本件に関するお問い合わせ先：

AGC 旭硝子 経営企画部 広報・IR 室長 小林 純一

（担当：鳥山 TEL: 03-3218-5603 E-mail: info-pr@agc.com）

【用語解説】

(注 1) iPS 細胞 :

人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell) と呼ばれ、体細胞に複数の遺伝子を導入して作製されます。ES 細胞のように多くの種類の細胞に分化できる多分化能と自己複製能を有します。2006 年に京都大学の山中伸弥教授らが最初に報告しました。

(注 2) EZSPHERE[®] :

AGC テクノグラス社が開発・製造・販売している微細加工容器<EZSPHERE[®]>は、既存のポリスチレン製のディッシュやプレートなどの培養容器の底面を CO₂レーザー照射で微細加工し、孔径約 200~1,400 μm、深さ約 100~400 μm の微小な小孔が培養面一面に等間隔で隙間なく形成され、さらに細胞接着を抑制するポリマーコーティングが施された特殊な微細加工培養容器です。

(注 3) 幹細胞 :

分裂して自分と同じ細胞を作る能力(自己複製能)と、別の種類の細胞に分化する能力を持ち、際限なく増殖できる細胞と定義されています。iPS 細胞、ES 細胞、体性幹細胞など様々な種類があります。

【AMED 事業に関するお問い合わせ先】

国立研究開発法人日本医療研究開発機構

戦略推進部 再生医療研究課

TEL : 03-6870-2220

E-mail : saisei"AT"amed.go.jp

※E-mail は上記アドレス"AT"の部分をもに@に変えてください。

◎本件に関するお問い合わせ先 :

AGC 旭硝子 経営企画部 広報・IR 室長 小林 純一

(担当 : 烏山 TEL: 03-3218-5603 E-mail: info-pr@agc.com)

AGC 旭硝子、再生医療に用いる iPS 細胞の大量培養プラットフォームを開発 【別添資料：論文要旨】

ポイント

- 微細加工細胞培養容器を用いた 3 次元培養方法によって、ヒト iPS 細胞から「短時間で」「サイズ均一な」細胞塊を「高効率で」「大量形成」させ、「安定増殖」させる技術を開発しました。
- 微細加工細胞培養容器の小孔サイズや播種する iPS 細胞数の調節によって、iPS 細胞塊のサイズまたは密度をコントロールすることで、神経幹細胞^{注4}の分化誘導に要する時間を短縮させることに成功しました。
- ヒト iPS 細胞塊の形成からドーパミン神経^{注5}への分化・成熟化までの一連の工程を同一の微細加工細胞培養容器で一貫して行える手法を確立しました。

研究の概要

iPS 細胞を始めとした多能性幹細胞は、再生医療の重要な細胞ソースとして期待され、高品質な細胞を大量・低コストで調製する事が求められています。多能性幹細胞を 3 次元培養し、細胞塊（スフェロイド^{注6}）または胚様体^{注7}を形成させると、細胞の本来の多能性（未分化状態）を維持したまま高密度培養が可能ですが、細胞塊の大きさが不均一なために、その後の増殖・分化効率の低下やばらつきが発生するなど、3 次元培養には限界がありました。

上述課題に対して、本研究では、プラスチック製培養器の表面にレーザーで数百 μm 径の小孔を形成し、さらに低接着性の特殊コートをした微細加工細胞培養容器 EZSPHERE[®]を用いて、iPS 細胞の 3 次元培養および分化誘導を試みました。その結果、iPS 細胞が培養器表面に接着することなく、均一な細胞塊を短時間で効率よく形成できることを確認しました。また、微細加工容器の小孔サイズや播種細胞数を変更することで細胞塊の大きさを制御できることがわかりました。さらに、同一容器内での目的細胞への分化誘導が可能であり、一例として、ドーパミン神経細胞への分化誘導に成功しました。

本研究成果が社会に与える影響（本研究成果の意義）

iPS 細胞等、多能性幹細胞を利用した再生医療、あるいは創薬（医薬品スクリーニング）への活用は今後ますます発展すると考えられます。本研究によって確立された、iPS 細胞から均一な細胞塊（スフェロイド／胚様体）を簡便に大量に効率よく調製し、さらに効率的に分化させる技術は、今後様々な多能性幹細胞の 3 次元培養の基盤技術として活用が期待できます。

研究内容と成果

1. 微細加工細胞培養容器による iPS 細胞塊の高効率形成

本研究では、レーザー加工法でプラスチック製シャーレやプレートに数百 μm 径の小孔を形成させ、さらに低接着性の特殊コートをしたユニークな微細加工培養容器（以下「EZSPHERE[®]」）を用いた iPS 細胞塊（スフェロイド）の形成技術の開発を実施しました。ヒト iPS 細胞（201B7 株；iPS アカデミアジャパンから入手）を本容器に播種すると、iPS 細胞は容器表面へ接着することなく、速やかに各小孔に均等に落下し、短時間（約 3–4 時間）で細胞塊の形成が認められました。他の容器と比べ、高い形成効率、サイズ均一性を示しました（図 1）。さらに、高い増殖および多能性維持を確認しました。レーザー加工法を用いているため、小孔サイズ（孔径・深さ）の調節が可能であり、適切な大きさの細胞塊を均一に形成させることが可能であることを確認しました。

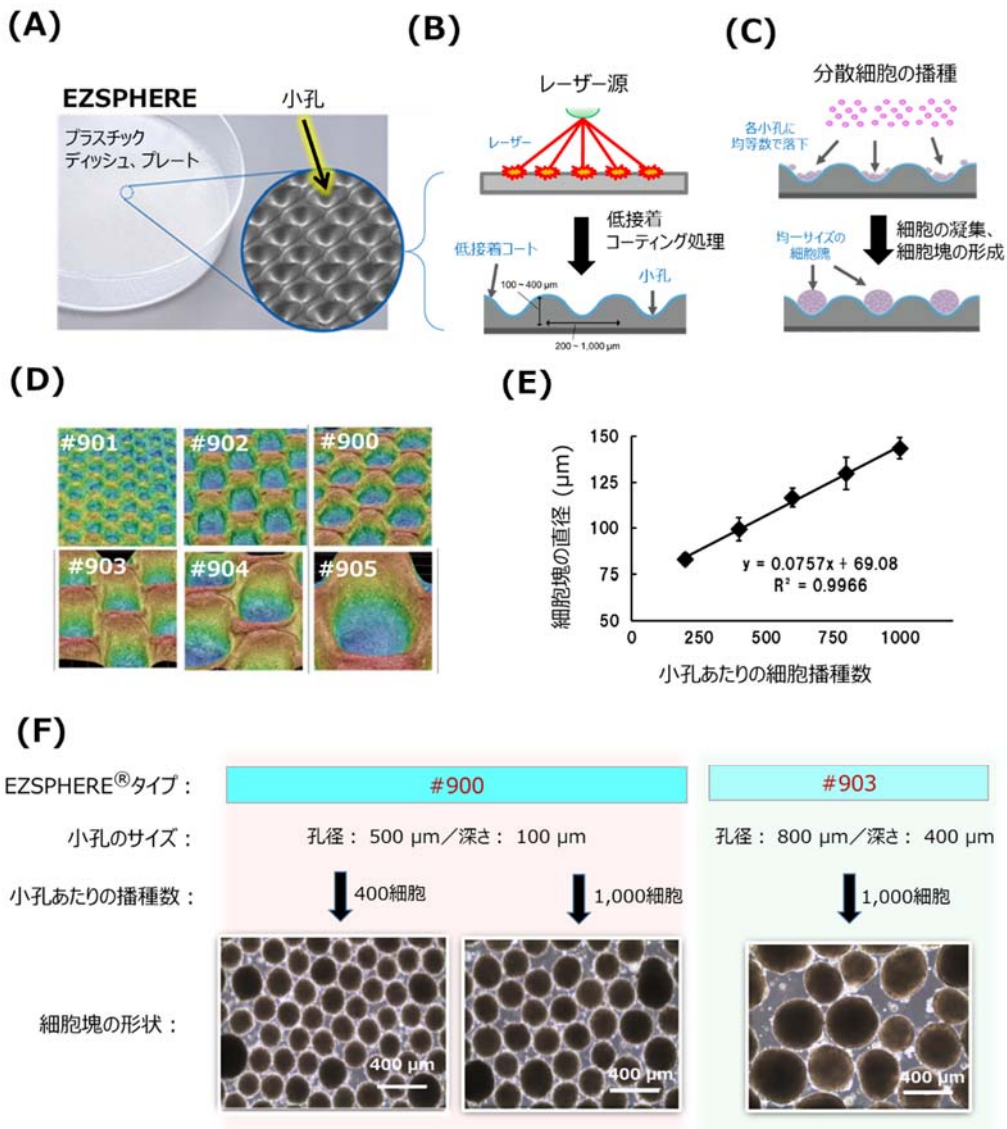


図 1 : 微細加工培養容器 EZSPHERE[®]およびそれを用いた iPS 細胞塊の高效率形成

(A) 微細加工した小孔の形状、(B) 小孔の加工方法、(C) 小孔での細胞塊形成方法、(D) 小孔サイズの多様性、(E) 播種細胞数と細胞塊サイズの相関性 (EZSPHERE[®]タイプ#900 を使用した場合)、(F) 小孔サイズと播種細胞数の組み合わせに応じた細胞塊サイズの調整

2. iPS 細胞塊の大きさに応じた神経分化効率の制御

iPS 細胞を目的の細胞に分化させるためには、細胞塊のサイズを制御することが重要といわれています。そこで、神経分化を例にとり、細胞塊の大きさと分化効率の相関性を調べました。小孔あたりの播種細胞数が多い場合 (1000 細胞/小孔) と少ない場合 (400 細胞/小孔) で、大きさの異なる細胞塊を形成させることができ、興味深いことに、より大きな細胞塊から神経分化させることで、非常に短時間で神経幹細胞に分化することを見出しました (図 2)。

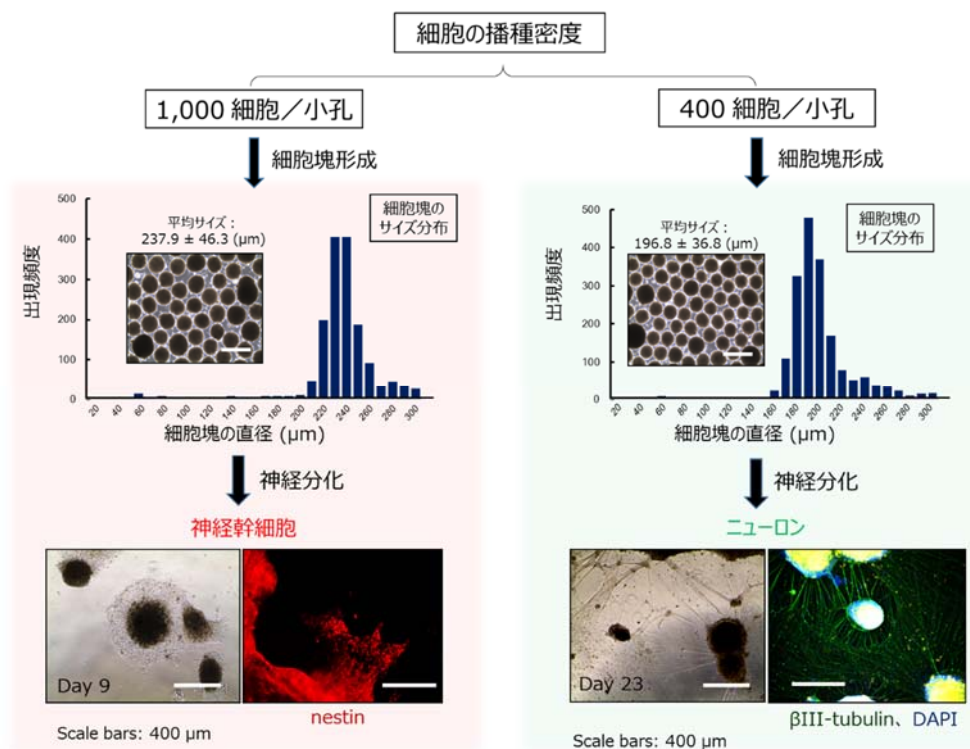


図 2 : iPS 細胞塊の大きさに応じた神経分化の制御

3. 同一の微細加工培養容器内でドーパミン神経の分化誘導・成熟化まで一貫達成

培養液を変更することにより、胚様体形成、増殖、ドーパミン神経細胞への分化、それぞれの工程を同一容器内で行うことができることを示しました（図3）。

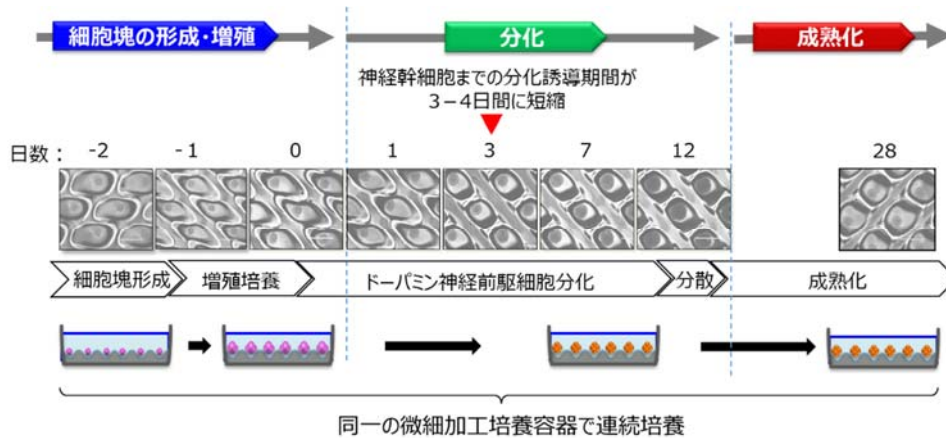


図3：同一の微細加工培養容器で一貫した3次元培養によるiPS細胞塊の形成・増殖からドーパミン神経の分化誘導・成熟

まとめと今後の展開

再生医療や創薬にiPS細胞を活用するためには、均一な性質を持つiPS細胞を大量に簡便に調製し、効率よく分化誘導する手法が重要です。

本研究では、ユニークな形状を持つ微細加工細胞培養容器EZSPHERE®を用いた3次元培養方法を用いて、iPS細胞など幹細胞の細胞塊形成から、細胞増殖、分化誘導、細胞純化・成熟化までを一貫して効率よく行うことを示すと共に、細胞塊の大きさに依存して分化の効率が向上することを明らかにしました。

微細加工細胞培養容器EZSPHERE®は、iPS細胞を簡便に低コスト・高品質で大量培養・分化するプラットフォーム構築に寄与することが期待され、再生医療等の実用化に必須の培養容器としての展開が期待されます。

掲載論文

【題名】

Microfabric Vessels for Embryoid Body Formation and Rapid Differentiation of Pluripotent Stem Cells (多能性幹細胞の胚様体形成および効率的分化のための微細加工培養容器)

【著者名】

佐藤 拓輝、イディリス アリムジャン、三輪 達明、熊谷 博道

【掲載紙】

Scientific Reports

用語解説

(注 4) 神経幹細胞 :

神経系のニューロンやグリア細胞へ分化する能力を持つ幹細胞です。

(注 5) ドーパミン神経細胞 :

神経伝達物質としてドーパミンを放出するニューロン的一种です。

(注 6) スフェロイド :

細胞同士が集合・凝集化した球状の細胞集合体 (細胞塊・spheroid) を指します。

(注 7) 胚様体 :

ES 細胞や iPS 細胞を浮遊培養の条件で分化へと誘導すると、ボール状の細胞塊を形成し、様々な細胞種へ分化していきます。特定の細胞への分化誘導や、細胞の多分化能を調べる一般的な方法です。

お問い合わせ先

本発表資料のお問い合わせ先

AGC 旭硝子 技術本部 先端技術研究所 熊谷特別研究室
熊谷 博道 (くまがい ひろみち) 特別研究員
〒221-8755 横浜市神奈川区羽沢町 1150
TEL : 045-374-7824 FAX : 045-374-8872
E-mail : hiromichi-kumagai@agc.com

AGC 旭硝子 技術本部 先端技術研究所 熊谷特別研究室
イディリス アリムジャン 主幹研究員
〒221-8755 横浜市神奈川区羽沢町 1150
TEL : 045-374-7107 FAX : 045-374-8872
E-mail : alimujiang-yidiresi@agc.com

広報に関するお問い合わせ

AGC 旭硝子 経営企画部 広報・IR 室長 : 小林 純一
(担当 : 烏山 TEL: 03-3218-5603 E-mail: info-pr@agc.com)
〒100-8405 東京都千代田区丸の内一丁目 5 番 1 号

AMED 事業に関するお問い合わせ先
国立研究開発法人日本医療研究開発機構
戦略推進部 再生医療研究課
TEL : 03-6870-2220
E-mail : saisei"AT"amed.go.jp

※E-mail は上記アドレス"AT"の部分を@に変えてください。