

報道関係各位

2020 年 12 月 9 日

国立大学法人 東京医科歯科大学

「超分子表面の分子可動性と表面電荷による幹細胞分化制御の新たな可能性」 — 異種細胞からなる複合組織の再生にむけた挑戦 —

【ポイント】

- メチル基、水酸基、アミノ基、硫酸基を修飾した分子可動性ポリロタキサン^{※1}を被膜した細胞培養表面を作製し、再生医療における細胞源として期待されている間葉系幹細胞^{※2}の分化制御に及ぼす効果について明らかにしました。
- 間葉系幹細胞の脂肪分化はポリロタキサン表面の分子可動性に依存する一方で、その骨芽分化は表面の負電荷に依存することがわかりました。
- 硫酸基を修飾したポリロタキサン表面は、骨芽細胞・脂肪細胞への両方の分化を促進しました。
- 本研究で開発した硫酸基修飾ポリロタキサン表面は、性質の異なる複数種の細胞・組織からなる複合組織を修復・再生させるための足場としての応用が期待されます。

東京医科歯科大学生体材料工学研究所有機生体材料学分野の由井伸彦教授、医歯学総合研究科歯周病学分野の岩田隆紀教授、顎顔面外科学分野の依田哲也教授らの研究グループは、間葉系幹細胞の骨芽細胞および脂肪細胞系統への両方の分化誘導に有用な細胞接着表面を設計しました。これまでに、多数の環状糖分子(珠)の空洞部に直鎖状の高分子鎖(中通し紐)が貫通した数珠のような構造をもった超分子であるポリロタキサンを活用した細胞接着材料を開発しており、この環状分子の動きやすさ(分子可動性)を調節することによって間葉系幹細胞の分化系統を調節できることを世界ではじめて明らかにしています。本研究では、種々の官能基を修飾したポリロタキサン表面を作製し間葉系幹細胞の分化誘導を行ったところ、硫酸基を修飾した分子可動性の高いポリロタキサン表面は脂肪細胞と骨芽細胞の両方の分化促進に有用であることが明らかになりました。このような材料は、性質・機能の異なる細胞種・組織からなる複合組織の修復・再生を助ける足場として期待できます。この研究は文部科学省科学研究費補助金の支援のもとに行われたもので、その研究成果は国際科学誌 *Biomaterials Science* (バイオマテリアルズ サイエンス) に 2020 年 12 月 8 日にオンライン版で発表されました。また本論文は、エディターによって *HOT Biomaterials Science Article* に選定されています。

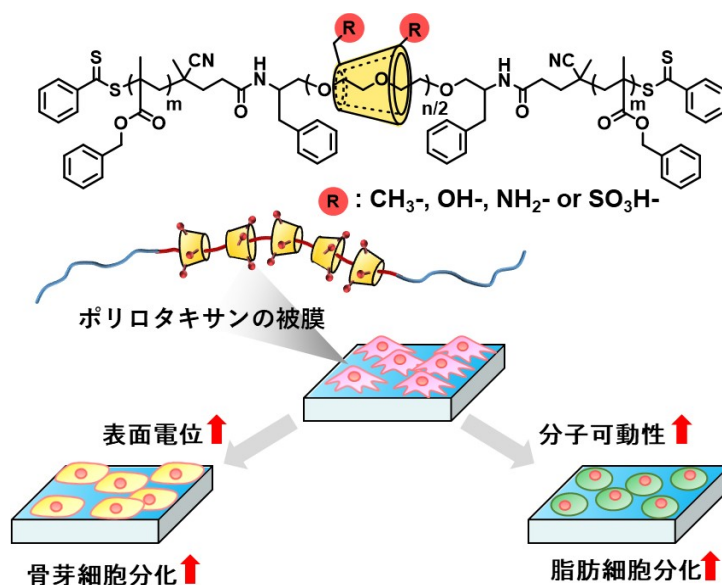
【研究の背景】

細胞の接着するプラスチックやガラス製の培養基材の物性は、間葉系幹細胞の分化系統に影響を与えることが知られています。例えば、硬い基材は硬組織となる骨芽細胞への分化に有利であり、軟らかい基材は軟組織となる脂肪細胞への分化に有利です。そのほかにも神経細胞や筋細胞、軟骨細胞などへの分化においても材料の物性は重要な役割を担います。これらは、細胞が周囲の環境をどのように認識し、どのように応答するのかを分子生物学的に解明する上で重要なツールとなるだけでなく、組織工学に応用することによって再生医療における組織修復足場の構築につながる基盤技術となることが期待されています。一方で本研究グループは、超分子ポリロタキサンを活用した細胞機能操作を世界に先駆けて実証してきました。ポリロタキサンは、直鎖状高分子（中通し紐）と環状分子（珠）とからなる数珠のような構造をした超分子集合体です。このポリロタキサンの特徴として、環状分子が直鎖状高分子鎖に沿って滑動したり回転したりする分子可動性が期待できます。これまでに本研究グループは、環状分子である α -シクロデキストリン^{※3}と直鎖状高分子であるポリエチレングリコール^{※4}との組み合わせによって形成したポリロタキサンを用いた分子可動性細胞接着基材を設計してきました。この分子可動性は間葉系幹細胞の分化系統に影響を与え、分子可動性の低い表面は骨芽細胞分化を促し、分子可動性の高い表面は脂肪細胞分化を促すことを明らかにしています（例えば、J.-H. Seo, S. Kakinoki, T. Yamaoka, N. Yui. *Adv. Healthcare Mater.* 4 (2), 215-222, 2015）。

【研究成果の概要】

本研究ではこのようなポリロタキサン表面を活用した細胞機能操作をさらに発展させるために、 α -シクロデキストリンに修飾する官能基がポリロタキサン表面における分子可動性と表面電位^{※5}に与える効果を解析し、間葉系幹細胞の分化に与える影響について評価しました（図 1）。具体的には、メチル基、水酸基、アミノ基、硫酸基を修飾したポリロタキサンを合成し、プラスチック製培養基材に被膜することによって各官能基を修飾したポリロタキサン表面を作製しました。間葉系幹細胞の脂肪細胞への分化は分子可動性の高い表面ほど促進される傾向があり、これまでの結果と一致しました（図 2A）。一方で、骨芽細胞への分化においては分子可動性に非依存적でしたが、表

面の負電荷の増大に伴って促進される傾向がありました（図 2B）。驚くべきことに、硫酸基を修飾した分子可動性の高いポリロタキサン表面は、骨芽細胞・脂肪細胞の両系統への分化を促進することが明らかになりました。



異なる細胞系統への分化を同一表面で促進

図 1. 表面電位と分子可動性の異なるポリロタキサン表面による幹細胞分化誘導

上記の【研究の背景】に記載したように、これまで骨芽細胞と脂肪細胞に適した材料は相反する性質（剛性の高低や分子可動性の大小など）を示すことが報告されています。しかしながら本研究で設計したポリロタキサン表面では、その分子可動性と表面電位が間葉系幹細胞の分化に与える効果が相殺されないため、全く性質の異なる細胞系統への分化であっても同一の表面で促進できる可能性があります。

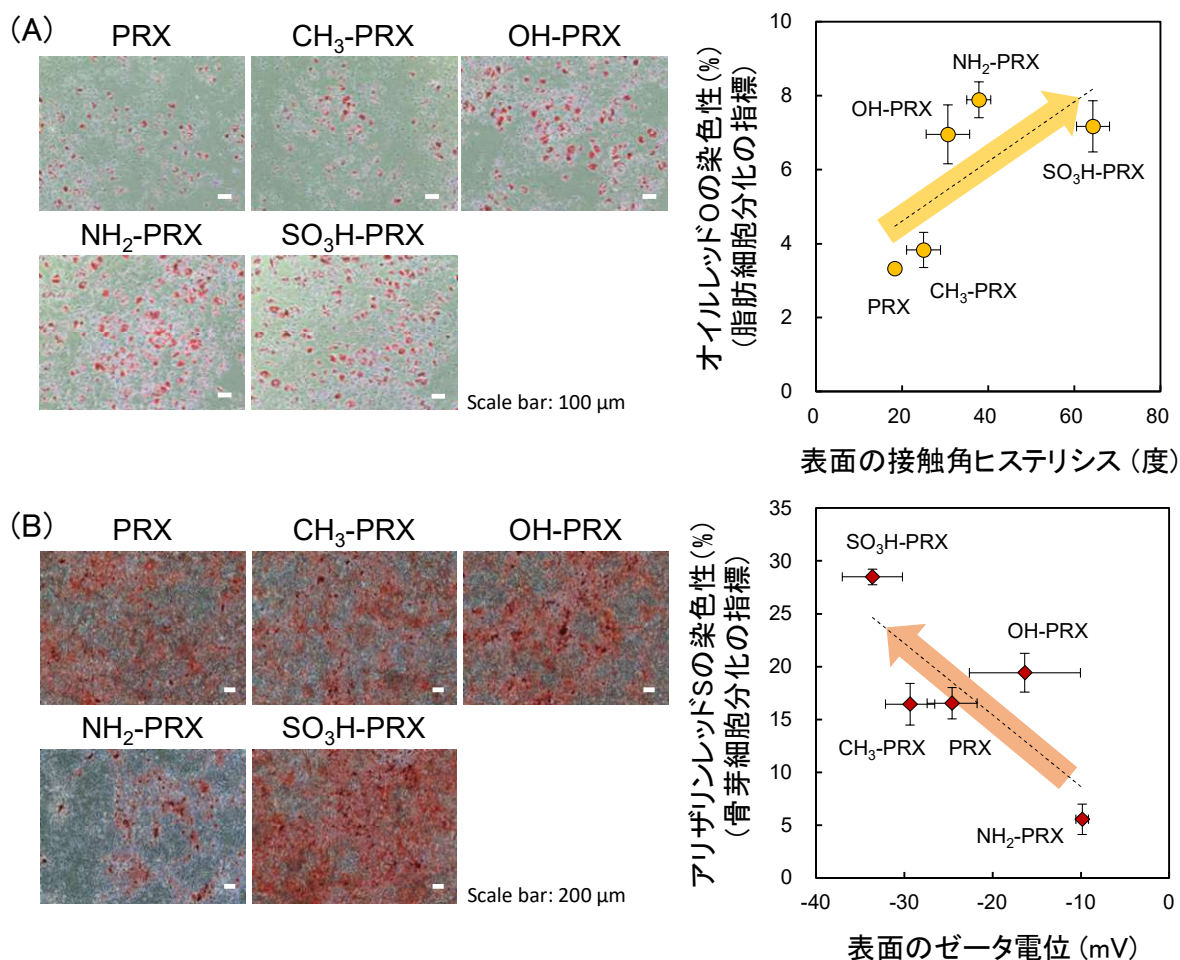


図 2. 各ポリロタキサン表面上で脂肪分化誘導した間葉系幹細胞をオイルレッド O 染色した画像 ((A)左図)とその染色面積率に対するポリロタキサン表面の接触角ヒステリシス^{※6}の関係((A)右図)。骨芽細胞分化誘導した間葉系幹細胞をアリザリレッド S 染色した画像((B)左図)とその染色面積率に対するポリロタキサン表面のゼータ電位の関係((B)右図)。分子可動性の指標となる接触角ヒステリシスの増大にともなって脂肪細胞分化が促進される傾向がありました。また表面が負に帯電した表面ほど骨芽細胞分化が促進されました。

(PRX:未修飾ポリロタキサン、CH₃-PRX:メチル基修飾ポリロタキサン、OH-PRX:水酸基修飾ポリロタキサン、NH₂-PRX:アミノ基修飾ポリロタキサン、SO₃H-PRX:硫酸基修飾ポリロタキサン)

【研究成果の意義】

これまでの研究では、骨芽細胞分化には硬い基材、脂肪細胞分化には軟らかい基材が有用であることが多数報告されています。しかしながら、生体内を鑑みると単一の細胞種で構成された組織だけではなく、例えば歯周組織のように硬組織(歯、歯槽骨など)と軟組織(歯肉、歯根膜など)などからなる複合組織も存在します。そのような複合組織の再生を促すための生体組織接着足場を設計する場合、例えば材料全体の硬さをコントロールするだけでは対処できない可能性があります。今回、ポリロタキサンの分子可動性と表面電位を調節することによって、骨芽細胞と脂肪細胞への両方の分化を促進する細胞接着基材を開発することに成功しました。このような材料は、硬組織や軟組織を含む複合組織を再生・修復する足場として高く期待できます。

【用語解説】

※¹ポリロタキサン

直鎖状の軸高分子鎖が多数の環状分子の空洞部を貫通し、その軸の両末端に嵩高い分子を結合することで軸上に環状分子が束縛された分子集合体です。従来高分子は共有結合によって分子同士が連結した構造を有していますが、ポリロタキサンを構成する環状分子と軸高分子鎖は機械的に連結しているため、環状分子は軸高分子鎖に沿って可動する特徴があります。このような機械的に連結した分子の設計は 2016 年ノーベル化学賞に選ばれ、その可動性を活かした分子マシンの開発や材料の強靱化が期待されています。なおポリロタキサンを用いたバイオマテリアル設計は、本研究グループが世界で最初に実施してきた研究実績があります。

※²間葉系幹細胞

中胚葉性組織(間葉)に由来する体性幹細胞です。間葉系に属する細胞への分化能をもつため、骨や血管、心筋などの再生医療への応用が期待されています。

※³ α -シクロデキストリン

6 分子の D-グルコースが、 α -1,4 グリコシド結合によって結合し環状構造をとった環状オリゴ糖です。食品添加物として使用されています。

※⁴ポリエチレングリコール

-(CH₂-CH₂-O)-を繰り返し単位とした合成高分子です。界面活性剤、潤滑剤、医薬製剤、化粧品などに利用されています。

※⁵表面電位

固体表面は官能基の種類によって正や負に帯電しており、その程度を示す指標のひとつです。

※⁶接触角ヒステリシス

接触角とは固体表面の濡れやすさを評価する指標のひとつで、この測定によって表面の親水性や疎水性が判断できます。大気中で固体表面上の水滴の接触角(θ_{water})と水中で表面下の気泡の接触角(θ_{air})の差が接触角ヒステリシスで、環境変化に応じて表面特性が変化しやすいかどうかの尺度となります。これまでの研究により、分子運動性が高い表面では接触角ヒステリシスの値が大きい傾向にあることを明らかにしています。

【論文情報】

掲載誌: Biomaterials Science

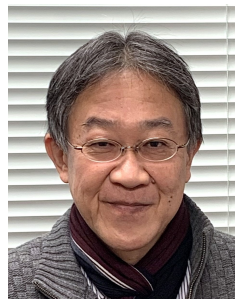
論文タイトル: Dual effect of molecular mobility and functional groups of polyrotaxane surfaces on the fate of mesenchymal stem cells

【研究者プロフィール】

由井 伸彦(ユイ ノブヒコ) Yui Nobuhiko
東京医科歯科大学 生体材料工学研究所
有機生体材料学分野 教授

・研究領域

有機生体材料学



有坂 慶紀(アリサカ ヨシノリ) Arisaka Yoshinori
東京医科歯科大学 生体材料工学研究所
有機生体材料学分野 助教

・研究領域

高分子化学、生体材料科学、表面化学



【問い合わせ先】

＜研究に関すること＞

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所
有機生体材料学分野 由井 伸彦 (ユイ ノブヒコ)
有坂 慶紀 (アリサカ ヨシノリ)

TEL: 03-5280-8020 FAX: 03-5280-8027

E-mail: yui.org@tmd.ac.jp

＜報道に関すること＞

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係
〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45
TEL: 03-5803-5833 FAX: 03-5803-0272
E-mail: kouhou.adm@tmd.ac.jp