

報道関係各位

2021年5月26日

国立大学法人 東京医科歯科大学

## 「効果的な共培養環境を提供する新たなバイオマテリアル設計」 —骨組織および血管組織の同時再生にむけた挑戦—

### 【ポイント】

- 分子可動性の異なる超分子ポリロタキサンを被膜した細胞培養表面を作製し、間葉系幹細胞内における転写共役因子の局在制御に成功しました。
- ポリロタキサン表面の分子可動性調節と血管内皮細胞との共培養は、間葉系幹細胞の骨芽分化を相乗的に亢進することが明らかになりました。
- 研究グループが作製したポリロタキサン表面は、骨および血管組織を同時に修復・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・有坂慶紀助教と、東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科顎顔面外科学分野の依田哲也教授・益田洋輝日本学術振興会特別研究員（DC2）、東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯周病学分野の岩田隆紀教授・秤屋雅弘大学院生らの研究グループは、間葉系幹細胞と血管内皮細胞の共培養系において、その骨芽分化の促進に有用な細胞接着表面を設計しました。これまでに直鎖状の高分子鎖が多数の環状分子の空洞部に貫通した超分子ポリロタキサン<sup>※1</sup>を用いて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<sup>※2</sup>の骨芽分化や血管内皮細胞<sup>※3</sup>のネットワーク形成を促進できることを明らかにしてきました。研究グループは、このポリロタキサン表面の分子可動性の調節によって間葉系幹細胞の転写共役因子を活性化させ、これに血管内皮細胞との共培養による成長因子や細胞接着分子を介した細胞間コミュニケーションが加わることで、間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化が相乗的に促進されることを明らかにしました。このような材料表面は、骨組織のみならず脈管系組織の修復・再生を促す足場として再生医療への応用が期待できます。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 RSC Advances（アールエスシー アドバンス）に2021年5月24日、オンライン版で発表されました。

## 【研究の背景】

これまで事故や病気によって広範囲に欠損した骨組織を修復するために、自家骨、骨補填材、成長因子などを用いた骨再建・修復が行われてきました。近年では、骨芽細胞に分化する体性幹細胞である間葉系幹細胞を活用した組織修復にも期待が寄せられています。特に間葉系幹細胞を骨芽細胞に分化誘導する際には血管内皮細胞との共培養<sup>※4</sup>が非常に効果的であり、間葉系幹細胞と血管内皮細胞との間で様々な成長因子がやり取りされることによって間葉系幹細胞の骨芽分化が促進されます。

また間葉系幹細胞は周囲の物理的な環境を認識するため、培養系においては細胞接着器材の特性がそ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、硬い器材は骨芽細胞への分化を有利にし、軟らかい器材は脂肪細胞への分化を有利にします。このような材料特性を利用した細胞機能の操作は、生体組織を再生させるための基盤技術として注目を集めています。一方で研究グループは、超分子ポリロタキサンの動的な構造特性を活用した細胞機能操作に取り組んできました。ポリロタキサンは、直鎖状高分子が環状分子の空洞部を貫通した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運動する分子可動性が期待できます。これまでに研究グループは、 $\alpha$ -シクロデキストリン<sup>※5</sup>とポリエチレングリコール<sup>※6</sup>からなるポリロタキサンを被膜した細胞接着器材を設計し、表面の分子可動性調節によって間葉系幹細胞の骨芽分化や血管内皮細胞のネットワーク化が促進されることを見いだしています。しかしながらそのような分子可動性をもったポリロタキサン表面が共培養系における細胞-細胞間コミュニケーションや骨芽分化にどのような影響を与えるのかについて、ほとんど明らかにされていませんでした。

## 【研究成果の概要】

研究グループは、間葉系幹細胞と血管内皮細胞との共培養系においてポリロタキサン表面の分子可動性が骨芽分化に与える影響について解析しました。分子可動性の低いポリロタキサン表面は、この共培養系において骨芽分化を非常に短期間で誘導しはじめ、早期骨芽分化マーカーであるアルカリフォスファターゼ<sup>※7</sup>をわずか3日で高発現させました。さらにこの分子可動性の低い表面は骨芽分化の進行にともなう細胞の石灰化を促し、分子可動性の高いポリロタキサン表面よりも2倍以上高いアリザリンレッドS<sup>※8</sup>の染色性が認められました。このような迅速かつ強力で骨芽分化を誘導したメカニズムとして、転写共役因子であるyes-associated protein (YAP)<sup>※9</sup>の細胞内局在と細胞間コミュニケーションに関連するタンパク質の発現が関与していることが明らかになりました。YAPの細胞核内局在は間葉系幹細胞の骨芽分化を促進することが知られており、分子可動性の低いポリロタキサン表面はこの細胞核へのYAPの移行を促す傾向がありました。また共培養系において、間葉系幹細胞から産生された血管内皮細胞成長因子(VEGF)と血管内皮細胞から産生された骨形成因子(BMP-2)による細胞-細胞間コミュニケーションによって、骨芽分化がさらに亢進されました。すなわち、ポリロタキサン表面の分子可動性調節によってYAP活性が亢進し、血管内皮細胞との成長因子を介した細胞間コミュニケーションが加わることで、間葉系幹細胞の骨芽分化が相乗的に促進されることがわかりました。このような低い分子可動性表面は、間葉系幹細胞と血管内皮細胞との共培養による骨芽分化をさらに

効果的にする足場として期待されます。

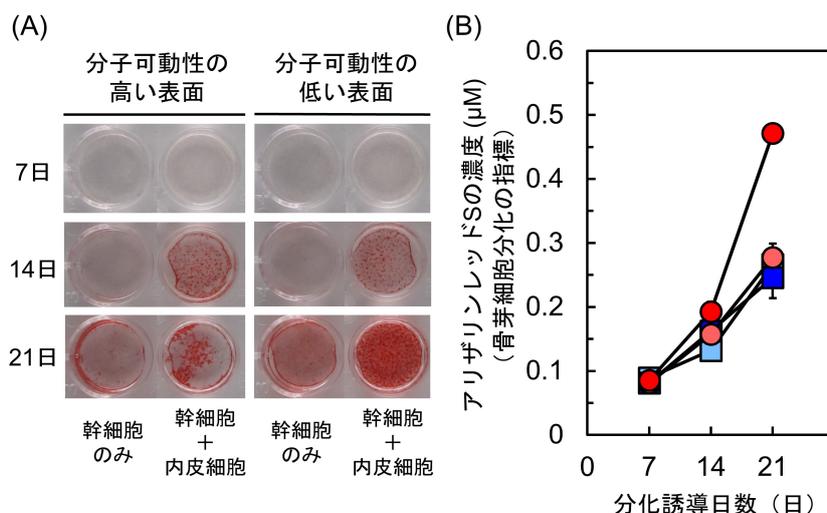


図 1. (A) 分子可動性の異なるポリロタキサン表面での単培養系（間葉系幹細胞のみ）、共培養（間葉系幹細胞と血管内皮細胞）系のアリザリンレッド S 染色した各ウェルの写真 (B) アリザリンレッド S の濃度推移（分子可動性の高い表面における単培養（■）と共培養（■）ならびに分子可動性の低い表面における単培養（●）と共培養（●））

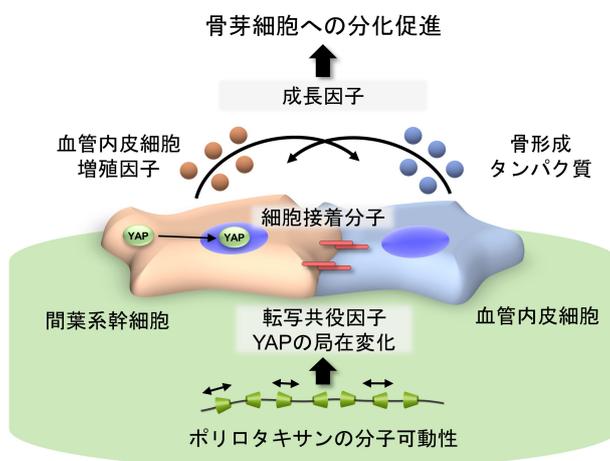


図 2. ポリロタキサン表面における転写共役因子 YAP の局在変化と成長因子、細胞接着分子を介した細胞間コミュニケーションによる間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化促進

### 【研究成果の意義】

現存する骨再生療法としては自家骨移植、骨補填剤などが挙げられますが、自家骨移植は骨欠損部以外への侵襲が大きい、骨補填剤では血管組織の形成が不十分であるといった課題があります。生体内において骨組織は血管組織から栄養を供給されており、骨組織再生のためには骨および血管組織を同時に再生する必要があります。今回、ポリロタキサンの分子可動性を調節することで、間葉系幹細胞と血管内皮細胞の共培養系における骨芽細胞への分化を促進する細胞接着器材を作製することに成功しました。このような複数の細胞機能を向上させる材料は、骨組織や血管組織を再生・修復する足場として大

いに期待されます。

### 【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。従来の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、環状分子には軸高分子鎖に沿って稼働できる特徴があります。このような機械的に連結した分子の設計は 2016 年にノーベル化学賞に選ばれ、分子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については、研究グループが世界に先駆けて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持つため、骨や血管などへの再生医療への応用が期待されています。

#### ※3 血管内皮細胞

血管の最内層に存在する内皮細胞です。生体内では骨芽細胞や間葉系幹細胞とやり取りをすることで、血管組織だけでなく骨組織の代謝にも関与しているとされています。

#### ※4 共培養

2 種、あるいはそれ以上の種類の異なる細胞や組織を一つの培養容器の中で培養することです。

#### ※5 $\alpha$ -シクロデキストリン

6 分子の D-グルコースが、 $\alpha$ -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。

#### ※6 ポリエチレングリコール

$-(CH_2-CH_2-O)-$ 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。

#### ※7 アルカリフォスファターゼ

細胞膜に存在する糖タンパク質であり、初期の骨芽分化マーカーとして知られています。

#### ※8 アリザリンレッド S

骨芽細胞の分化の進行にともなってカルシウムが沈着した骨結節を形成します。アリザリンレッド S は、このカルシウムに結合することが知られており、この作用を使ってカルシウム沈着を染色することによって石灰化の程度を定量することができます。

#### ※9 yes-associated protein (YAP)

YAP はさまざまな遺伝子発現の誘導を介して細胞増殖や細胞死の調節に関与しています。近年では、細胞が接触する細胞外基質や隣接する細胞との接着によって 細胞内のシグナル伝達を制御していることが明らかになりつつあります。

## 【論文情報】

掲載誌：RSC Advances

論文タイトル：Synergy of molecularly mobile polyrotaxane surfaces with endothelial cell co-culture for mesenchymal stem cell mineralization

## 【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



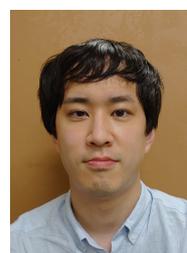
益田 洋輝(マスダ ヒロキ) Masuda Hiroki

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科顎顔面外科学分野

日本学術振興会特別研究員(DC2)

・研究領域

顎顔面外科学



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