

研究紹介

「計算と実験を融合させた細胞培養プロセス設計」

秋田大学大学院理工学研究科

准教授 堀口 一樹



はじめに

2025年6月より秋田大学に着任してまいりました。今後ともどうぞよろしくお願いいたします。本稿では自己紹介を兼ねて、これまでの筆者の研究歴を紹介したいと思います。それを踏まえて、秋田大学でこれから目指すことをお伝えできれば幸いです。

均一な iPS 細胞スフェロイドを簡易かつ安定に生産できる浮遊培養技術の開発

筆者は、これまで再生医療や創薬において重要な役割を果たすヒト・動物細胞の大量培養に関する研究に取り組んできました。細胞を大量に培養するプロセスは、バイオ医薬品の製造、人工多能性幹細胞（iPS 細胞）や間葉系間質細胞を用いた再生医療等製品、さらには将来の食糧不足にそなえた培養肉の生産など、様々な分野で不可欠な技術です。しかしこのような製品の材料となるヒト・動物細胞は微生物に比べて非常に繊細であり、工業スケールの培養プロセス設計には課題が多く残されています。

中でも筆者は iPS 細胞の浮遊培養の設計を一番の研究対象にしてきました。iPS 細胞はあらゆる体細胞に分化できる能力（多分化能）と無限増殖能から、再生医療や創薬スクリーニングなどへの応用が期待されているが、その実現にはスケールアップが必要です。例

えば、2020年に大阪大学で一例目の移植が行われた iPS 細胞由来心筋シートでは、合計約 3 億個の iPS 由来心筋細胞が使われました¹。これは一般的な 100 mm シャーレ約 100 枚分に相当し、一般的な接着培養で得るには非常に難しい数になります。そこで、細胞を接着させず浮遊させた状態で培養することで簡

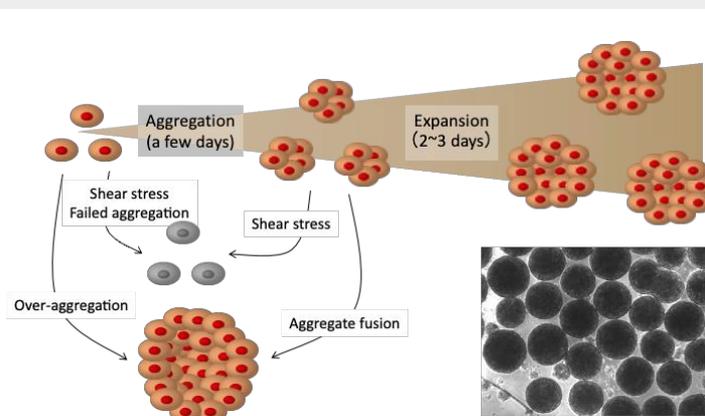


図1 iPS細胞スフェロイドの形成・増殖過程

便にスケールアップして培養する方法（浮遊培養）が提案されています。

浮遊培養では、iPS 細胞は単一細胞で増殖することではなく、通常細胞が寄り集まって塊（スフェロイド）を形成して増殖していきますが、この形成が不均一であったり、十分でなかったりすると、高い増殖効率や分化効率を得ることが難しくなります（図 1）。そのため、均一な iPS 細胞スフェロイドを簡易かつ安定に生産できる浮遊培養技術の開発は、iPS 細胞を用いた産業の発展・社会実装には欠かせないものです。つまり、剪断応力を抑制できる緩やかな流れの中で、細胞が局在しないように分散させることができる培養系の構築が求められています。その背景のもと、さまざまなアプローチでそのような浮遊培養技術を開発してきました。浮遊培養は装置・培養液・細胞で構成されており、それぞれに多様な設計変数が含まれています。筆者は特に装置・培養液の観点から培養技術を開発してきました²。

簡便な攪拌方法で均一分散を可能にする閉鎖型培養容器の設計

浮遊培養において、一番簡便で広く用いられている手法が振盪培養です。特に動物細胞などの培養では、円運動を行う旋回振盪培養が広く行われています。しかし、このような振盪培養では、細胞は容器底面中心部に向かう流れに乗って局在してしまいます。これは古くから知られている現象で、アインシュタインの茶葉パラドクス³と呼ばれています。この現象を回避するため、筆者は中心部を意図的に排除した浮き輪型の培養バッグを設計し、培養を試みてきました（図 2）。iPS 細胞の浮遊懸濁培養では、通常の容器よりも均一なスフェロイドの形成を行うことができ、間葉系間質細胞を用いた培養では、350 mL までスケールアップを行い、1000 万個まで細胞の培養を実現してきました。また、想定していない効果として、浮き輪型にすることでバッグの形状が安定し、取り扱いが非常に容易になることもわかりました。

培養バッグの設計にあたっては、株式会社フコクさまの多大なご協力をいただき、特許の取得ならびに SphereRing という名称で上市も達成いたしました。ご興味がある方がおられましたらご連絡いただけますと幸いです。

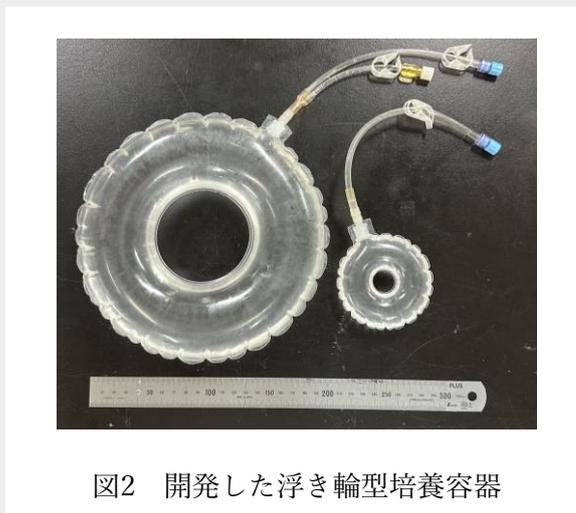


図2 開発した浮き輪型培養容器

非ニュートン流体を用いた浮遊状態の維持と剪断応力への保護

容器の設計に並行して、培養液の観点からも浮遊培養の設計を検討してきました。ここでは非ニュートン流体、特に降伏応力以上の力が加わるまで流動しないビンガム流体（塑

性流体)に着目し、細胞にかかる重力では流動が発生しない(=沈降しない)降伏応力を培養液に付与することで、細胞の浮遊状態を維持しながら培養する手法を設計しました。これにより、細胞が攪拌によって均一に分散し、均一なスフェロイド形成が見られました⁵。

興味深いことに、従来の培養液では攪拌による剪断応力によって増殖が抑制されていた細胞が、ビンガム流体で培養することによって増殖が改善されることを発見しました。これにより、培養液の粘性を制御するだけで、浮遊培養の安定性を高めることができる可能性が示されました。

細胞培養 DX を目指した BioCAE 技術の開発

ここまで紹介したような個別技術の開発をしていくうちに、「これを細胞ごとに設計していくのは非効率ではないか」と思うようになり、「細胞培養の設計に活用できる普遍的な理論を作ることができないか」と考えるようになりました。そこで、筆者が目をつけたのが Computer Aided Engineering (CAE) の活用です。特に、Computational Flow Dynamics (CFD) は計算によって支配方程式を解くことによって培養液中の細胞の動きや細胞が受ける剪断応力などを計算することが可能になり、実験系では測定が困難だった指標の構築も可能になりました。

しかし培養液中の細胞表面の力を CFD で計算することは技術的に困難です。CFD の計算精度は計算空間の解像度に依存しますが、高解像度にすればするほど、計算時間がかかってしまい、培養液中の細胞表面流れを計算できる解像度で計算するには富岳レベルの計算機が必要になってしまいます。この問題を解決するため、機械学習を用いた CFD の高解像度化を行い、細胞表面の剪断応力分布を計算することが可能になりました⁶。さらに、推定された剪断応力分布は、近似的に計算していた剪断応力よりもかなり小さいことが示されました(図3)。

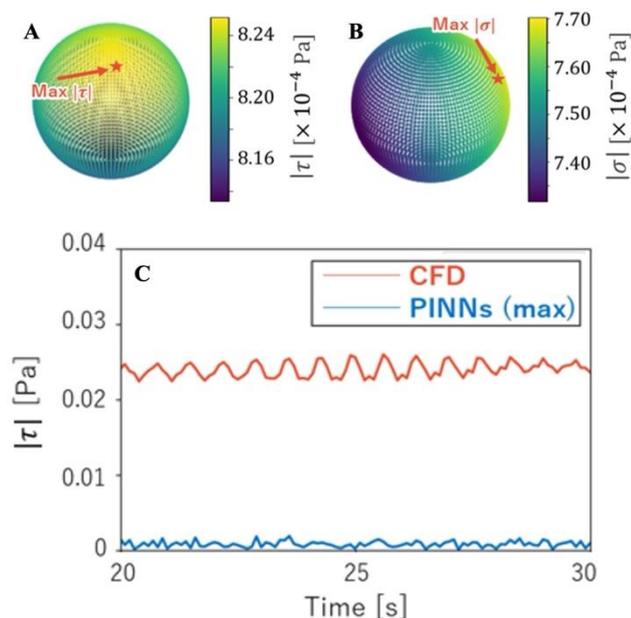


図3 CFDと機械学習(PINNs)による細胞表面の剪断応力・垂直抗力分布と剪断応力の経時変化の比較

計算は、実験では測定できない細胞自身およびその周辺の物理学的情報を取り出すことが可能であり、これを設計変数に用いることで細胞培養の設計に寄与し、将来的には細胞培養のデジタルトランスフォーメーション（DX）を可能にするのではと期待しています。

おわりに ～バイオプロセス工学研究室の主宰として～

バイオプロセス工学研究室の主宰として、「実験と計算の融合」をキーワードにした研究を進めていきたいと思ひます。これまで紹介してきましたように、バイオプロセスの設計理論を構築するためにこのキーワードは外せないと考えています（図 4）。そして、その実現には生物学だけではなく化学工学、計算科学、流体力学など幅広い知識も必要ですし、社会実装を考えるためには大学の研究者だけではなく企業さまの協力も必須です。

2024 年 12 月には BioCAE 研究会を立ち上げ、幅広い分野の研究者と研究交流をする土台を作ってきました。秋田大学では、これまで筆者が作り上げてきた研究コミュニティのなかで研究を促進しつつ、「実験と計算がどっちもわかって、どっちかはやせる人」を育て上げ、産官学で幅広く活躍できる人を秋田から送り出せればと思ひています。これからもどうぞよろしくお願ひします。

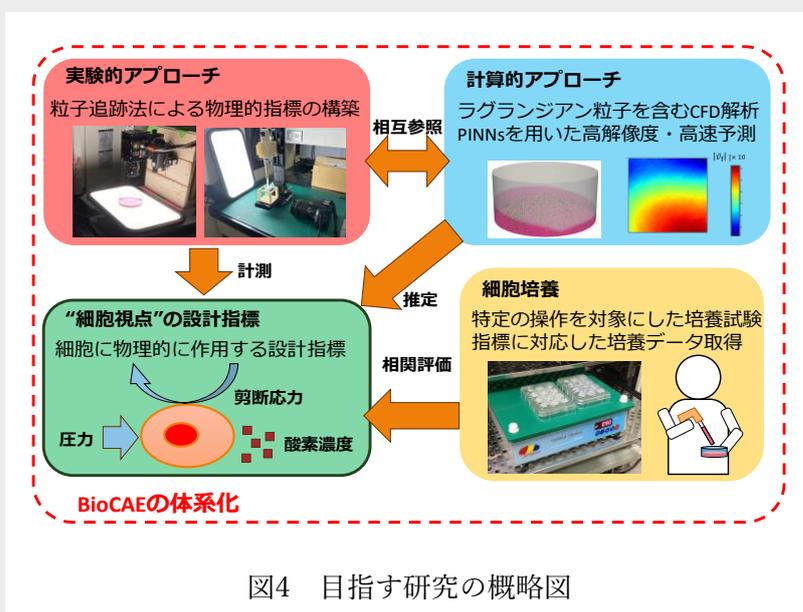


図4 目指す研究の概略図

参考文献

1. 大阪大学大学院医学研究科 News & Topix 2018 年 5 月 16 日発表。
<https://www.med.osaka-u.ac.jp/archives/12498>
2. 堀口一樹, 生物工学会誌 101 卷 9 号 (2023) 480-483.
3. Einstein, A., *Die Naturwissenschaften*. 14 (1926).
4. Fuad Gandhi Torizal, et. al., *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, 16(2022), 254-266.
5. Ikki Horiguchi, et. al., *Biotechnol Prog*, 37(2021), e3100.
6. Ikki Horiguchi, et. al., *AIChE J.*, 71(2025), e18853.