

細胞は生体組織の構成成分であり、組織を作り、成長させる。つまり、細胞は組織再生を実現する重要な素材として認識されている。細胞生物学、分子生物学の進展にともない、細胞機能の理解が進んだ結果、細胞そのものの成長を制御し、*in vitro*にて生体組織を作る可能性が高まっている。この *in vitro*での生体組織作製にあたり、バイオマテリアル(生体材料)は三次元細胞構造体の作製、および作製した三次元細胞構造体の成長制御という2つの目的で使用される。三次元細胞構造体の作製に関して、従来から液滴法と呼ばれる細胞スフェロイドを作製する技術は知られていたが、温度応答性ポリマーを用いた細胞シート作製技術が報告されたことを皮切りに細胞親和性の高い材料を用いた三次元細胞構造体の作製が広まった^{1,2)}。現在では細胞シートの積層化により三次元化する方法に加え、細胞接着を抑制した基板を使った細胞スフェロイドの大量製作³⁾、温度応答性ゲルを用いた任意形状三次元細胞構造体の作製など様々な方法が利用されている⁴⁾。また、コラーゲンやアルジネートなどの高分子材料を結合剤として吐出した細胞を積層化させるバイオプリンターも開発され⁵⁾、三次元細胞構造体の作製、利用が進められている^{6,7)}。

一方、生体組織の作製において、三次元細胞構造体の成長制御が必要であり、ここにおいて外的刺激の利用は有効である。外的刺激は細胞周囲の外部環境に依存しており、大きく化学的刺激と物理的刺激との2つに分けることができる。化学的刺激に関しては20世紀後半における分子生物学の進展にともない、多くの増殖因子、サイトカインの候補が明らかとなり、その利用が進められている。物理的刺激に関しては、1990年代後半からのメカノトランスダクション研究進展にともない、伸展刺激や圧刺激を負荷する方法が多く用いられている^{8,9)}。この刺激負荷においてはシリコーン印象材の主成分でもある弾性のポリジメチルシロキサン(PDMS)が広く使用される^{10,11)}。また、2000年代中頃から細胞周囲の堅さ(英語ではstiffnessと記載され、硬さ(hardness)とは異なる)が細胞分化制御に重要であることが報告され^{12,13)}、堅さ制御が可能なバイオマテリアルを利用した組織成長制御が新たな取り組みとして進められている。この実現においてはコラーゲン、アガロース、アルジネート、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリアクリルアミドなどが主として使用されている^{14,15)}。

現況、*in vitro*での生体構築組織は比較的小さな細胞構造体でのみ成功しており、十分な機能を発現するヒトの組織を構築するまでには依然、時間がかかると予想される。しかし、近年、歯科領域以外でも食肉の人工合成などに巨額の研究費が投入され、生体組織の*in vitro*構築に向けた取り組みは競争を増している。インプラント周囲組織の*in vitro*構築についても、今後の加速度的な発展が期待できる。

- 1) Kushida A, Yamato M, Konno C, Kikuchi A, Sakurai Y, Okano T. Decrease in culture temperature releases monolayer endothelial cell sheets together with deposited fibronectin matrix from temperature-responsive culture surfaces. *J Biomed Mater Res*. 1999 Jun 15;45(4):355-62.
- 2) Hasegawa M, Yamato M, Kikuchi A, Okano T, Ishikawa I. Human periodontal ligament cell sheets can regenerate periodontal ligament tissue in an athymic rat model. *Tissue Eng*. 2005 Mar-Apr;11(3-4):469-78.
- 3) Iwasaki A, Matsumoto T, Tazaki G, Tsuruta H, Egusa H, Miyajima H, Sohmura T. Mass fabrication of small cell spheroids by using micro-patterned tissue culture dish. *Adv Eng Mater (Adv Biomater)*. 2009 11: 801-804.
- 4) Sasaki J, Asoh T, Matsumoto T, Egusa H, Sohmura T, Alsberg E, Akashi M, Yatani H. Fabrication of 3D cell constructs using temperature-responsive hydrogel. *Tissue Eng Part A*. 2010 16: 2497-2504.
- 5) Anada T, Pan CC, Stahl AM, Mori S, Fukuda J, Suzuki O, Yang Y. Vascularized Bone-Mimetic Hydrogel Constructs by 3D Bioprinting to Promote Osteogenesis and Angiogenesis. *Int J Mol Sci*. 2019 Mar 4;20(5):1096.
- 6) Sasaki J, Matsumoto T, Nishiguchi M, Matsusaki M, Egusa H, Nakano T, Akashi M, Imazato S, Yatani H. In vitro reproduction of endochondral ossification using 3D cell constructs. *Integr Biol*, 2012 4: 1207-1214.
- 7) Hara ES, Ono M, Hai PT, Sonoyama W, Kubota S, Takigawa M, Matsumoto T, Young MF, Olsen BR, Kuboki T. Fluocinolone acetonide is a potent synergistic factor of TGF- β 3-associated chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for articular surface regeneration. *J Bone Miner Res*. 2015 30: 178-184.
- 8) Matsumoto T, Yung YC, Fischbach C, Kong HJ, Nakaoka R, Mooney DJ. Mechanical strain regulates endothelial cell patterning in vitro. *Tissue Eng*. 2007 13: 207-217.
- 9) Egusa H, Kobayashi M, Matsumoto T, Sasaki JI, Uraguchi S, Yatani H. Application of cyclic strain for accelerated skeletal myogenic differentiation of mouse bone marrow-derived mesenchymal stromal cells with cell alignment. *Tissue Eng A*. 2013 19: 770-782.
- 10) Kamioka H, Kameo Y, Imai Y, Bakker AD, Bacabac RG, Yamada N, Takaoka A, Yamashiro T, Adachi T, Klein-Nulend J. Microscale fluid flow analysis in a human osteocyte canaliculus using a realistic high-resolution image-based three-dimensional model. *Integr Biol (Camb)*. 2012 Oct;4(10):1198-206.
- 11) Kaku M, Yamauchi M. Mechano-regulation of collagen biosynthesis in periodontal ligament. *J Prosthodont Res*. 2014; 58 :193-207.
- 12) Kong HJ, Polte TR, Alsberg E, Mooney DJ. FRET measurements of cell-traction forces and nano-scale clustering of adhesion ligands varied by substrate stiffness. *Proc Natl Acad Sci*

U S A. 2005; 102 :4300-4305.

13) Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*. 2006; 126 :677-689.

14) Miyajima H, Matsumoto T, Sakai T, Yamaguchi S, An SH, Abe M, Wakisaka S, Lee KY, Egusa H, Imazato S. Hydrogel-based biomimetic environment for in vitro modulation of branching morphogenesis. *Biomaterials*. 2011 32: 6754-6763.

15) Sathi GA, Kenmizaki K, Yamaguchi S, Nagatsuka H, Yoshida Y, Matsugaki A, Ishimoto T, Imazato S, Nakano T, Matsumoto T. Early initiation of endochondral ossification of mouse femur cultured in hydrogel with different mechanical stiffness. *Tissue Eng Part C Methods*. 2015 21: 567-575.