

■研究最前線

酸化チタンの研究・Titanium Oxide Research

# 細胞シートの作製 サンゴ礁の再生技術の開発

再生医療、地球環境など、多様な分野で可能性を追求

## Fabrication of Cell Sheets and Development of a Regeneration Technique for Coral Reefs

Pursuing potentials in multiple areas such as regenerative medicine and the global environment

●化学生命工学部 上田 正人 教授

• Faculty of Chemistry, Materials, and Bioengineering

— Professor Masato Ueda



日本でもここでしか測定できないと、鉄鋼メーカーなどからの委託も多い。環境材料研究室の電気抵抗率測定装置  
An ultra-precision measurement system of electrical resistivity in the Laboratory of Environmental Materials. Many measurement requests from steel manufacturers and others due to its unrivaled performance.

地球、社会、経済などすべての環境にやさしい材料を研究する環境材料研究室。上田正人・化学生命工学部教授はさまざまな領域での酸化チタン利用の研究を生かし、従来応用が想定されていなかった、細胞培養器の開発やサンゴ礁の再生という領域で酸化チタンの新しい可能性を見出す研究を進めている。

**Earth, society, and economy— The Laboratory of Environmental Materials researches on environmentally friendly materials. Masato Ueda, a professor of the Faculty of Chemistry, Materials, and Bioengineering, has carried out researches on the applications of titanium oxide in various areas. With his experience, he is currently looking for the possible applications of titanium oxide in several areas, such as the development of cell culture vessels and the regeneration of coral reefs.**

### 紫外線に反応する化学的性質を応用

—酸化チタンの研究をされているとお聞きしています。どのような研究ですか？

酸化チタンは光触媒として除菌・脱臭などに利用されるほか、太陽電池の材料として注目されていますが、私は酸化チタンの性質を生かした「細胞培養器の開発」や「サンゴ礁の再生促進技術の開発」に取り組んでいます。

—まず、細胞培養器の開発について教えてください。

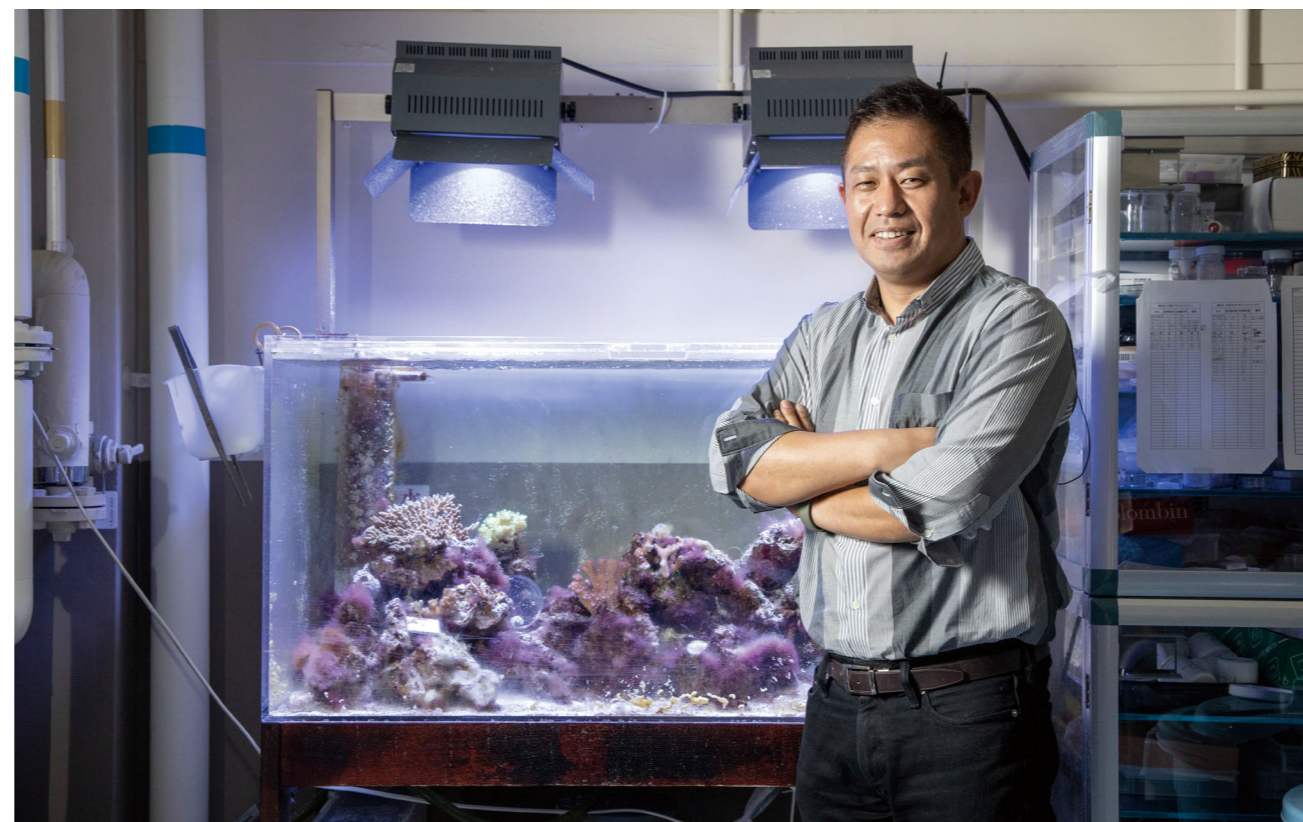
ヒトの細胞をシート状の薄い膜に培養し、それを患部に貼るとで臓器などの再生を図るという細胞シートを使った再生医療が

最近話題になっています。この医療を進めるためには、細胞シートを作製する技術と同時に培養した細胞をシートからうまく剥離させる技術の開発も重要です。高分子を塗った基盤の上に細胞をまき、シート状に培養し、冷やして剥がすという方法が現在の最先端だと思います。この技術の登場によって、温度を下げるだけで細胞と細胞の結合を壊さずに細胞シートを細胞培養器から剥がせるようになり、細胞シートを使った治療が臨床まで進みました。これに対して私は、酸化チタンが紫外線に反応する性質を利用して、新しい作製法を開発できるのではないかと研究を始めました。

細胞は生き物ですので、紫外線が当たるとダメージを負ったり、癌化したりします。でも、酸化チタンは紫外線を当てないと反応しない。そこで、細胞には紫外線が当たらないように、いろいろな構造のものを試作してみたのですが、結局、ガラスの上に酸化チタンの膜をつけただけのシンプルな構造の基盤に落ち着きました。

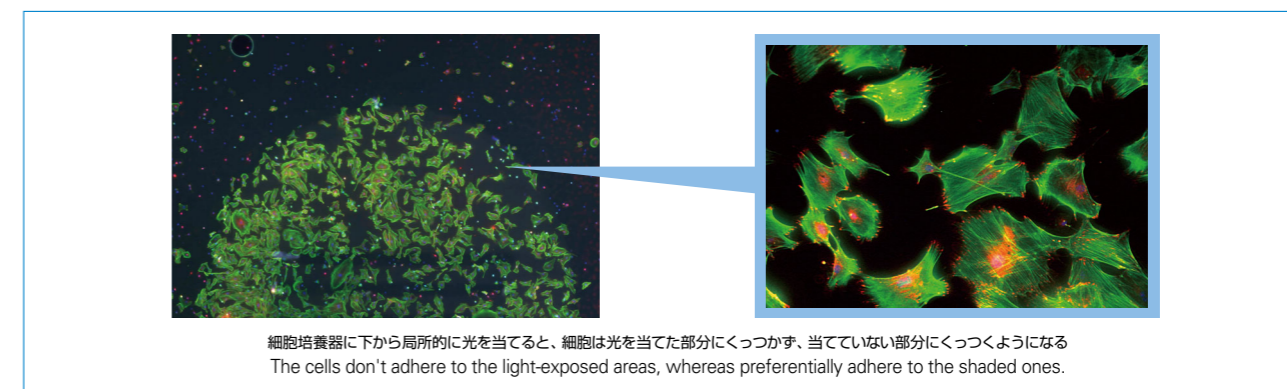
この基盤の上に細胞をまき、下から局所的に光を当てると、光を当てた部分は酸化チタンの膜が紫外線を吸収し、膜表面で起こる光応答のために細胞が基盤にくっつかず、当てていない部分にくっつくようになります。膜厚を調整すると細胞に紫外光成分はまったく曝されません。この光を当てた部分に、さらに細胞をまいてやると、その細胞が基盤に接着して数種類の細胞が共存したシートが作れます。これで何ができるかというと、細胞を材料にして光で絵が描けるんです。

—光で絵が描けるとはということでしょうか？



タブレット端末の上にこの基盤を置き、タブレットが発する色の中の、紫外線に近い波長のブルーの光を酸化チタンに吸収させ、タブレットが表示する絵を転写したように、細胞を配列しようという試みに取り組んでいます。

光で絵が描けるようになると、例えば皮膚になる細胞シートの中に血管を埋め込むことが簡単にできるようになります。1回で描けるのは細胞の膜1層だけですが、タブレットを複数台用意して、できたシートを重ねていったら、3Dプリンターのように臓器などの三次元のものも作ることができるでしょう。気の遠くなるような枚数の細胞シートを重ねないといけません、理論的には決して夢物語ではありません。



細胞培養器に下から局所的に光を当てると、細胞は光を当てた部分にくっつかず、当てていない部分にくっつくようになる  
The cells don't adhere to the light-exposed areas, whereas preferentially adhere to the shaded ones.

### Application of Chemical Properties That Respond to Ultraviolet Rays

— I heard you are focusing on titanium oxide. What type of research is it?

As a photocatalyst, titanium oxide is generally used for both sterilization and deodorization, as well as a material for solar cells. In contrast, I try to use the characteristic properties in the developments of cell culture vessels and regeneration techniques for coral reefs.

— First, please explain the development of the cell culture vessels.

Recently, the usage of cell sheets in regenerative medicine has become a popular research topic. They are thin films cultured from human cells, which are attached to affected areas to regenerate organs. To advance this medical treatment, there is a requirement to develop techniques to both fabricate cell sheets and to successfully detach the cultured cells from the vessels without any damage. The state-of-the-art method is to seed cells on a polymer-coated dish, which are then cultured into a sheet. By simply decreasing the temperature, it is possible to detach cell sheet from the culture vessel without damaging the cell-to-cell bonds. With the advent of this technique, the cell sheet engineering has advanced to the clinical stage. Recently, I came up with an idea of developing a new method utilizing the characteristic properties of titanium oxides respond to ultraviolet rays.

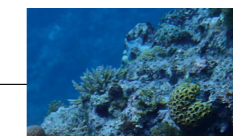
Since cells are living organisms, they can become damaged or cancerous when exposed to ultraviolet rays. On the other hand, titanium oxide is known to absorb ultraviolet rays. Therefore, I fabricated various structures that could protect cells from the ultraviolet element. Consequently, the cell culture vessel converged to a simple structure with a titanium oxide thin film on a glass substrate.

When the cell culture vessel is illuminated from the backside, the titanium oxide film absorbs the ultraviolet rays. The photo-response at the exposed area on the surface prevents cell adhesion, whereas cells show excellent adhesion at the unexposed region. By adjusting the film thickness, the cells could be perfectly protected from UV rays. Furthermore, if cells are additionally seeded to the vessel, they preferentially adhere to the blank region. Thus, it would be possible to have several types of cells coexisting on a sheet. What one can do with this is to draw with light using cells as the materials.

— What do you mean by "draw with light"?

We try to control the adhered position of cells in the same manner as pictures displayed on a tablet. The present titanium oxide film might respond to the blue light with a relatively short wavelength which is emitted by the tablet devices.

For example, drawing images with light allows blood vessels to be easily embedded in the skin cell sheet. One can only draw cell sheet one layer at a time. However, if the sheets are prepared on multiple tablets, and then are stacked together; it can fabricate 3D structures such as organs. One has to stack up several cell sheets but it is not just a pie-in-the-sky theory. This is a 3D printer based on a new principle.



■研究最前線

■サンゴにインプラント?

—サンゴ礁の再生促進技術の開発はどんな研究ですか？

この研究は、社会安全学部の高橋智幸教授、環境都市工学部の鶴田浩章教授との共同プロジェクトです。サンゴに電気を流して成長を促進させ、サンゴ礁を効率よく再生しようという、高橋先生の取り組みから始まりました。

サンゴを固着させるモルタルの台の上に、電極となるチタンを設置し、そこに高橋先生の開発した、潮流で発電する圧電デバイスをつなぎ、さらにその上にサンゴを植え付けます。現在、和歌山の串本、鹿児島との与論島で実験中です。チタンは最も環境や生物にやさしい金属です。

チタンは酸化チタンでコーティングしました。サンゴの表面にはポリプと呼ばれる個体があり、ポリプには骨格を形成する造骨細胞が存在します。ヒトには骨芽細胞という骨を形成する細胞があって、どちらも同じようなメカニズムで骨を形成します。酸化チタンは生体との親和性が高く、人工関節など体内に入れるインプラントの表面を酸化チタンでコーティングすると、骨が早く形成され、生体骨と自然に結合が進みます。ヒトとサンゴの骨ができるメカニズムに類似性があるならば、サンゴも酸化チタンによく付くのではないかと考えてコーティングしたわけです。結果は思った通り、サンゴの細胞とチタンとの相性が良く、CTスキャンで見ると、サンゴの骨格がチタンと完全にくっついているのが分かります。



▲人工股関節の模型  
An artificial hip joint



—海中の作業も自分たちでされているんですね。

このプロジェクトのために、ダイビングの資格をとりました。ボランティアダイバーの力も借りますが、自分たちで装置の設置やサンゴの植え付けもします。海の中で杭をハンマーで打ち込むような肉体的な仕事もあります。時には天候不良のために水流で装置が流されたり、環境が合わずにうまくサンゴが育たなかったりすることもあります。自ら作業や調査をしながら試行錯誤を続けています。

—この研究の今後は？

ポリプの単離に成功し、1回の操作で数百個のポリプを簡単に取り出すことができるようになりました。これは、大きな成果だと思っています。これを酸化チタンの上に播種すると、半日ぐらいでピタッとくっついて、どんどん量産できます。従来、サンゴ礁の再生はサンゴを折って植える断片移植が主流ですが、このやり方で、サンゴ礁の効率的な再生につなげていければと思っています。

■切り口を変えれば、新たな可能性

—先生の感じる研究の醍醐味とは何でしょうか？

酸化チタンは切り口を変えると、こんな使い方もできるのかという発見があることでしょうか。サンゴの研究を始めたときも、酸化チタンを使うなんて予想もしませんでした。

学生のころは金属材料の研究をしていたのですが、大学院以降は、再生医療、航空宇宙材料、光触媒、太陽電池など、多岐にわたる研究に携わってきました。なかには強引に引き込まれた研究もあるのですが、結果的にいろいろ関わってきた知識がなかったら今の研究につながりませんでした。例えば、細胞シートの研究では、太陽電池で発電効率を高めるためにした実験が役立ちました。私はXリーグ所属のアメリカンフットボールの現役選手でもあるんですが、その経験でさえ研究の役に立つことがあります。これからの研究のトレンドや先入観にしばられることなく、環境にやさしい材料の研究に取り組んでいきたいですね。



上田教授の個人研究室で、手前はトレーニング機器  
At Professor Ueda's private laboratory.  
There is his gym equipment.

■Implanting to Corals?

— Can you tell us about your research on encouraging techniques for coral reefs regeneration?

This study is a collaborative project with Professor Tomoyuki Takahashi of the Faculty of Societal Safety Sciences and Professor Hiroaki Tsuruta of the Faculty of Environmental and Urban Engineering. Professor Takahashi launched the project on encouraging coral reef restoration.

A Ti electrode is placed on the mortar scaffold on which the coral will be adhered to. The piezoelectric device, which generates electricity by fluctuation in tidal current, was developed by Professor Takahashi, is connected to the Ti electrode. The coral fragment is then put on it. Now we currently observe the recovery process at Kushimoto in Wakayama and Yoronjima in Kagoshima. Note that Ti is the most environmentally friendly metal with excellent biocompatibility.

In the present study, the Ti electrode is coated with titanium oxide. Some organisms called polyps exist on the surface of corals. Polyps have osteoblasts that form the skeletons. Humans have also osteoblasts for bone, whose mechanism is similar to that of the polyps in the corals. Titanium oxide has a high affinity for living organisms. When the surfaces of implants such as artificial joints are coated with titanium oxide, bones form more quickly, and they naturally bond to living bones. Since corals exhibit a formation mechanism of skeleton similar to that of human living bone, corals may adhere very well to titanium oxide. This was my belief, which motivated this research. As expected, coral cells and titanium oxide are extremely compatible. Computerized tomography (CT) scans revealed that the coral skeleton is firmly attached to Ti.

— So, you do the undersea work yourself?

I got a diving certification just because of this project. Volunteer divers often help us, but we basically install the samples and related foundations ourselves. As an example, we did physical works in the sea such as hammering of piles. Some of samples were washed away by strong tide under inclement weather. In addition, some of corals cannot sufficiently grow due to an unfavorable environment. However, we patiently install and observe samples and continue to perform trial and error.

— What is the future of this research?

The traditional mainstream method of coral reef regeneration is the fragment transplantation where a coral is broken into fragments and then planted. I hope our method will enable more efficient regeneration of coral reefs. We have succeeded in isolating polyps from the fragments of corals, and now we can easily obtain hundreds of polyps by a single operation. I think this is a great achievement. Once these polyps are seeded on titanium oxide, they adhere on it in about half a day; thus, continuous mass production of corals would be possible.

■New Possibilities Through a Different Point of View

— What is the true pleasure in your research?

I think it is the discovery of novel areas of application of titanium oxide by having different points of view. When I started to the research on corals, I never thought of using titanium oxide.

When I was a student, I majored in metallic materials. Up to now, however, I have been involved in a wide range of research, including regenerative medicine, aerospace materials, photocatalysts, and solar cells. I was forcibly involved in certain research projects, but the breadth of knowledge acquired spurred me to my current research. For example, my experience in improving quantum efficiency of solar cells has been useful in the research on the development of cell culture vessel that enables 2D patterning of cells. I am an active American football player in the X League now. Even this experience has been useful in my research work. I hope to continue exploring environmentally friendly materials without being constrained by research trends and preconceptions.

(F) Cloning from Planula/Polyp (Cell Colony Level)

**ANALOGY between Bone and Coral**

The diagram compares the formation of bone and coral. On the left, 'Bone' shows an osteon with blood vessels, osteoblasts, and the secretion of organic substrate leading to the nucleation and growth of inorganic crystals (hydroxyapatite). On the right, 'Coral' shows a polyp with a skeleton made of calcium carbonate. The text states: 'Living bones and skeletons of corals exhibit very similar formation mechanism. Titanium oxide promotes the bone formation on the surface. When a coral fragment is attached to a titanium rod coated with titanium oxide, a soft tissue called polyp covers it quickly.'

生体骨とサンゴにおいて、骨格をつくるメカニズムは非常に似ている。生体骨とくっつきやすい酸化チタンをコーティングしたチタン棒にサンゴ片をくっつけると、ポリプという軟組織がその表面をすくりに覆う  
Living bones and skeletons of corals exhibit very similar formation mechanism. Titanium oxide promotes the bone formation on the surface.  
When a coral fragment is attached to a titanium rod coated with titanium oxide, a soft tissue called polyp covers it quickly.