

課題番号 : F-15-KT-0125
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : 細胞内物質導入の基礎研究 その2
Program Title (English) : A basic study on introducing extracellular substances into cell, No.2
利用者名(日本語) : 梨本 裕司, 横川 隆司
Username (English) : Y. Nashimoto, R. Yokokawa
所属名(日本語) : 京都大学大学院工学研究科
Affiliation (English) : Kyoto University

1. 概要(Summary)

組織機能を微小なチップ上で再現する Organ-on-a-chip は、in vitro モデルの生体予見性を劇的に改善する研究分野として期待を集めている。しかし、構築した組織内の血管網を外部流路と接続し、灌流させる技術は未だ確立されていない。そこで本研究では、組織モデルに対する灌流可能な血管網の導入技術を目指した。これまでに直径 700 μm の肺繊維芽細胞の細胞塊(Spheroid)を組織モデルとして利用し、外部流路から血管構造を Spheroid まで遊走させ、溶液を導入可能であることを示した。

2. 実験(Experimental)

・利用した主な装置

C5 共焦点レーザー走査型顕微鏡

・実験方法

マイクロデバイスはポリジメチルシロキサン製のデバイスを利用した。デバイスは組織の培養部となる中央の円筒状のウェル、その周囲の血管接続用のスペース、および両側面の灌流用の流路から構成され、中央のウェル以外の高さは 100 μm である。血管網を含む組織モデルは、肺繊維芽細胞(LF)、血管内皮細胞(HUVEC)を 4:1 の割合で混合し、4 日間培養を行うことで構築した。Spheroid を Fibrin 内に包埋した後、組織培養部に導入、室温で 5 min 静置することで Fibrin をゲル化し、マイクロデバイス内に Spheroid を固定化した。その後、組織培養部に隣接する 2 本の流路内に 5×10^6 cells/mL に調整した HUVEC の懸濁液を導入し、Fibrin ゲルの側面に接着させた。Spheroid 内の LF が分泌する成長因子の濃度勾配により、Fibrin ゲル側面の HUVEC の管形成、組織への遊走を誘導し、組織との接続を試みた。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

組織モデルとして利用した Spheroid 内の血管網の

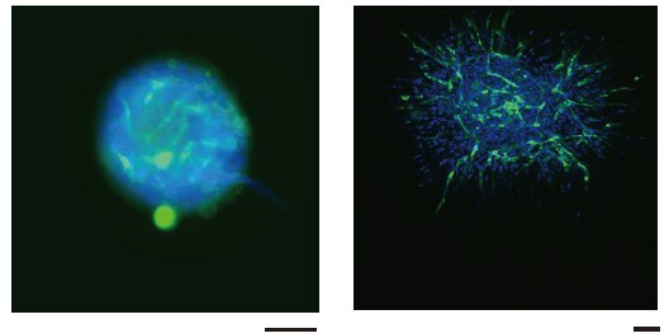


Fig.1 LF-HUVEC co-culture spheroid containing the vascular network in (a) suspension, (b) fibrin. Green; lectin conjugated with FITC (HUVEC), Blue; DAPI (Nuclei of LF and HUVEC). Scale bar = 100 μm .

有無を確認した。Spheroid 内の細胞核、血管内皮細胞をそれぞれ DAPI, Lectin conjugated with FITC で蛍光標識したところ、内部に血管網が確認できた (Fig. 1)。また、この血管網は Fibrin ゲル内に包埋後 (3 日間) も良好に維持されており、さらに画像解析の結果、ほとんどの血管は連結していることが確認できた。本研究成果は、様々な組織の体外培養に展開可能である。

4. その他・特記事項(Others)

特になし。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

1. Y. Nashimoto et al., *2015 MRS Fall Meeting and Exhibit*, Boston, USA, 2015/11/30-12/4, 2015.
2. Y. Nashimoto et al., *Japan-China-Korea MEMS/NEMS Conference 2015*, 95-96, Xi'an, China, 2015/9/23-25.
3. 梨本 裕司 他, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 32 回研究会, 115, 小倉 北九州国際会議場, 2015/11/26-27.
4. 梨本 裕司 他, 第 32 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 新潟, 2015/10/28-30.
5. 梨本 裕司 他, 第 53 回日本生物物理学会年会, S299, 金沢, 2015/9/13-15.

6. 関連特許(Patent)

なし。