

# オンチップ血管網が組織モデルにつながった！ ～マイクロ流体デバイス内に再現した血管網を有する生体組織～

## 概要

京都大学大学院工学研究科の 横川 隆司 准教授、梨本裕司 特定助教らの研究グループは、三浦岳 九州大学大学院医学研究院教授、西山功一 熊本大学国際先端医学研究機構特任准教授らと共同で、培養した組織の中に毛細血管状の管を通し、血流を模した流れを作ることで栄養や酸素を供給できるマイクロ流体デバイスを開発しました。これまでも組織内に同様の管を作ることは成功していましたが、液体を流し組織を長期間培養することは困難でした。

私たちの体は、60兆個もの細胞が協働し、機能的な「かたち」を作ることで維持されています。細胞による組織の「かたち作り」を理解するためには、実験動物から摘出した組織や、ES細胞、iPS細胞等から人工的に作った組織を、体の外で長期間観察する必要があります。このためには、外部から血管を通じて栄養、酸素を人工組織に供給することが必要です。

本研究では、微小なマイクロ流体デバイスを用いることで、細胞の形態形成能により自発的に形成された血管の末端が、人工的な流路に接続した血管を作製しました。さらにこの血管を利用して、組織モデルとして広く利用されている細胞凝集体（スフェロイド）の中に、栄養、酸素の供給に利用可能な血管網を作ることに成功しました。マイクロ流体デバイスは、細胞と同程度のマイクロメートル単位の流路を持つデバイスであり、体の中と同じような細胞同士の作用を再現することが出来ます。研究では、血管を誘導する繊維芽細胞でスフェロイドを構築し、血管を構成する細胞である血管内皮細胞を培養した流路チャネルの横でスフェロイドを培養することで、流路とつながった血管をスフェロイドへ誘導し、スフェロイド内で液体を流すことが可能な血管網を作製しました（図1）。

血管を介した栄養、酸素供給を行う技術は、組織培養に長年必要と考えられてきた技術であり、これまで発達過程の再現が困難であった、肝臓、腎臓などの組織の培養や、長期の組織観察に展開出来ます。組織培養から得られる細胞の「かたち作り」に関する知見は、ES細胞やiPS細胞を利用した人工組織の作出の基盤となるデータであり、今後の再生医療への貢献が期待されます。

本研究成果は2017年5月31日午後6時（日本時間）、*Integrative Biology* オンライン速報版に掲載されました。

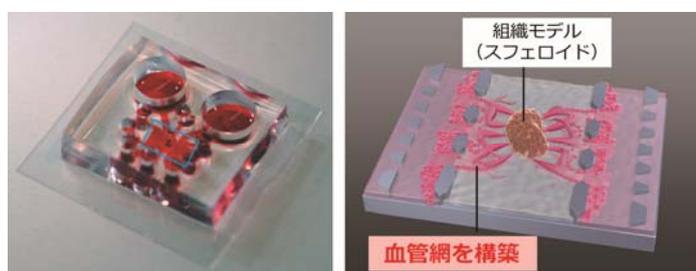


図1：組織モデルの培養に用いたマイクロ流体デバイス。(左) マイクロ流体デバイスの写真(赤：流路チャネル)、(右) 写真内の青四角部の模式図。組織モデル(スフェロイド)へ液体が流れる血管網が誘導される。

## 1. 背景

細胞による組織の「かたち作り」を理解するためには、実験動物から摘出した組織や、ES細胞、iPS細胞等から人工的に作った組織を、体の外で詳しく観察する「組織培養」と呼ばれる手法が有効です。しかし、これまでの組織培養では、血管からの酸素や栄養の供給が途絶えてしまうため、組織内の細胞機能を長期に維持し、細胞による「かたち作り」を安定して観察することは困難でした。組織の中の血管を、体

外で栄養、酸素の供給経路として利用するためには、血管の中に溶液を流すための、外部のシステムにつなげる必要があります。これまで、摘出組織や人工組織の中に、血管の構造を作ることは可能でしたが、いずれも末端が「閉じた」構造であり、実際に栄養、酸素を供給する経路として利用することは出来ませんでした。

## 2. 研究手法・成果

最初に、繊維芽細胞のみから構築したスフェロイドが流路チャネルから血管を誘導できることを確認しました。スフェロイドを構築する繊維芽細胞の数が増えるほど、血管を誘導する作用が強くなることを確認しました。しかし、スフェロイドへ誘導された血管はスフェロイドの中で成長を停止し、スフェロイドの内部に液体を流す能力を持つ血管網を作るには至りませんでした。

次に研究グループでは、繊維芽細胞のスフェロイドの中に予め血管を模した構造体を作っておくことを検討しました。すると、流路チャネルからスフェロイドに誘導された血管がスフェロイドの中の血管様の構造体に融合し、一体的な血管網を構築することを確認しました（図 2a）。

構築した血管網は、血液内の蛋白質と同じサイズの分子を血管外へ漏らさずに流すことが出来、血球成分と同程度の大きさのマイクロビーズが通過可能でした（図 2b）。さらに、この血管網を介して、細胞に作用する化学物質を流すと、血管網が無い場合と比較してスフェロイド内部の細胞と化学物質が素早く反応することを確認しました。これらのデータは、構築した血管網が栄養、酸素の供給経路として利用可能であることを示しています。

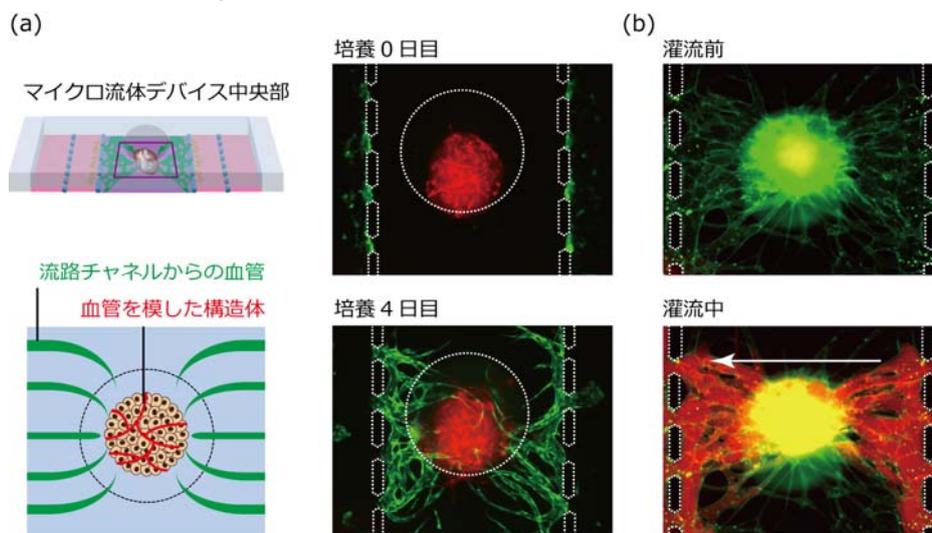


図 2 : (a) デバイス中央部の模式図（左上）とスフェロイド培養部の拡大図（左下）。流路チャネルからの血管（緑）がスフェロイドの中に構築した血管を模した構造体（赤）と接続する（右上：培養開始時、右下：培養 4 日目）。(b) 構築した血管網へ赤色のマイクロビーズを流した時の様子。マイクロチャネル、血管、スフェロイドを経由して、反対側の流路チャネルへビーズが抜けていく（上：灌流前、下：灌流中）。

## 3. 波及効果、今後の予定

血管を介して組織に栄養や酸素を供給する技術は、組織培養に長年必要と考えられてきました。今回の開発した手法を洗練させていくことで、これまで困難であった組織の培養や長期の組織観察に展開出来ます。組織培養から得られる細胞の「かたち作り」に関する知見は、ES 細胞や iPS 細胞を利用した人工組織の作出の基盤となるデータであり、今後の再生医療への貢献が期待されます。

#### 4. 資料提供

本研究成果に関連する画像や動画資料は下記 URL よりご利用いただけます。報道で使用される場合、提供元は「横川隆司 京都大学工学研究科准教授」でお願いいたします。

<https://u.kyoto-u.jp/u4sj0>

#### 5. 研究プロジェクトについて

JST 戦略的創造研究推進事業(CREST)、JSPS 科学研究費補助金、日本医療研究開発機構 (AMED)、みずほ学術振興財団の支援を受けました。

#### <論文タイトルと著者>

タイトル : Integrating Perfusable Vascular Networks with A Three-Dimensional Tissue in A Microfluidic Device

著者 : 梨本裕司、林智也、國田樹、中益朗子、鳥澤勇介、中山雅宗、今村 (滝川) 寿子、小寺秀俊、西山功一、三浦岳、横川隆司

掲載誌 : *Integrative Biology* (DOI: 10.1039/c7ib00024c)