



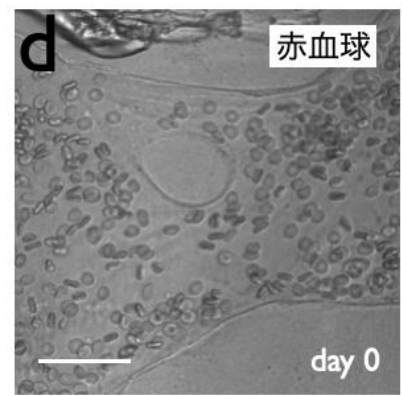
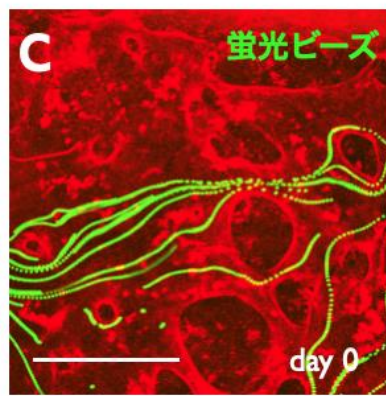
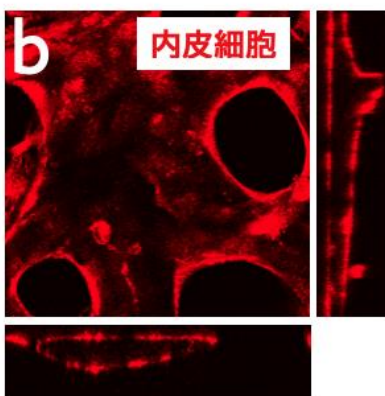
培養ディッシュの中の循環系 － 体外で機能する毛細血管網を手軽に作成 －

九州大学大学院医学研究院の三浦岳教授、京都大学大学院工学研究科の横川隆司教授、熊本大学国際先端医学研究機構の西山功一准教授らの研究グループは、灌流可能かつ生物学的機能を有する毛細血管網を、培養ディッシュの中に作り出す安価で安定した方法を開発しました。

再生医学や幹細胞医学では三次元組織の培養は究極の目標の一つですが、毛細血管網の欠如が技術的なハードルとなっています。生体外で毛細血管網を作り出す方法は、これまで生物医工学的な手法で主に行われてきましたが、特殊なマイクロ流体デバイスや高額な機器が必要でした。

今回、三浦教授らの研究グループは、一般的な培養ディッシュに簡単な加工を加えることで同様の実験系を実現しました。これによって、毛細血管網での灌流実験が、通常の生物学の研究室で広く実現可能となり、研究分野の裾野が広がることが期待されます。詳細については別紙を参照してください。

この研究成果は、2020年10月28日（水）午後2時（米国東部時間）に、米国科学雑誌「PLOS ONE」のオンライン版で発表されました。



a. 培養形の仕組み b. 自発的に形成される内皮細胞の管腔ネットワーク
c. 管腔内での蛍光ビーズの灌流 d. 管腔内での赤血球の灌流

【問い合わせ】九州大学大学院医学研究院 教授 三浦 岳

TEL : 092-642-6048 FAX : 092-642-6923

Mail : miura_t@anat1.med.kyushu-u.ac.jp

■背景

三次元組織構造(※1)の培養系での創出は再生医学、幹細胞医学の究極の目標の一つですが、機能する毛細血管網の欠如が技術的な大きなハードルになっています。なぜなら培養組織は直径が1ミリ程度になると、拡散だけでは栄養や酸素を十分に行き渡らせることができず、中心部が壊死に陥るからです。この技術的な制約を除くために、昔から様々な方法が用いられてきました。たとえば、組織を培地と空気の界面に置くことによって酸素の供給を上げたり、組織の入った容器をローターで回転させることによって酸素を内部まで供給したりするやり方が考案されました。しかし、血管系の欠如により、1ミリ以上の大きさの組織の培養はこれまで困難でした。

生体内では、組織の中の栄養や酸素の供給は毛細血管網(※2)の中を血液が循環することで起こりません。この毛細血管網は内皮細胞(※3)という細胞によってできていますが、この細胞は、培養系でも自己組織化(※4)によって管腔を持ったネットワーク構造を作ることが昔から知られていました。しかし、この実験系は血管のパターン形成の研究には広く用いられてきましたが、管腔が非常に小さく、毛細血管として機能させることは最近まで不可能でした。

2013年に、現ソウル大学のNoo-Li Jeonらの研究グループは、マイクロ流体デバイス(※5)内に毛細血管網を自己組織化によって形成させ、内部に培地を灌流(※6)させることに成功しました。この研究はインパクトがあり多くの応用研究がなされています。しかし、この技術は煩雑で、シリッジポンプ等の特殊な機器が必要です。専門の工学者との共同研究を行う以外、現時点ではほぼ不可能で、おもに工学の世界で開発が進んでいました。

■内容

九州大学の三浦教授らの研究グループはまず、既存のガラスボトムディッシュをセパレータで二分するだけの非常に簡単な培養系を開発しました(図a)。この培養系では、ゲル内で内皮細胞を培養すると細胞が自発的に管腔構造を持つネットワークを形成します(図b)。さらに、その管腔構造の一部に人為的に穴を開け、片側に培地を入れて静水圧をかけると、管腔内を培地が流れます(図c)。この流れは長時間維持することが可能です。また、血液のような細胞成分が入った培地も灌流可能で、あたかも本物の毛細血管網のような扱いが可能です(図d)。

研究グループではこの培養系を使って、これまで特殊な装置がないとできなかった「流れ」による効果の実験がこの培養系で可能なことを示しました。流れの短期的な作用として、内皮細胞の集団運動、間質での細胞増殖の促進を観察できました。また、この培養系は単純なため長期灌流が可能で、1ヶ月にわたって流れを付加しつつ培養することで血管系のリモデリング(※7)も再現できました。さらに、血管網と他の細胞の相互作用についても、炎症細胞(※8)の血管内外への出入りや、癌細胞の血行性転移、血管付きスフェロイド(※9)への灌流など、様々な実験が培養皿の中で行えるようになりました。

■効果・今後の展開

今回開発した方法は、数百円オーダーでどのような研究室でも実行可能で、しかも一部の実験に関しては精緻なマイクロ流体デバイスを用いた実験よりも高性能です。このような流れを使った実験が一部の研究資金の豊富なラボだけではなく様々な研究室で展開され、研究分野全体の厚みを増すことが期待されます。

■研究について

当研究は、JST CREST「からだの外でかたちを育てる」(JPMJCR14W4)の支援を受けて行われました。

【用語解説】

- (※1) 組織構造：生物の体内で、細胞が機能するために一定のルールに沿って配列した構造のこと。
- (※2) 毛細血管網：循環器系の最も末梢にある細い血管のネットワーク。栄養、酸素の交換が行われる。
- (※3) 内皮細胞：血管内腔を縁取る、毛細血管網を構成する主要な細胞。
- (※4) 自己組織化：個々の要素の自律的な振る舞いから大域的な構造を作り出す現象。
- (※5) マイクロ流体デバイス：半導体の微細加工技術を応用して微小流路を作成し、生物学や化学工学に応用するためのデバイス。
- (※6) 灌流(かんりゅう)：臓器や組織、細胞に液体を流すこと。
- (※7) リモデリング：血管が血流に反応して太さを変化させること。
- (※8) 炎症細胞：体内で異常が生じた箇所に集まってくる細胞。
- (※9) スフェロイド：実験で用いる細胞の凝集塊。

【論文】

論文名 : A new perfusion culture method with a self-organized capillary network

著者名 : Kei Sugihara, Yoshimi Yamaguchi, Shiori Usui, Yuji Nashimoto, Sanshiro Hanada, Etsuko Kiyokawa, Akiyoshi Uemura, Ryuji Yokokawa, Koichi Nishiyama and Takashi Miura

雑誌名 : PLOS ONE (2020)

DOI : 10.1371/journal.pone.0240552