The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	細胞積層技術による生体外での血管モデルの構築と血管機能評価への応用
Author(s)	松崎, 典弥; 門脇, 功治; 西口, 昭広 他
Citation	日本生理学雑誌. 2012, 74(5), p. 250-251
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/50285
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

細胞積層技術による生体外での血管モデルの構築と血管機能評価への応用

松崎典弥，門脇功治，西口昭広，明石　満（大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻）

1．緒言

人工多能性幹細胞（iPS 細胞）を用いた様々なヒト細胞の安定かつ大量な供給法が盛んに研究されており，医薬品の毒性および薬効評価試験への応用が期待されている．動物とヒトでは薬物代謝経路に差異があるため，実験動物をできるだけ使用せず，正常および疾患のヒト細胞を用いて薬剤の毒性や効果を評価する方針となりつつある．しかし，生体組織は複数種類の細胞が相互作用することで薬剤の代謝から効果発現への多段階プロセスを行っているため，細胞単体の薬剤応答だけで生体組織の薬剤応答を評価（予測）することは困難である．そのため，ヒト組織と同等の薬剤応答を評価できるヒト組織モデルの構築が求められている．

生体組織は，複数種類の細胞と細胞周辺に存在する細胞外マトリックス（ECM）が精密に配置制御された三次元構造である．従って，細胞や ECM の種類を制御して組織化（三次元化）する新規技術の開発が重要となる．我々は，細胞外マトリックス（ECM）成分であるフィブロネクチンとゼラチンのナノ薄膜（FN-G 薄膜）を細胞表面へ形成することで，細胞の種類や配置を制御して積層化する「細胞積層法」を考案した［1］．さらに，最近，本手法を改良し，短期間での厚い組織構造の形成を可能とした「細胞集積法」を確立した［2］．これらの手法を用い，特に血管壁構造の形成や毛細血管網を有する三次元組織モデルの構築と応用について研究を展開している（図 1）［3-5］．

2．細胞積層法

細胞は，外部との情報交換や機能発現を細胞膜界面で制御している．生体内で細胞の界面構造と機能の制御に重要な役割を果たしているのが，細胞周辺に存在する ECM である．この ECM の働きに着目し，ECM のように細胞の界面構造を制御できれば細胞の三次元組織化を操作できると考えた．ECM 成分であるフィブロネクチン（FN）とゼラチン（G）の分子間相互作用を巧みに利用することでナノ薄膜を細胞表面に形成し，次の細胞が接着するための足場を提供することで，望みの細胞を一層ずつ積層することに初めて成功した（図 1a）．また，わずか 6nm の薄膜が細胞積層の足場として機能するメカニズムを明らかとした．

本手法を用い，ヒト臍帯動脈血管平滑筋細胞（UASMC）の積層構造の上にヒト臍帯静脈血管内皮細胞（HUVEC）層を形成した血管壁モデルの構築が可能であった［5］．さらに，本血管モデルを応用することで，ブラジキニンに応答した血管内皮細胞からの一酸化窒素（NO）の産出と平滑筋層への拡散の生体外での定量的な検出に成功した

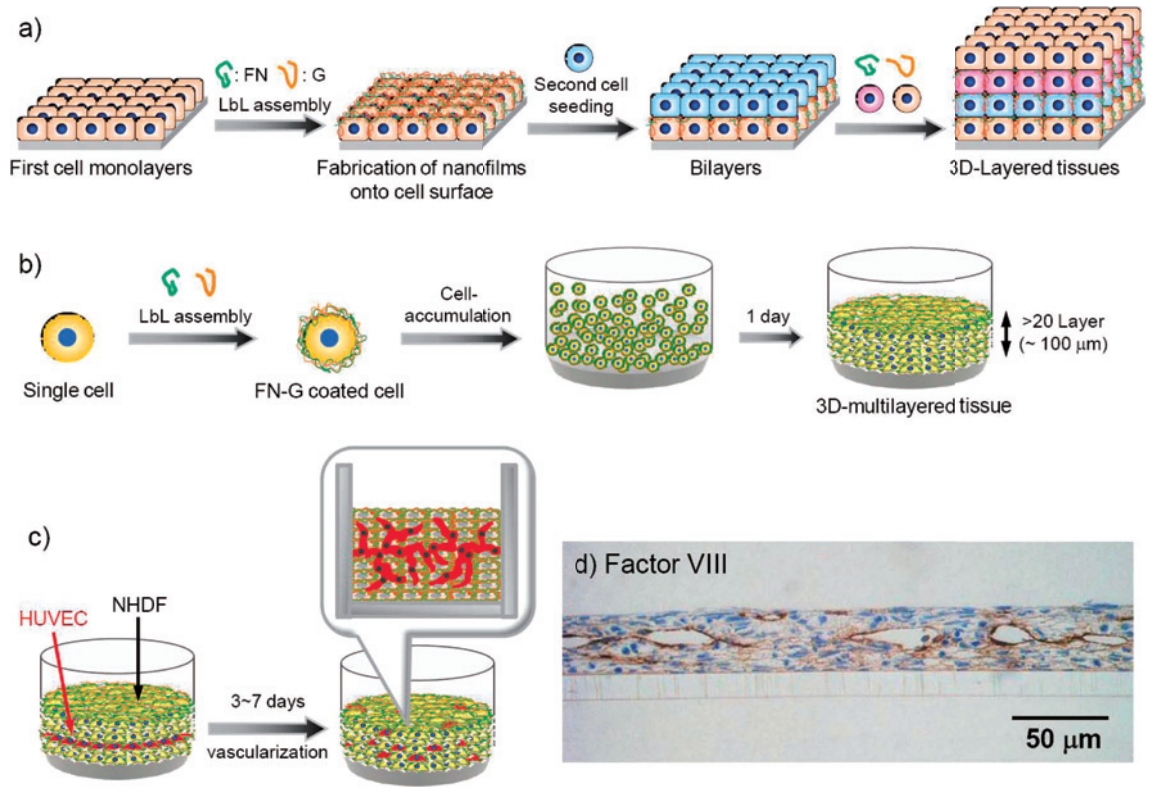

図 1．細胞積層（a）と細胞集積層（b）のイメージ図．細胞集積層を用いた HUVEC のサンドイッチ培養（c）および構築した毛細血管網構造を含むヒト皮膚由来線維芽細胞組織の Factor VIII 染色組織像（d）．

[3]．本手法で作製した血管壁モデルが，ヒト血管モデルとして薬剤応答評価に有用であることを明らかにした．

3．細胞集積法

以上のように，細胞積層法は望みの細胞種を望みの場所に一層ずつ積層することができる簡便かつ画期的手法であるが，各層の細胞が安定に接着するまで待つ必要があり，一日 2 層の作製が限度であった．そこで，単一細胞表面への FN-G ナノ薄膜形成により短期間で積層構造が構築できる「細胞集積法」を考案した（図 1b）[2]．各細胞が FN-G 薄膜を介して三次元的に相互作用するため，最大 23 層（105μm）の厚さの積層組織を一日で作製することに成功した[4]．さらに，4 層のヒト皮膚由来線維芽細胞（NHDF）層で 1 層の HUVEC をサンドイッチ培養することで，毛細血管網に類似の HUVEC のチューブネットワークが全体かつ均一に形成することを見出した（図 1c，d）[2]．ネットワークが占める面積はおよそ 63% であり，チューブ間距離は 50～150μm であった．

4．まとめ

望みの細胞を望みの場所に一層ずつ積層した組織体を可能とする「細胞積層法」，10～20 層の毛細血管網を有した三次元組織モデルを短期間で構築できる「細胞集積法」を考案した．得られた三次元構造体は，ヒト生体組織モデルとして医薬品の毒性および薬効評価に応用できると期待される．

本研究の一部は，最先端・次世代研究開発支援プログラム（LR026）により実施された．

1. Matsusaki M, et al: Angew Chem Int Ed **46**: 4689, 2007
2. Nishiguchi A, et al: Adv Mater **23**: 3506, 2011
3. Matsusaki M, et al: Angew Chem Int Ed **50**: 7557, 2011
4. Matsusaki M, et al: Adv Mater **24**: 454, 2012
5. Matsusaki M, et al: J Biomater Sci Polymer Edn **23**: 63, 2012