

## 平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：メカノバイオロジー機構の解明による革新的医療機器及び医療技術の創出
2. 研究開発課題名：生体内のメカニカル刺激を模倣したデバイスの開発と造血機能の再現
3. 研究開発代表者：鳥澤 勇介（京都大学 白眉センター）
4. 研究開発の成果

本研究は、マイクロデバイス技術を応用することで生体内の環境を模倣し、個々の環境因子に起因する細胞機能を再現可能なデバイスの開発を目的とする。具体的には、発生過程において、心臓の拍動の開始に同期して起こる血管内皮細胞の造血機能の再現、およびそのメカノバイオロジー機構の解明を目指す。また、生体内における骨髄の形成環境を再現することで、生体外で骨髄環境を再構築し、そのメカノバイオロジー機構の解明を目指す。これら両デバイスを組み合わせることで、ヒト人工性多能性幹細胞から造血幹細胞の作製、更に生体外で骨髄機能の再現を目指す。

本年度は、今後の基盤となる 2 種類のデバイス（造血チップ、骨髄チップ）の開発を行った。デバイスの作製にはソフトリソグラフィ法を用い、PDMS（ポリジメチルシロキサン）を用いて行った。PDMS デバイス作製の条件検討を行い、造血チップでは、PDMS 薄膜を介して上下に 2 本の流路が配列された隔膜型の微小流体デバイスを作製した。このデバイスは、空気圧により流路を変形させることで PDMS 薄膜を伸縮可能である。空気圧を制御することで、伸縮のリズムやパターンを制御可能であり、心臓の拍動パターンを模倣したメカニカルな刺激を細胞に印加可能となる。

骨髄チップでは、灌流可能な 3 次元の血管網を構築可能なデバイスを開発した。PDMS を用い、ポストを介して複数の流路が並列した微小流体デバイスを作製した。デバイス内に、フィブリンゲルを用いて 3 次元的に細胞培養を行い、血管新生を誘導することで、流路内に血管構造の再構築を試みた。ヒト臍帯静脈内皮細胞をゲルの側面に培養し、ゲルの近傍の流路内にヒト肺線維芽細胞を培養することで、血管新生が誘導でき、3 次元の血管網が作製可能であった。作製した血管網は隣接する流路を介して溶液の灌流が可能であった。また、ヒト肺線維芽細胞との共培養なしにはゲル内への血管新生は起こらず、血管構造を作製することは出来なかった。従って、肺線維芽細胞が分泌する因子により血管新生・血管網の形成が誘導されており、パラクリンシグナルの保持が必要不可欠であることがわかった。そこで、骨髄の環境を模倣する目的で、肺の繊維芽細胞の代わりにヒト骨髄由来の間葉系幹細胞を用いて同様の実験を行った結果、血管網の形成を誘導可能であった。しかしながら、肺繊維芽細胞に比べて、間葉系幹細胞では血管形成の誘導能力は低く、血管網の形成に長時間を要した。このように、更なる条件検討が必要ではあるものの、骨髄由来の間葉系幹細胞を用いた血管網形成が可能となり、より骨髄に近い環境下での血管網形成が可能となる。以上のように、今後の基盤となる 2 種類のデバイスを開発した。