

京都大学教育研究振興財団助成事業  
成 果 報 告 書

平成 28 年 10 月 7 日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 工学研究科 マイクロエンジニアリング専攻

職 名・学 年 特定助教

氏 名 梨 本 裕 司

助 成 の 種 類	平成28年度 ・ 研究者交流支援 ・ 在外研究短期助成	
研 究 課 題 名	マイクロ流体技術を用いた人工組織への血管導入技術の確立	
受 入 機 関	University of Michigan	
渡 航 期 間	平成 28 年 06 月 28 日 ～ 平成 28 年 09 月 30 日	
成 果 の 概 要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有( )	
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1,015,000 円
	使用した助成金額	1,015,000 円
	返納すべき助成金額	0 円
	助成金の使途内訳	航空賃, 鉄道賃 150,000 円
		滞在費 796,000 円
		空港使用料 11,000 円
		旅券交付手数料 38,000 円
査証手数料 20,000 円		
当財団の助成について	京都大学の研究者にとって、日本での日常では得難い経験を与えてくれるものである。助成金の執行も非常に柔軟に認められており、使い勝手が良い。多くの後輩の研究者に当財団への申請を薦めたいと考える。	

【はじめに】

組織工学の発展に向け、組織の栄養供給、老廃物の排出経路となる血管の構築法が課題となっている。この課題に対し、申請者らは、マイクロ培養デバイス内で、血管内皮細胞と繊維芽細胞の相互作用を規定することにより、組織モデル内に灌流可能な血管網を構築することに成功した（図1上）。しかし、組織への血管導入の成功例は、肺の繊維芽細胞を組織に組み込んだ場合に限られており、本技術を広範な組織に適用するためには、他の組織への血管導入技術の確立、知見の蓄積が必須となる。そこで今回の短期在外研究では、本法の応用範囲の拡張を目的とした（図1下）。申請先の研究室で知見が蓄積されている、骨髄の間質細胞（HS-5）を対象に、HS-5の凝集体に血管導入を行うことで、生体内の骨髄環境を模倣したモデルの構築を試み、癌疾病で問題となっている骨髄への癌転移の評価に資するモデルの提供を最終目的とした。

【研究体制】

ミシガン大学のTakayama研究室（申請先研究室）で血管導入のためのデバイス作製、および骨髄組織のモデルの構築と血管導入の検討を行った。使用した細胞は、ミシガン大学のLucker研究室より供与頂き、必要に応じて、遺伝子改変を行って頂いた。

【結果と考察】

まず、遺伝子改変を行わない、通常のHS-5で構築した組織モデルへの血管導入を行った。デバイスの中央に組織モデルを導入し、組織モデルから分泌される血管形成因子を利用し、組織モデルの両脇のチャンネルに播種した血管内皮細胞の自発的な血管形成を誘導した（図2a）。

デバイス内で誘導した血管の蛍光顕微鏡写真を図2bに示す。写真から、血管導入は一定程度進行するものの、培養期間が長くなると、血管構造が崩れてしまい、構築した血管を長期に維持出来ないことが分かった。

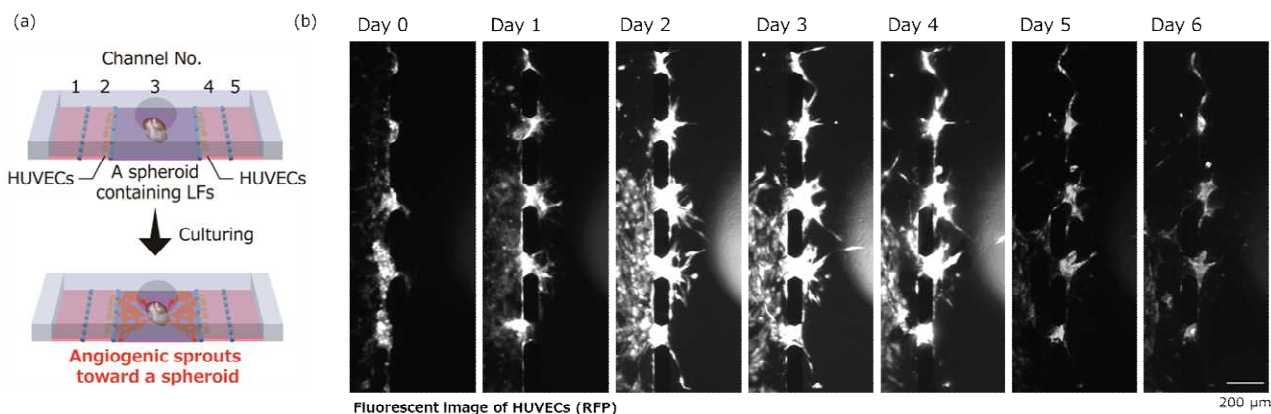
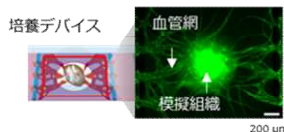


図2 HS-5 (plain)で構築した組織への血管導入. (a) デバイスを用いた血管誘導の概要, (b) Channel 2部分で形成された血管の経時変化.

次に、C-X-C motif chemokine 12または14 (CXCL12, CXCL14)を発現するように、遺伝子改変を行ったHS-5で構築した組織モデルへの血管導入を行った。CXCL12, CXCL14は、細胞遊走を促進することが知られており、血管導入に有利に働くことが期待できる。結果を図3に示す。

達成済み

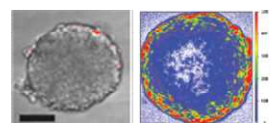
肺繊維芽組織への血管導入



短期在外研究の目的

他の組織モデルへの血管導入技術の展開

骨髄間葉系間質組織への血管導入  
癌疾病の骨髄転移モデルの構築



申請先の研究室で確立している  
骨髄組織モデル  
(Neoplasia, 17, 625, 2015, Tomography, 2, 146, 2016)

図1 在外研究の背景と目的

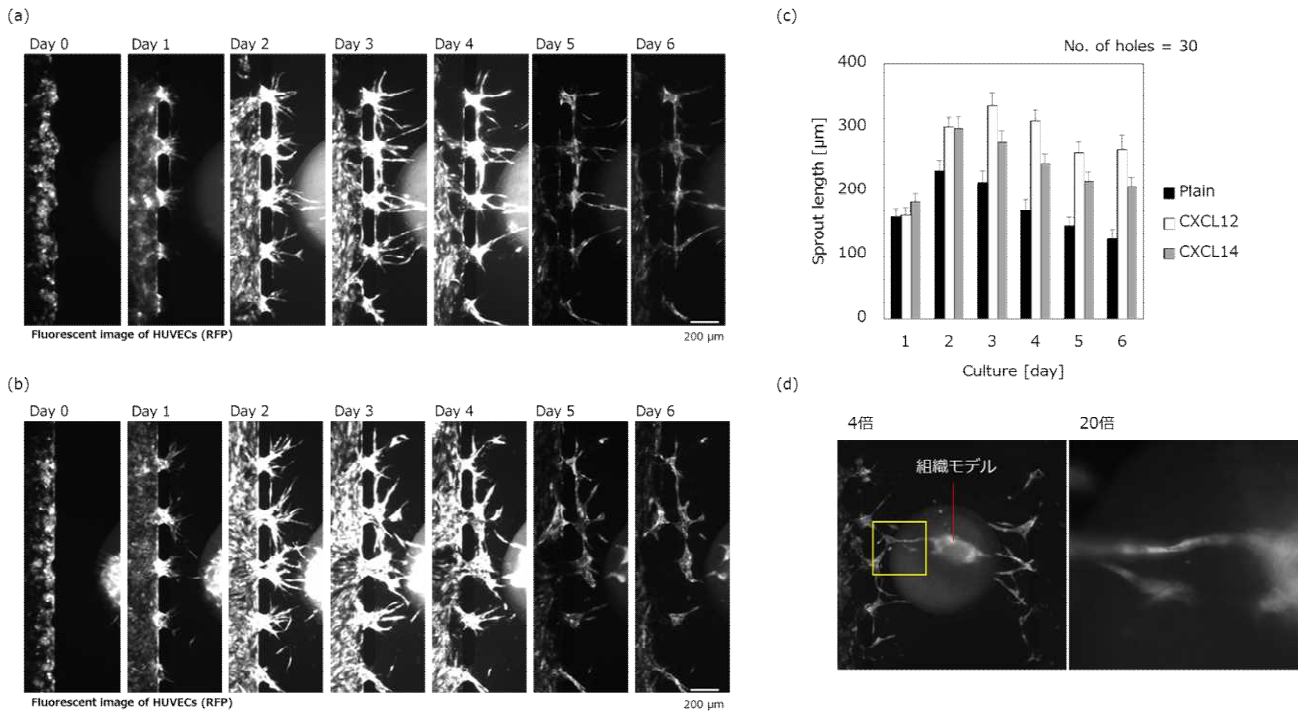


図3 CXCL12 (a), CXCL14 (b) 発現 HS-5 への血管導入 (Channel 2 部分). (c) Channel 3 に形成された血管の先端～根元までの長さの経時変化. (d) CXCL12 発現 HS-5 で構築した組織モデルに対する血管の接続. 20 倍画像は 4 倍画像における四角部の拡大.

CXCL12, CXCL14 を導入した場合においても, 培養期間が長くなるにつれて, 構築した血管が細くなっていく現象が観察された (図 3a, b)。また, 誘導された血管の長さは, CXCL12, CXCL14 が発現した細胞に対して伸展した血管の方が, 有意に長かった (図 3c)。また CXCL12 発現 HS-5 に対し, 血管導入を検討した 3 つのデバイス中, 1 つのデバイスでは, 一部の血管を組織モデルに到達させることに成功した (図 3d)。しかし, この血管は十分に発達しておらず, 組織モデル内を灌流させることは出来なかった。

以上のことから, ①HS-5 は一定の血管誘導能力を有するものの, 灌流可能な程度に発達した血管は誘導出来ないこと, ②CXCL12, CXCL14 は血管誘導において有利に働くことが知見として得られた。

#### 【今後の予定】

今回の短期滞在期間中では, 残念ながら骨髄モデルに対する血管網導入を成功させることは出来なかったが, 今回得られた人脈を元に, 引き続き, 共同研究として本プロジェクトを進めていく。HS-5 で構築した骨髄組織モデルに対する血管誘導は困難であったため, 別の骨髄間質細胞である HS-27A を用いた血管誘導を検討する。HS-27A は, 申請先の研究室において, 共培養した細胞の増殖に与える影響が小さいことが知見として得られている。既に HS-27A は手配済みであり, 必要に応じて遺伝子導入などの対応を連携して行っていく。

#### 【謝辞】

本助成を通じ, 海外研究機関での研究の進め方を経験するとともに, 今後の研究に繋がる人脈を形成することが出来た。助成を頂いた, 公益財団法人京都大学教育研究振興財団, 短期滞在をご許可頂いた工学研究科マイクロエンジニアリング専攻の横川隆司准教授, また私を受けて入れて下さった, ミシガン大学 Takayama Shuichi 教授に心より感謝申し上げます。

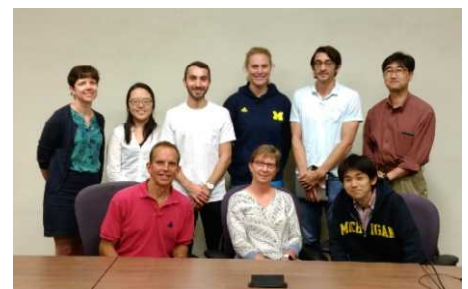


図4 申請先での研究グループ.  
写真右下が申請者.