

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K18863

研究課題名（和文）走査型プローブ技術を応用した血管描出技術の開発

研究課題名（英文）Regulation of the vascular pattern using a scanning probe technique

研究代表者

梨本 裕司（Nashimoto, Yuji）

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・准教授

研究者番号：80757617

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：血管形成の時期や位置の制御は、組織工学や発生生物学の発展におけるキーテクノロジーである。本研究課題では、可動式の探針を利用した血管描出技術の開発に取り組んだ。ガラスキャピラリーを基材とした探針内では、細胞培養が十分に行えず、血管形成の誘導が困難であることがわかった。一方、酸素透過性に優れたポリジメチルシロキサン（PDMS）探針では、細胞培養が可能であった。PDMS探針に合わせたマイクロ流体デバイスを設計し、血管形成が一部誘導可能であることを確認した。研究機関中に代表者の異動もあり、安定した血管形成の時空間制御手法の開発を完了するには至らなかったが、本課題後に継続して解析を進める。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管形成は、酸素、栄養を供給するライフラインであり、周囲の組織の活動に大きな影響を与える。血管形成の時期や位置の制御は、血管形成の基礎的な興味はもちろん、組織工学や発生生物学の発展におけるキーテクノロジーといえる。上部解放型のマイクロ流体デバイスは、センサの挿入や培養後のサンプルの回収にも活用でき、本研究課題で開発した知見の一部は、研究論文として報告することができた（Y. Nashimoto, et al., Biosens. Bioelectron., 219, 114808 (2023)他）。これらの成果は、血管形成の時空間的制御の実現に向けた一歩と位置付けられる。

研究成果の概要（英文）：Controlling the temporal and spatial dynamics of angiogenesis constitutes a pivotal technology in the advancement of tissue engineering and developmental biology. Within this research endeavor, we focused on the refinement of vascular fabrication techniques through the utilization of a scanning probe. It was discerned that inducing angiogenesis proved challenging when employing a glass capillary as the material for the probe, as it impeded cell culture in a good condition. Conversely, utilizing polydimethylsiloxane (PDMS) probes, which possess exceptional oxygen permeability, facilitated successful cell culture. To this end, we devised a microfluidic apparatus integrated with a PDMS probe, validating its ability to induce partial angiogenesis. Regrettably, due to personnel transitions within the research institute, the establishment of a robust and dependable spatiotemporal control method for angiogenesis remains unfinished. Nevertheless, the post-project analysis will persist.

研究分野：生体医工学

キーワード：Organ-on-a-chip 生体模倣システム 走査型プローブ顕微鏡 血管

## 1. 研究開始当初の背景

血管は組織を維持するライフラインであり、再生医療や創薬モデルに利用される組織モデルにおいて必要不可欠である。近年、3Dプリンタなどの工学技術により、人工的な血管の作出が可能となったが、血管形成の時期や位置を制御する、時空間的な血管の作出手法は未開発である。再現する組織モデル内で、血管は、ただあれば良いというものでは無い。血管の導入により、周囲の環境は、化学的、力学的に一変するため、適切な時期、部位に導入されて初めて組織の模倣が可能となる。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、走査型プローブ技術により血管形成を4次元的に制御するツール開発を目標においた。血管形成の誘導因子を分泌する間質細胞を探針に充填し、先端から誘導因子が放出される環境を整え、これにより、新生血管の方向や形成時期を制御することを検討した。

## 3. 研究の方法

血管を誘導する間質細胞としては、既に血管誘導能力を確認済みのヒト肺線維芽細胞（hLF）を用いた。細胞培養に使用する探針には、既に走査型プローブ顕微鏡で実績のあるガラスキャピラリーをはじめに検討した。ガラスキャピラリーは加工性、形状の再現性が良く、ハンドリングノウハウの蓄積があったためである。次に、既存のマイクロ流体デバイスに用いられてきたポリジメチルシロキサン（PDMS）の利用を検討した。血管を描出するプラットフォームとしては、既往のマイクロ流体デバイスの上部を開放構造としたデバイスを新たに設計し、検討した。

## 4. 研究成果

R3年度までに、ガラスキャピラリーを基材とした探針内（図1）では、細胞培養が十分に行えず、血管形成がうまく誘導できないことが分かった。R4年度では、R3年度までの検討結果を受け、酸素透過性に優れたポリジメチルシロキサン（PDMS）を探針の材料として採用し、検討を進めた。その結果、PDMSの探針の作製に成功し、探針の内部で細胞培養を実現可能であることを示した。PDMS探針を設置できるよう、上部が大きく開放されたマイクロ流体デバイスを設計し、PDMS探針と組み合わせることで、血管形成が誘導可能であることを確認した。一方で、PDMS探針内の培養では血管形成量が十分でなく、さらなる培養条件の改善が必要であった。R4年度は、代表者の異動もあり、当初の研究計画の安定した血管形成の時空間制御手法の開発を完了するには至らなかったが、本課題後に継続して解析を進める。一方で、上部解放型のマイクロ流体デバイスは、センサの挿入や培養後のサンプルの回収にも活用でき、本研究課題で開発した知見の一部は、研究論文として報告することができた（Y. Nashimoto, et al., Biosens. Bioelectron., 219, 114808 (2023)他）。

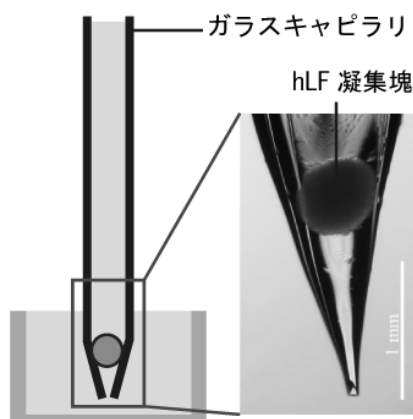


図1：検討した探針型デバイス

血管形成は、酸素、栄養を供給するライフラインであり、周囲の組織の活動に大きな影響を与える。血管形成の時期や位置の制御は、血管形成の基礎的な興味はもちろん、組織工学や発生生物学の発展におけるキーテクノロジーといえる。上部解放型のマイクロ流体デバイスは、センサの挿入や培養後のサンプルの回収にも活用でき、これらの成果は、血管形成の時空間的制御の実現に向けた一歩と位置付けられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 宇田川喜信、伊野浩介、梨本裕司、珠玖仁
2. 発表標題 ハイドロゲルファイバーを用いた3次元細胞培養と局所的な電気化学反応によるハイドロゲルの結合
3. 学会等名 生物工学会北日本支部 2021年第1回オンライン若手シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kaoru Hiramoto, Kosuke Ino, Keika Komatsu, Yuji Nashimoto, Hitoshi Shiku
2. 発表標題 Electrochemiluminescence microscopy for imaging of cellular functions
3. 学会等名 INTERFINISH2020 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshinobu Utagawa, Kosuke Ino, Yuji Nashimoto, Hitoshi Shiku
2. 発表標題 Microfluidic device with porous electrodes for electrochemical cell analysis
3. 学会等名 INTERFINISH2020 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 赤坂理世、伊野浩介、梨本裕司、珠玖仁
2. 発表標題 微小パイボラ電極アレイを用いたアルカリホスファターゼの電気化学的定量評価に基づく細胞の分化状態の観察
3. 学会等名 2021年度電気化学秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊野浩介、平本薫、小松慶佳、梨本裕司、珠玖仁
2. 発表標題 細胞機能計測に向けた電気化学発光システム
3. 学会等名 第82回 応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小松慶佳、平本薫、梨本裕司、伊野浩介、珠玖仁
2. 発表標題 細胞の代謝・機能計測に向けた電気化学発光システムの開発
3. 学会等名 日本分析化学会 第70年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 向本励、今泉拓斗、梨本裕司、伊野浩介、珠玖仁
2. 発表標題 マイクロ流体デバイスによるスフェロイドへの血管形成と走査型電気化学顕微鏡を用いた酸素代謝測定
3. 学会等名 日本分析化学会 第70年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshinobu Utagawa, Kosuke Ino, Yuji Nashimoto, Hitoshi Shiku
2. 発表標題 Microfluidic device with porous electrodes for electrochemical cell analysis
3. 学会等名 化学系学協会東北大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shotaro Shishido, Yuji Nashimoto, Kosuke Ino, Kunishige Onuma, Masahiro Inoue, Hitoshi Shiku
2. 発表標題 Electrochemical mesurement of oxygen consumption rate for patient-derived cancer cells
3. 学会等名 化学系学協会東北大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kaoru Hiramoto, Kosuke Ino, Keika Komatsu, Yuji Nashimoto, Hitoshi Shiku
2. 発表標題 HIGH RESOLUTION, ONE-SHOT IMAGING OF CELLULAR ACTIVITY OF SPHEROIDS BY OXYGEN DEPENDENT ELECTROCHEMILUMINESCENCE
3. 学会等名 MicroTAS 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小松慶佳、平本薫、梨本裕司、伊野浩介、珠玖仁
2. 発表標題 電気化学発光による血管形成の細胞接着イメージング
3. 学会等名 第3回環境科学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 赤坂理世、伊野浩介、梨本裕司、珠玖仁
2. 発表標題 アルカリホスファターゼの電気化学測定に基づく微小バイポーラ電極アレイを用いた局所測定手法の開発
3. 学会等名 CHEMINAS44
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平本薫、岩瀬和至、宇田川喜信、梨本裕司、本間格、伊野浩介、珠玖仁
2. 発表標題 Fe-N共ドーブ炭素触媒を利用したマイクロウェル内の細胞の一酸化窒素生成モニタリング
3. 学会等名 電気化学会東海支部・東北支部合同シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 向本励、今泉拓斗、梨本裕司、伊野浩介、珠玖仁
2. 発表標題 マイクロ流体デバイスを用いたスフェロイドへの血管導入と電気化学的な酸素消費量解析
3. 学会等名 第43回日本バイオマテリアル学会（第8回アジアバイオマテリアル学会 併催）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Noriko Taira, , Hiroki Ida, Yuji Nashimoto, Kosuke Ino, Akichika Kumatani, Hitoshi Shiku
2. 発表標題 Visualization of Structural Changes of Cell Adhesion and Cell Surface under Epithelial Mesenchymal Transition
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 穴戸昌太郎、梨本裕司、伊野浩介、小沼邦重、井上正宏、珠玖仁
2. 発表標題 患者由来がん細胞の電気化学測定による酸素消費量の不均一性の評価
3. 学会等名 電気化学会第89回大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 伊野浩介, 宇田川喜信, 梨本裕司, 珠玖 仁	4. 発行年 2021年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 100
3. 書名 電気化学反応を使ったハイドロゲルのバイオフィabrication	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------