

動物の体内には多様な細胞が存在し、増殖や分化の方向、細胞同士の相互作用を自律的にコントロールしている。再生医療や組織工学の目覚ましい発展のなかで、体外で細胞を培養する技術の重要性はますます大きくなっている。マイクロ流体デバイスでは、細胞のサイズと同等あるいはさらに微小な構造物を設計することにより、体内に近い微小環境を再現することが期待されている。ここでは、①卵管・子宮内環境をモデルとしたマウス受精卵培養デバイスと②がん転移の初期に重要とされる血管内皮細胞とがん細胞の相互作用について血管モデルデバイスを用いて評価した研究を紹介する。

哺乳動物胚・受精卵の体外培養技術は、不妊治療や優良家畜の効率的生産のために不可欠である。しかしながら現状では、たとえばマウス体内で発生した受精卵 (*in vivo* 胚) と比較して *in vitro* 胚の妊娠率は低い。卵管および子宮に模したマイクロチャンバーをデザインするというアイデアは2000年初頭にはすでに提示されていたが、実際に妊娠率が向上するには至っていなかった。Heoらは、マイクロ流路を介して培養液を還流しながらマウス受精卵を培養することにより、*in vivo* 胚と同等の高品質受精卵が得られたと報告している¹⁾。図1は彼らの設計したマウス受精卵培養デバイスの概略図である。直径500 μm の底面をもつウェルに高さ30 μm 、幅400 μm の流路が連結されている。受精卵サンプルは、流路高さに比べ充分大きいのでウェルに保持される。マイクロ流路はpolydimethylsiloxane (PDMS) 製であり、培地の蒸発および浸透圧変化を防ぐためにparlylene層が付与されている。流速は、3本のピンで流路を押し付けることによる蠕動運動で制御する。平均速度17.9 nl/minにて培地還流操作を10秒間隔で加え、1細胞期胚から胚盤胞になるまで96時間連続培養した。同様に、48時間還流培養したのち、流れを停止して48時間培養する条件を検討した。その結果、還流培養の時間が長くなるほど発生速度と受精卵1個あたりの細胞数が向上し、受精卵移植後の妊娠率の成績も良好であった。一方、有限要素法に基づく流速シミュレーションの結果から、受精卵から産生される上皮成長因子などの自己分泌性成長因子、アンモ

ニアなどの老廃物の分布が、還流培養条件では流れを停止した条件と大きく異なることが確認できた。このように、流路培養系では、*in vivo* 胚の系と同等の妊娠率が得られたという結果にとどまらず、物質収支や流れのモデリングにより微小環境が再現されているか検証することが重要となる。

Songらは、血管近傍の微小環境をマイクロ流路により再構築し、血管内皮細胞と乳がん細胞の相互作用を評価した²⁾。体内では、ケモカインにより内皮細胞の機能が変化し白血球の遊走やがん細胞の転移と大きく関わっていることが知られている。血管モデル流路は孔径400 nmのポリエステル製多孔質膜で隔てられた上部および下部のPDMS流路からなる(図2)。上部流路にはヒト血管内皮細胞がシート状に培養されている。下部流路2からケモカインCXCL12/stromal cell-derived factor 1を導入し内皮細胞の活性化を促す。ケモカインを含まない培地を下部流路1に導入し対照実験とした。乳がん細胞を上部流路で還流し、内皮細胞がケモカイン依存的に乳がん細胞の接着を促進する様子を観測することができた。また、がん細胞と内皮細胞の両方でケモカイン受容体の発現が上昇した。本研究は、種類の異なる細胞間の相互作用を観測している点が大変興味深い。

以上紹介してきたとおり、マイクロ流体デバイスをはじめとする微細加工技術を利用して体内の微小環境を再現する試みは今後も大きく発展することが期待できる。とくに流路デバイスにおける二層構造は細胞-細胞間相互作用や化学物質の局所投与など広い応用が可能である³⁾。デバイスのデザインに加えて、分子レベルでの細胞機能評価法や1細胞レベルでの数理モデルに基づく解析手法の開発が今後の課題であると考えられる。

- 1) Heo, Y. S. *et al.*: *Hum. Reprod.*, **25**, 613 (2010).
- 2) Song, J. W. *et al.*: *PLoS One*, **4**, e5756 (2009).
- 3) Kimura, H. *et al.*: *IEEE Trans. Nanobioscience*, **8**, 318 (2009).

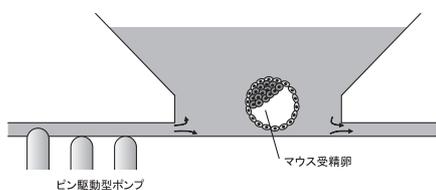


図1. 受精卵培養デバイス

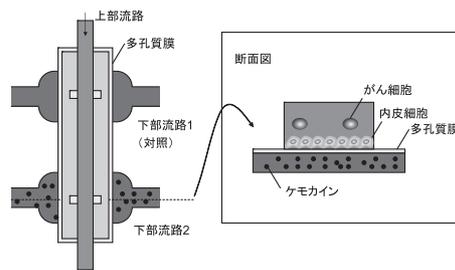


図2. 血管モデルデバイス