

生体外で生体応答を再現する

清水 一憲

医薬品や化粧品、ナノマテリアルなどの有効性・安全性評価のためにさまざまな動物実験が行われているが、動物愛護の観点から、これらを減らすことが望まれている。ここでは動物実験代替法として期待される、MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) を利用した細胞培養技術について紹介する。

現在、動物実験代替法として細胞培養実験が広く行われている。細胞をマルチウェルプレートやディッシュ、フラスコなどの平面基板上で培養し、試験物質に接触させて、その影響を観察するという手法が一般的である。しかし細胞を平面培養すると本来持っているはずの組織・臓器特異的な性質を失うことが多いため、生体応答を正確に反映しているとは限らない。そこで、細胞を立体的に培養する手法 (スフェロイド培養や細胞外マトリクスゲル包埋培養) も行われているが、それでも十分ではない。なぜなら組織・臓器では何種類もの細胞が芸術的ともいえる立体配置をとっており、さらにそれらの細胞に対してせん断や伸展、圧縮といったさまざまな物理的な刺激が複合的に加わっているからである。こうした複雑で動的な細胞周囲の微小環境を生体外でうまく再現することで培養細胞に本来の組織・臓器特異的な性質を発揮させ、生体応答をより正確に再現することができると思われる。

近年、MEMS技術を用いて製作した細胞培養用マイクロ流体デバイスにより、複雑で動的な細胞周囲の微小環境を生体外で再現することが可能になりつつある。このような組織・臓器の機能を再現したデバイスは“tissue/organ on a chip” と呼ばれる。その中で現在のところ最もエレガントなシステムであると思われるのが、米国ハーバード大学のProf. Ingberのグループが開発した肺を再現したデバイスである¹⁾。

彼らはマイクロデバイス内で、肺胞上皮細胞と血管内皮細胞を共培養し、「細胞-細胞間コミュニケーション」と「呼吸により細胞へ加わる物理的な刺激」を見事に再現した。図1は彼らが製作したマイクロデバイスの断面図である。3本のマイクロ流路が並んでおり、中央の流路がポリジメチルシロキサン (PDMS) 製多孔性薄膜で区切られている。その薄膜の上面で肺胞上皮細胞、下面で血管内皮細胞を培養する。両側のマイクロ流路を陰圧にするとマイクロ流路自体が変形し薄膜が伸展される。これにより薄膜上下面に培養した2種類の細胞に伸展刺激が加わるというものである。彼らはまず、このデバイスが炎症性サイトカインや微生物に対する肺の生体応答を再現できることを示した。すなわち2種類の細胞を伸展培養しながら肺胞上皮細胞側マイクロ流路にTNF- α や大腸菌を加えると、血管内皮細胞がICAM-1を高発現し、血管内皮細胞側マイクロ流路に流した好中球が血管内皮細胞へ接着することを示した。さらに彼らは、この

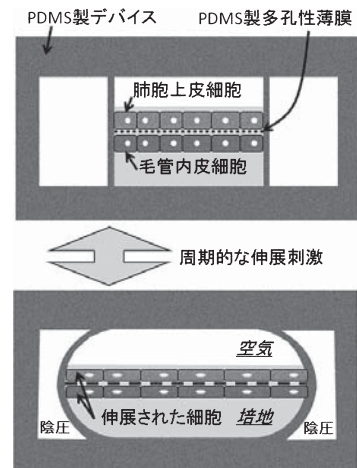


図1. 肺を再現したデバイスの断面図

デバイスをさまざまなナノ粒子の生体影響評価に応用した。すなわち肺胞上皮細胞側マイクロ流路に、ある種のナノ粒子を加えた場合、伸展刺激を加えて培養した場合にのみ、細胞のナノ粒子取り込み量が向上し、血管内皮細胞側マイクロ流路へのナノ粒子の移行が亢進されることを明らかにした。この結果は、実際のマウス肺を使用した実験結果と同様であった。

このように彼らは複数種の細胞をデバイス内でうまく配置し、組織・臓器特異的な物理刺激を再現することで、生体外で肺機能を再現することに成功した。他にも腎臓²⁾ や気管³⁾ を再現したデバイスなどが開発されており、今後の“tissue/organ on a chip” 技術の発展に期待が膨らむ。また一方で“animal/human on a chip” と呼ばれる、ひとつの組織・臓器の機能ではなく、生体システム全体を再現することを目指した研究開発も進んでいる⁴⁻⁶⁾。たとえば、腸、肝臓、ガン細胞を培養したマイクロチャンバー同士をマイクロ流路で縦列につないだデバイスを用いると経口投与薬の体内動態を考慮したドラッグスクリーニングが可能であることが報告されている⁴⁾。今後、こうした技術の研究開発がさらに進み、細胞工学やティッシュエンジニアリングなどの成果と融合することで、生体外でより正確に生体応答を再現することが可能になってくるだろう。

- 1) Huh, D. et al.: *Science*, **328**, 1662 (2010).
- 2) Jang, K. J. et al.: *Lab on a Chip*, **10**, 36 (2010).
- 3) Tavana, H. et al.: *Langmuir*, **26**, 3744 (2010).
- 4) Imura, Y. et al.: *Anal. Chem.*, **82**, 9983 (2010).
- 5) Sung, J. H. et al.: *Lab on a Chip*, **10**, 446 (2010).
- 6) Sonntag, F. et al.: *J. Biotechnol.*, **148**, 70 (2010).