

204 細胞分化の空間制御に資するマイクロデバイスの創出	梨本 裕司
------------------------------	-------

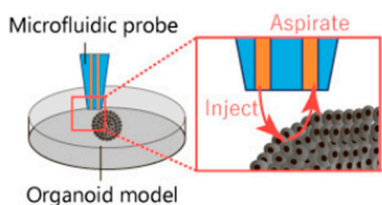
【目的】 ヒト幹細胞から誘導されるミニ臓器モデル（オルガノイド）は、現在、主に空間的に均一な刺激を逐次的に与えることで作製されている。しかし、実際の組織の発生過程は、空間的、時間的に複雑なシグナルが統合された現象であるため、均質な刺激のみでは、発生過程の再現、検証には不十分である。このため、発生の理解や検証には、時空間的な細胞へのシグナルを制御するためのツールが必要となる。マイクロ流体デバイスによる局所刺激は、新たな分化誘導ツールとして有望であるが、閉鎖された培養系では、適用可能なオルガノイドの大きさに制限があった。そこで本研究では探針型のマイクロ流体デバイス（マイクロ流体プローブ、MFP）を用い、数 mm 程度のオルガノイドまでを対象とする、空間的な分化刺激の付与システムの開発検討を行った。

【方法】 探針の位置制御には、走査型イオンコンダクタンス顕微鏡（SICM）で利用されている、イオン電流を用いたフィードバックシステムを採用した。マイクロ流体プローブには、ガラス管の内壁が隔壁で仕切られた、θ 型のガラス管を用いた。一方の管路から、薬液による刺激を行い、他方の管路から吸引を行うことで、局所的な刺激が可能であるか試みた。基礎的な検討は、市販の細胞（ヒト乳がん細胞、MCF-7、ヒト肺線維芽細胞）を用いて行った。最終的な対象としては、ヒト胚性幹細胞（hES 細胞）を材料とするオルガノイドを用いることを見据え、基本的な培養システムの立ち上げと、分化誘導システムの検証を行った。

【結果】 位置制御の精度を示すために、イオン電流値を基に探針のポジショニングを行い、胚様体と同様の形状を有する細胞凝集体（スフェロイド）の形状イメージを取得可能であるか、確認を行った。その結果、スフェロイドの形状と合致する形状イメージを取得することが可能であった。MFP によるスフェロイドの局所刺激を確認する目的で、導入口より、細胞核の染色試薬である Hoechst 33342 を 100 μg/mL の濃度で導入を行ったところ、細胞核の蛍光シグナルが、MFP を配置した位置に局在していることを確認した。また、hES 細胞の利用に関する倫理承認を得、hES 細胞の培養を介するとともに、胚様体（EB）を用いた分化モデルの検討を行ったところ、BMP-4 の刺激による EB の分化の進行を確認できた。以上、イオン電流を用いた、胚様体様の大きさのサンプルを対象とした探針の位置制御システム、MFP を用いた局所的な薬剤刺激システムの基礎的な確認に成功するとともに、測定対象となる hES 細胞の培養環境の立ち上げに成功した。今後、検討した距離制御システム、局所薬剤刺激システムを用い、hES 細胞から誘導するオルガノイドモデルの分化制御を継続的に検討していく。

マイクロ流体プローブを用いた分化刺激の局所制御

(a) 概念図



(b) 結果の概要

