

Banyu Foundation Research Grant 2012—女性研究者支援—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	日本女子大学
氏 名	佐藤 香枝
研究テーマ	医工連携による感染症研究のためのマイクロ血管モデルの構築

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

目的

感染症領域研究において、病態の基礎となる現象のひとつは、血管内皮障害と透過性亢進である。病態は難治なものも多く、治療法に至る機構は明らかになっていない。これまで、感染症における病態の研究は、動物を用いた個体レベルでの検討と単一種の培養細胞から得た詳細な解析の2つのアプローチを中心に進められてきた。しかし、動物実験では細胞レベルの解析は難しく、一方、血管内皮細胞の単層培養系では実際に人体の中にある肺胞や周囲血管のように複数の組織と血液の流れのような物理環境がある上で起こる様々な生体反応を再現したものではなく、この2つの手法だけでは解明が困難なことが示されている。そのため、動物で得た知見を細胞レベルで説明できるような細胞培養実験法の開発が必要である。現在の細胞の単層培養系で不足しているのは、血流を模擬する流れ刺激、間質といった周囲の環境、およびその組織を構成する複数の細胞の同士の影響が考えられる。そこで申請者は、マイクロ流体デバイスを用いることでこの問題を解決するモデルを構築することを着想した。

結果および考察

透過試験用デバイス作製：透過性試験用デバイスを間質擬似材料であるハイドロゲルとポリジメチルシロキサンを材料として作製した。孔径 1 μm の透過膜またはゲルをパターンニングすることで透過試験の可能なデバイスとした。

透過性試験の実証：構築した血管デバイスで蛍光標識デキストランおよび Lucifer Yellow をトレーサー物質として用いての透過性試験を行った。透過性亢進は、血管流路に導入した蛍光物質が血管外に漏出した割合を双方の蛍光強度比を算出して評価している。連続流や拍動流を印加した状態で培養された細胞は、静置状態で培養された細胞よりも物質透過が起こりにくく、細胞間密着結合が強固である可能性が示唆された。このデバイスに、血管透過性亢進物質であるヒスタミンを加えたところ、透過性が亢進し、生体内と同様の反応を示すことが検証できた。ヒスタミン刺激を与えてから 30 分後に、細胞間密着結合を形成する Claudin-5 と VE-cadherin の免疫染色をしたところ、刺激するヒスタミン濃度に応じて、これらの密着結合が失われていることが示された。したがって、生体での反応と同じようにヒスタミン刺激により細胞間隙が開き、透過性が亢進したと考えられる。

マイクロ血管デバイスによる血管障害の評価：血管内皮細胞を培養した透過試験用マイクロデバイスを用いる。感染研の阿戸が準備した血管障害あるいは血流障害を起こす病原体である劇症型溶血性レンサ球菌の培養上清を血管内皮細胞が培養された流路へ導入し、細胞毒性を評価したところ、培養上清の 5 倍希釈液で一晩刺激した場合も、変化は起こらなかった。現在、新たに調製した菌の培養上清を用いて繰り返し実験を行っている。

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2014年10月	マイクロタス国際会議 2014 K. Sato, M. Sato and M. Hirai, "Microfluidic perfusion culture for vascular biology"
2	2014年10月	第4回 CSJ 化学フェスタ 熊田 愛・佐藤香枝 間質組み込み血管マイクロデバイスの開発
3	2014年9月	日本分析化学会第63年会 佐藤香枝・佐藤美和 マイクロ血管・リンパ管実験室の構築
4	2014年5月	化学とマイクロナノシステム学会 CHEMINAS 第29回研究会 熊田愛・佐藤香枝 ナノ薬剤透過試験のための間質組み込みマイクロデバイスの開発
5	2013年10月	マイクロタス国際会議 2013 M. Sato, N. Sasaki, K. Sato, S. Hirakawa, and <u>K. Sato</u> "Development of an ex-vivo lymphatic vascular model"
6	2013年10月	第3回 CSJ 化学フェスタ(優秀ポスター賞受賞) 血管・リンパ管マイクロデバイスの構築と特性評価 佐藤美和・佐々木直樹・平川聡史・佐藤香枝
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		