

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「生命動態の理解と制御のための
基盤技術の創出」
研究課題「からだの外でかたちを育てる」

研究終了報告書

研究期間 2014年10月～2020年3月

研究代表者：三浦 岳
(九州大学大学院医学研究院、教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

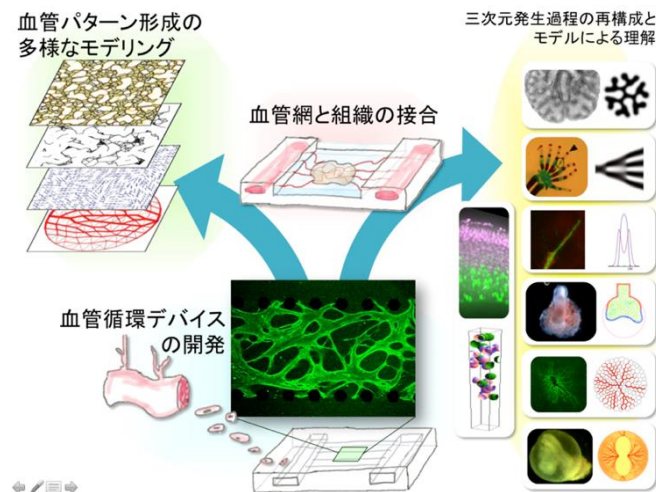
本研究ではまず、工学系の技術を用いてデバイス内で血管内皮細胞に自発的に血管網を作成させ、そこで溶液を様々な条件で灌流させるシステムを作った。このシステムを用いて、まず長期的な培地灌流によって引き起こされる血管網のリモデリングを世界で初めて完全に *in vitro* 系で再現した。さらに、この系をスフェロイドや腎臓の発生系に応用し、血管と接続された構造体を *in vitro* で自己組織化によって再構成する系を開発している。将来的に、様々な生物のパターン形成現象の数理モデルを実験的に検証するための基盤を整備することを目指している。

まず我々のグループのうち、京都大学横川隆司、梨本裕司(現東北大学)と熊本大学西山功一が共同で、マイクロデバイスにヒト肺線維芽細胞を用いたスフェロイドを共培養し、血管網を接続して培地を循環させるシステムを構築した。この結果は、現在研究が盛んな腫瘍スフェロイドやオルガノイド培養系の結果と将来的に結びつけることを目標としており、応用の可能性が広い研究である。また、九州大学の三浦岳は、マイクロデバイスの送液系がない通常の生物学の研究室でもこのような灌流を用いた実験系を簡便に再現できる実験手法を開発した。

また、芝浦工業大学の二井信行と高野温(現 Singapore University of Technology)らは、点字ディスプレイを用いた駆動系を活用して、培地をデバイス内に長期間灌流させ、血流による血管網のリモデリングを世界で初めて完全に *in vitro* で再現した。これは、生理学の世界で古くから研究されている血流によるリモデリングを内皮細胞だけの働きで再現した新規性の高い研究である。また、このリモデリング過程の数理モデル化を九州大学の三浦と熊本大学の小出眞路がミニマルな形でモデル化し、数理解析によってその挙動を予測することに成功した。

さらに、熊本大学(IRCMS)の西山、花田三四郎と熊本大学(発生研)の西中村隆一が共同で、ヒト iPS 細胞由来の腎オルガノイドと自己組織化血管網とを接続し、血管化された糸球体構造を *in vitro* で再構成する系を開発している。これによって、灌流機能がなければ実現できなかった、機能を有する組織構造の完全な再構成の達成に向けて研究を進めている。

これらの技術を生物のパターン形成と結びつけるため、九州大学の三浦は種々の生物のパターン形成現象に関する数理モデル化を行い、網膜血管のリモデリング過程、大脳皮質のエレベーター運動、神経スフェロイド内の細胞選別現象などで数理モデルを確立している。これらを今回開発した技術と繋げることで、本来の目的である三次元構造形成の理解へと研究を進めていくことが可能となった。



(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1.

概要:

マイクロデバイス内での灌流可能な血管網の形成において、ランダムな突起形成によるネットワーク構造形成という、血管内皮細胞の全く新しいパターン形成の様式を発見し、数理モデル化によってその挙動を理解するとともに実際のパターン形成を再現できた。

2.

概要:

灌流可能な自己組織化血管網に長期的な灌流を行うことにより、血流によるリモデリング過程を世界で初めて人工的に再現した。また、このリモデリング過程に関してミニマルな数理モデルをたて、培養系で観測された血管径の刈り込み現象を数値計算で再現し、数理解析で挙動を理解できた。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1.

概要:

灌流可能な血管網をスフェロイド内の自己組織化血管網と接続して培養するシステムを世界で初めて開発した。この研究は現在盛んに行われているオルガノイド研究への応用が期待できる。

2.

概要:

灌流可能な腫瘍スフェロイドをマイクロデバイス内の自己組織化血管網に接続し、血管付き腫瘍の培養システムを開発した。

<代表的な論文>

Nashimoto Y, Hayashi T, Kunita I, Nakamasu A, Torisawa Y, Nakayama M, et al. Integrating perfusable vascular networks with a three-dimensional tissue in a microfluidic device. *Integr Biol.* 2017;9: 506-518. doi:10.1039/C7IB00024C

Sasaki D, Nakajima H, Yamaguchi Y, Yokokawa R, Ei S-II, Miura T. Mathematical modeling for meshwork formation of endothelial cells in fibrin gels. *J Theor Biol.* 2017;429: 95-104. doi:10.1016/j.jtbi.2017.06.012

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 三浦グループ

- ・研究代表者: 三浦 岳 (九州大学大学院医学研究院、教授)
- ・研究項目
 - ・プロジェクトの統括
 - ・パターン形成現象の数理モデル化と実験的検証

② 西山グループ

- ・主たる共同研究者: 西山 功一 (熊本大学国際先端医学研究機構、准教授)
- ・研究項目
 - ・血管の形態形成への流体力学的な因子の影響
 - ・自己組織化血管網とオルガノイドの接続と長期培養

③ 横川グループ

- ・主たる共同研究者: 横川隆司 (京都大学大学院工学研究科、教授)
- ・研究項目
 - ・マイクロデバイス内での自己組織化血管網の形成
 - ・自己組織化血管網とスフェロイドの接続と長期培養

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

研究代表者および主たる研究者は、できるだけ研究成果をオープンにすることと、数理モデリングに関しては頼まれた仕事は必ず受けることで共同研究者のネットワークを拡大してきた。以下に代表的な共同研究先を示す。

(1) マイクロデバイスの応用

- ヒト iPS 由来腎スフェロイドと自己組織化血管網の結合 (熊本大学 西中村隆一)
- 腫瘍細胞の転移能の検証 (金沢医大 清川悦子)
- グリオブラストーマ細胞と血管網の相互作用 (九州大学 秦暢宏)
- 腎スフェロイドと自己組織化血管網の結合 (山口大学 清木誠)

(2) 生命現象の数理モデリング

- ニューロスフェア内での細胞選別 (慶応大学 仲嶋一範)
- 大脳皮質発生のエレベーター運動 (名古屋大学 宮田卓樹)
- 気孔細胞の細胞増殖の制御 (Washington大学 鳥居啓子)
- 成長領域上での Turing パターン (金沢大学WPI 奥田覚)
- 細胞境界の細胞接着装置の構造形成 (生理研 古瀬幹夫)