

人工的に血管の付いた 組織をつくる

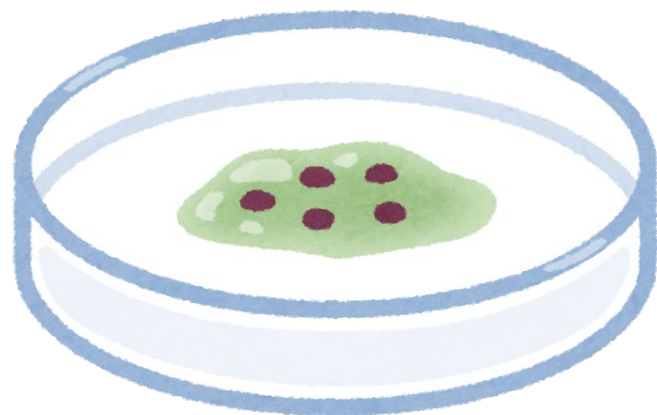
産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門
ステムセルバイオテクノロジー研究グループ
研究員 森 宣仁

2022年9月8日

技術分野の背景(1)

- 創薬では、非臨床試験で安全性や有効性を評価
 - 2次元培養細胞、動物が利用されている
 - 一長一短あり

2次元培養細胞



- ヒト細胞を用いた評価が可能
- 細胞の性質が生体と相違

動物



- 組織、臓器レベルでの評価が可能
- 種差の問題

人工組織の開発・利用が進展

2027年市場規模は3,200M\$(CAGR:11.3%)
(Grand View Research社レポート)

技術分野の背景(2)

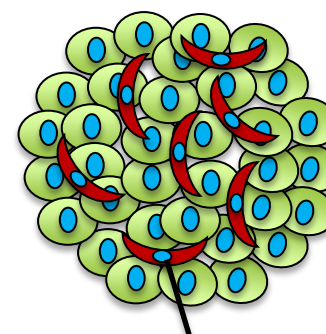
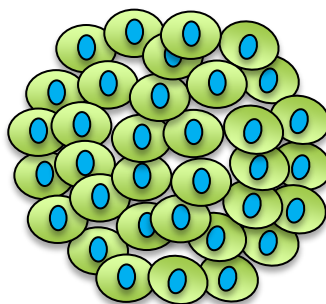
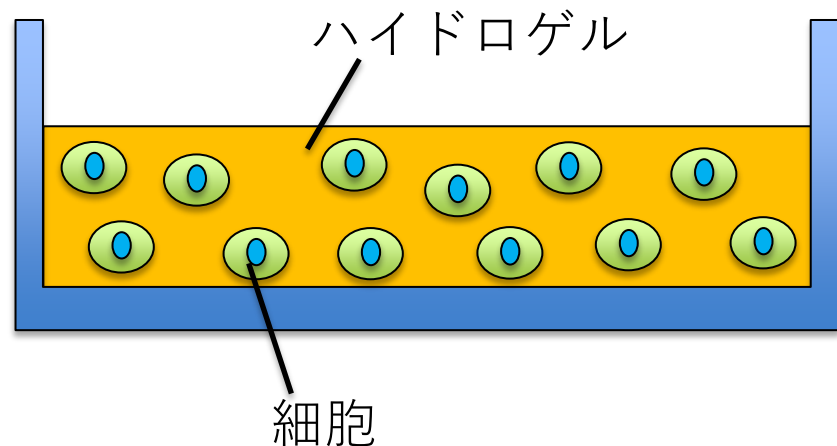
• 3次元組織（人工組織）

- － 定義：細胞を3次元的に組み立てた構造体
- － 種類：ハイドロゲル包埋、スフェロイド、オルガノイド
- － 特長：ヒト細胞を利用可、生体の組織に近い構造・機能

ハイドロゲル包埋培養

スフェロイド

オルガノイド/器官芽



ヘテロな細胞種、
生体組織に類似した構造



酸素・栄養供給、薬剤の注入・評価等のため
血管が必要不可欠

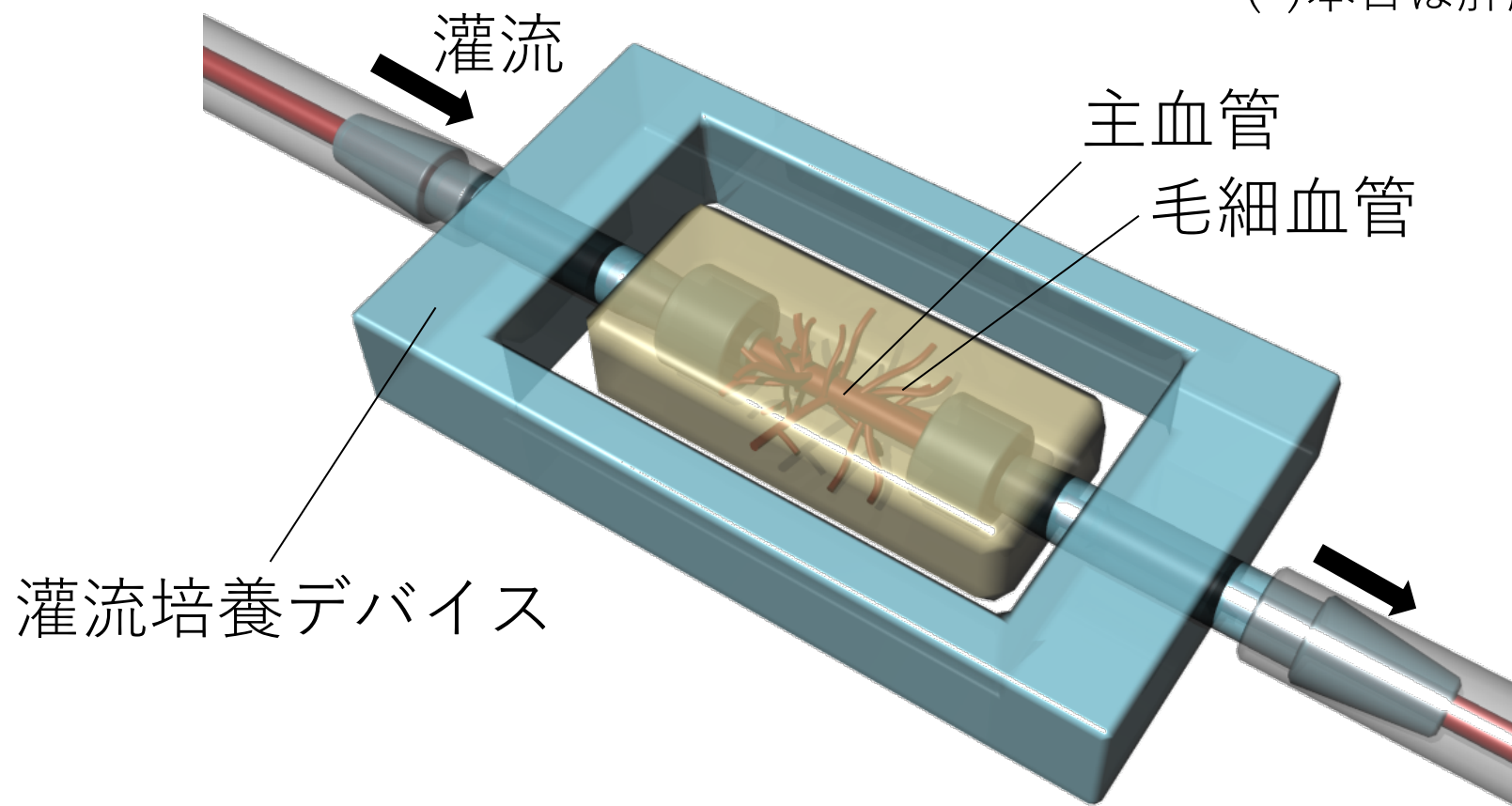
従来技術とその問題点

- 様々な血管構築法が開発されてきた
 - 鋳型を用いて主血管を作製する方法
 - 灌流可能
 - ×組織全体に密に張り巡らせることが困難
 - 細胞の自己組織化を利用して毛細血管構造を作製する方法
 - 組織全体に張り巡らせることが可能
 - ×送液困難
- 灌流可能な主血管と毛細血管の両方を構築するための手法は未確立
 - 組織内部での積極的な物質交換が困難
(酸素・栄養の供給、薬剤の注入・回収等)

新技術の特徴

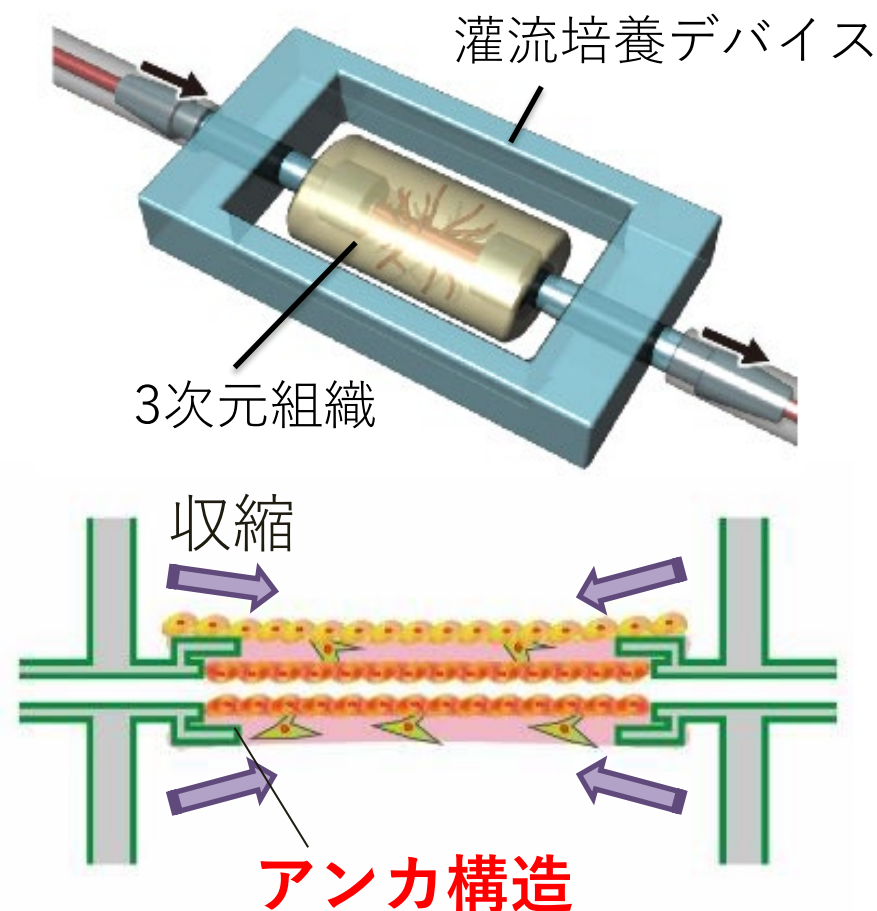
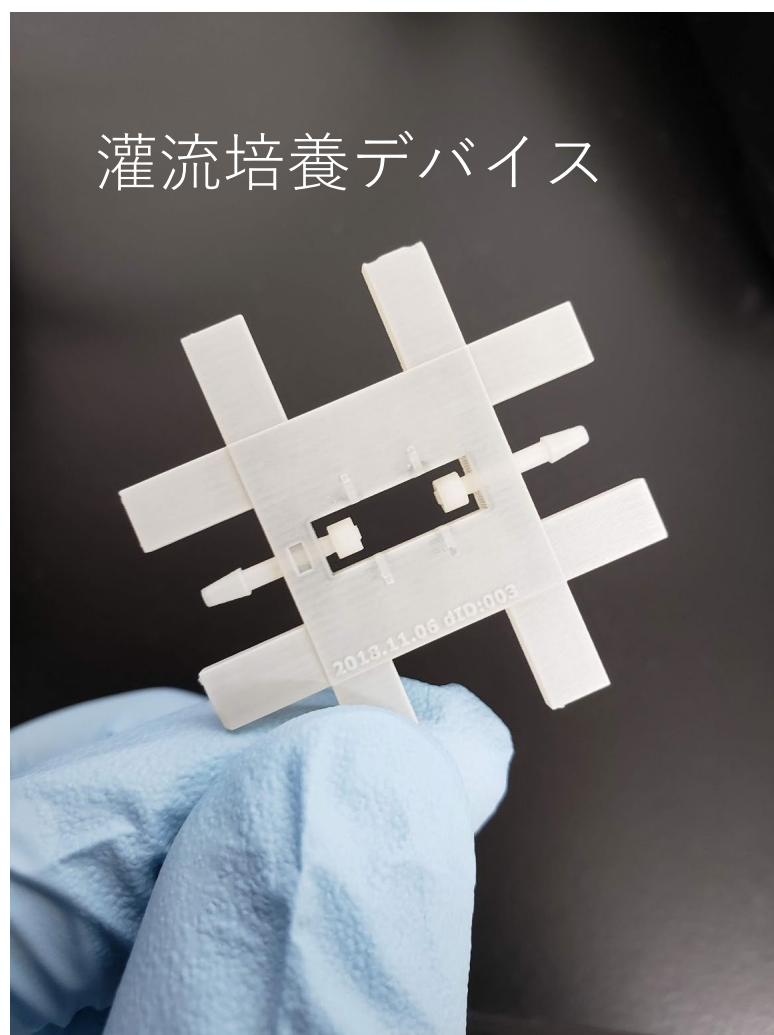
- 灌流可能な主血管と毛細血管の両方を備えた組織を構築できる灌流培養デバイス
- 肝臓、腫瘍、皮膚等の組織の構築実績*

(*)本日は肝臓、腫瘍のみご紹介



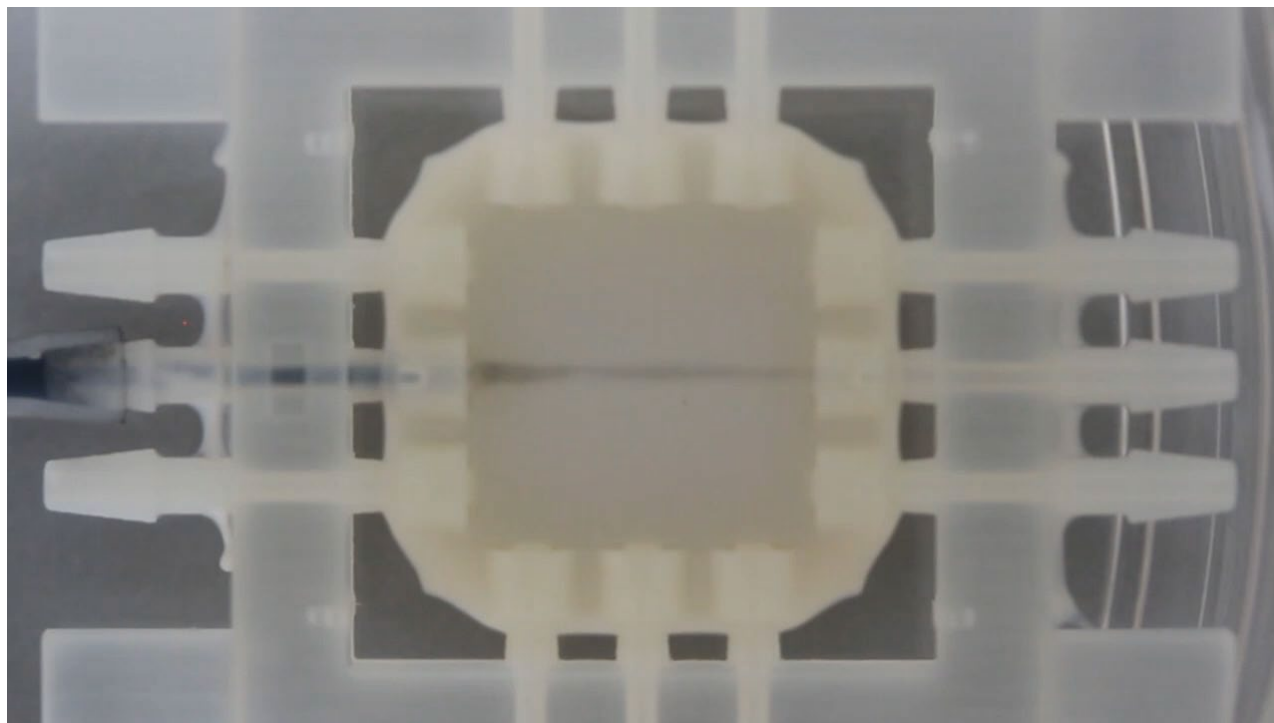
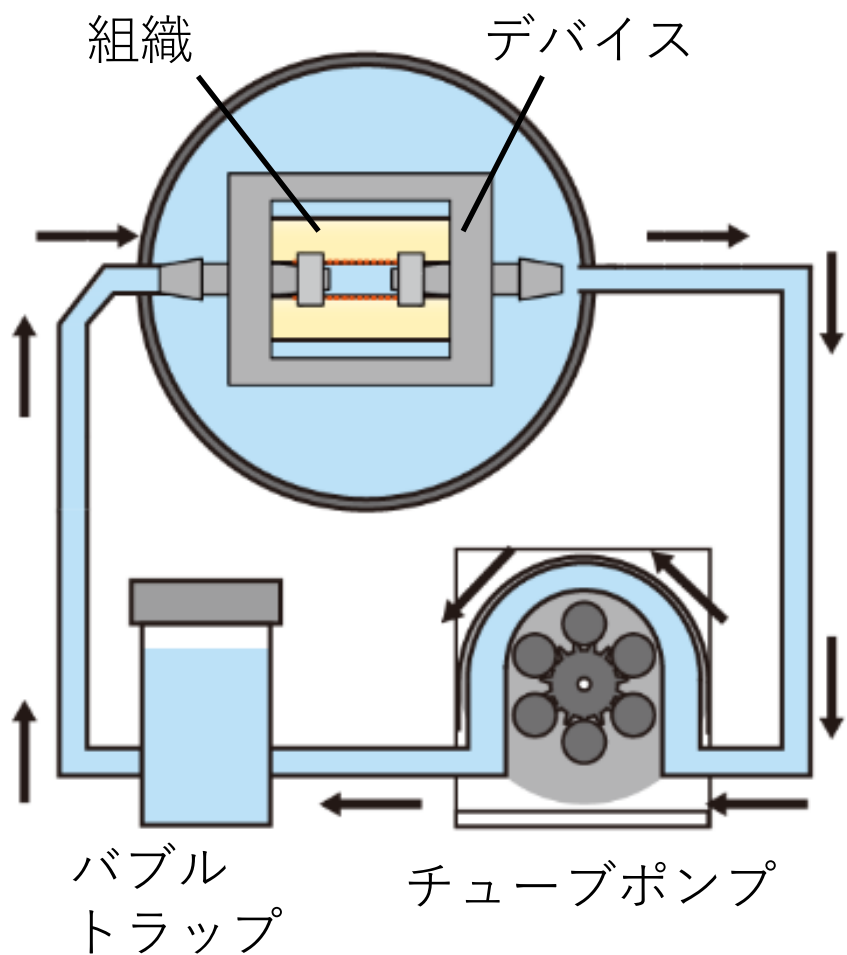
基盤技術：灌流培養デバイス

- 組織内の血管と送液ポンプのインタフェース
- 自己組織化により収縮する組織を把持する機能
 - 収縮により毛細血管形成や組織の高密度化が促進される



基盤技術：灌流培養デバイス

- チューブポンプによって灌流可能

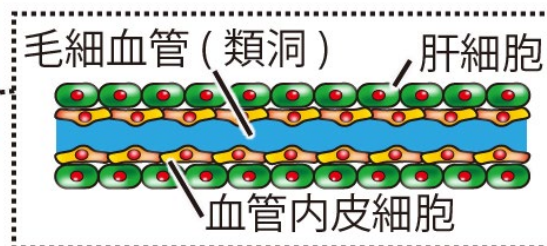
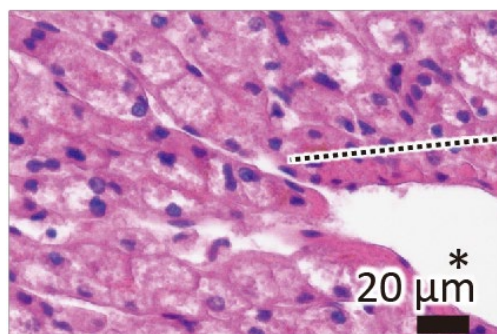
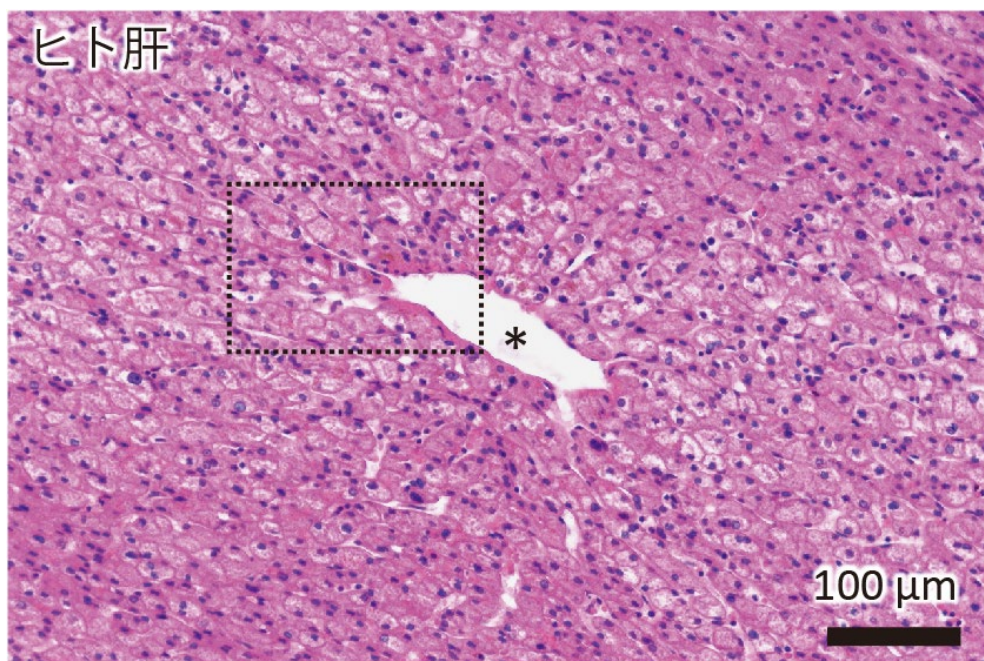


実例1：血管付き肝組織

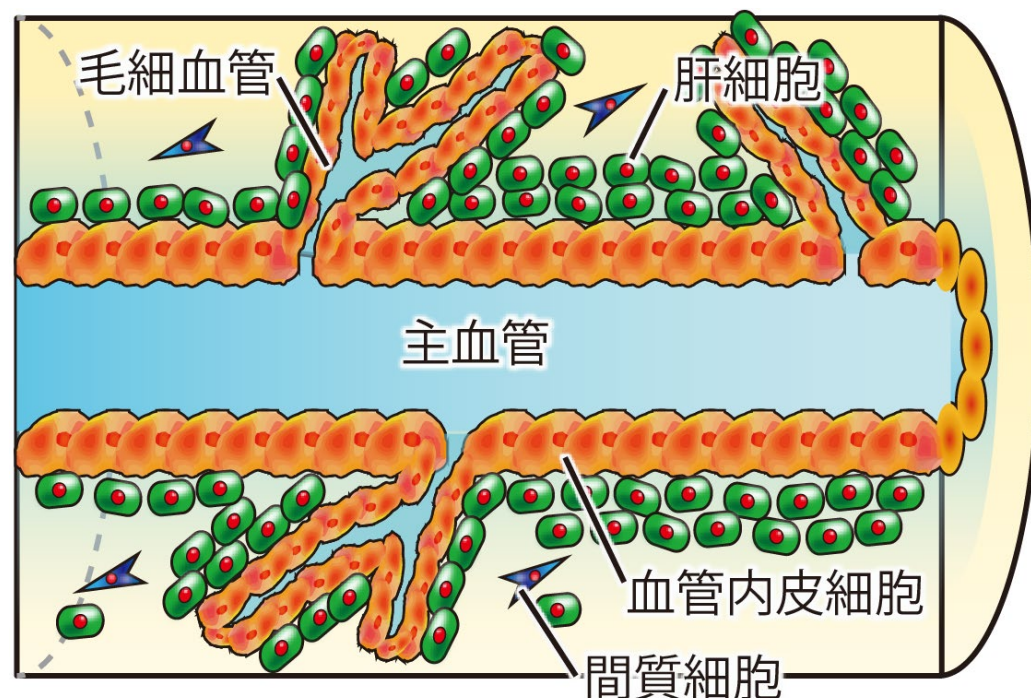
血管付き肝組織の概要

- 創薬において、肝臓は薬剤代謝に関与する重要な臓器
- ヒトの肝臓は大きな血管から分岐した類洞(毛細血管)と肝細胞が隣接
- 血管付き肝組織でこの構造を模倣することを目指した

ヒトの肝臓

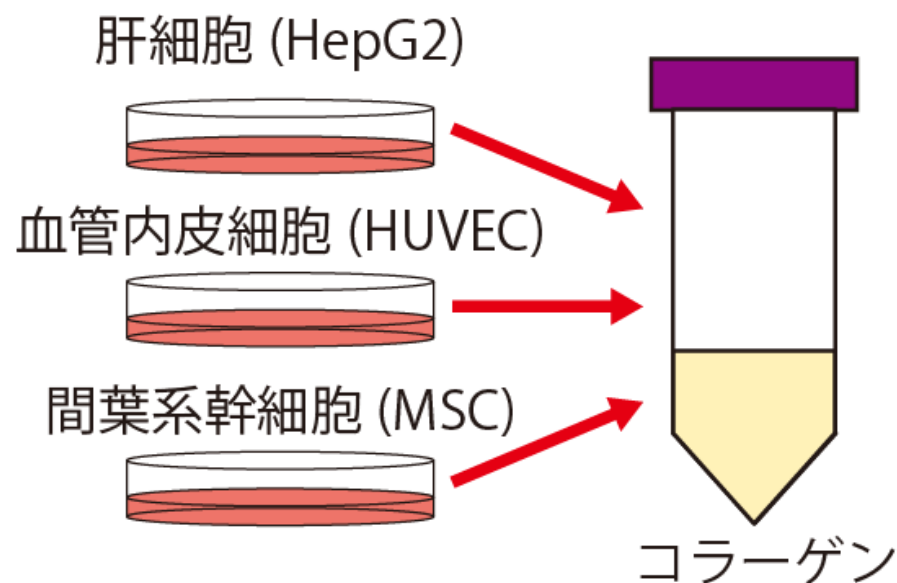


血管付き肝組織

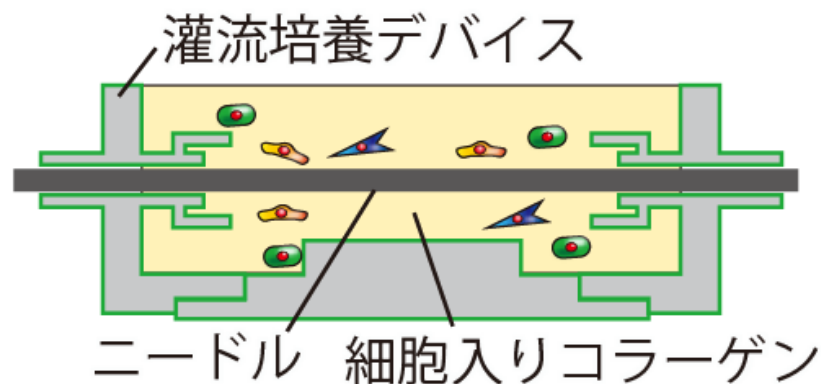


構築方法

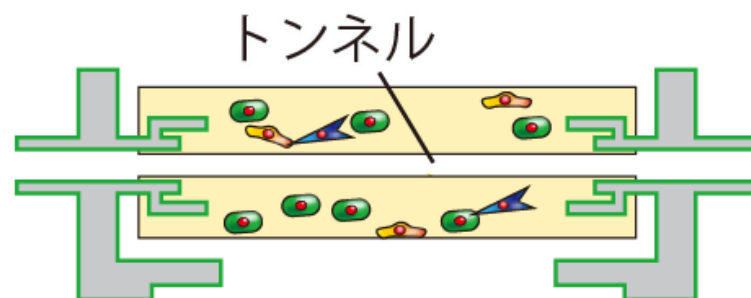
1. 細胞を培養皿で増やし、
コラーゲンと混ぜる



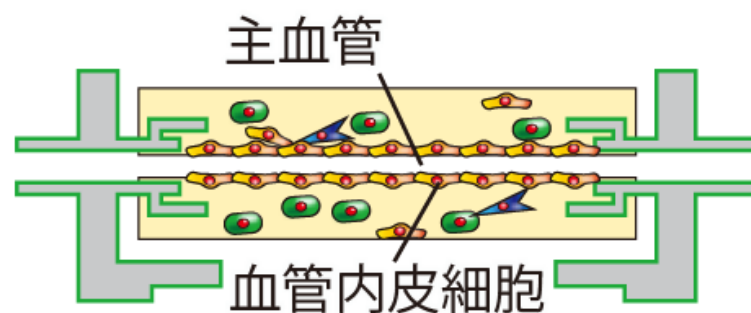
2. デバイスに入れて培養する



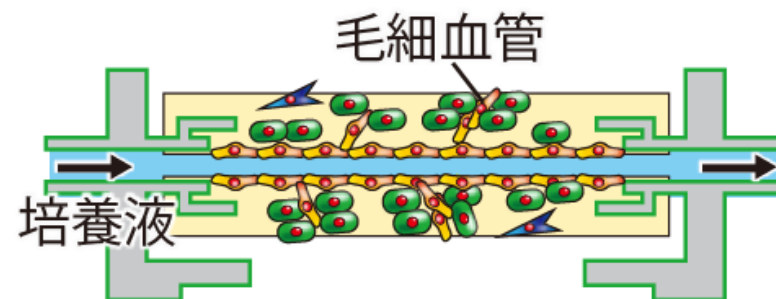
3. ニードルを引き抜いて
トンネルを作る



4. トンネルに血管内皮細胞を
注入して主血管を作る



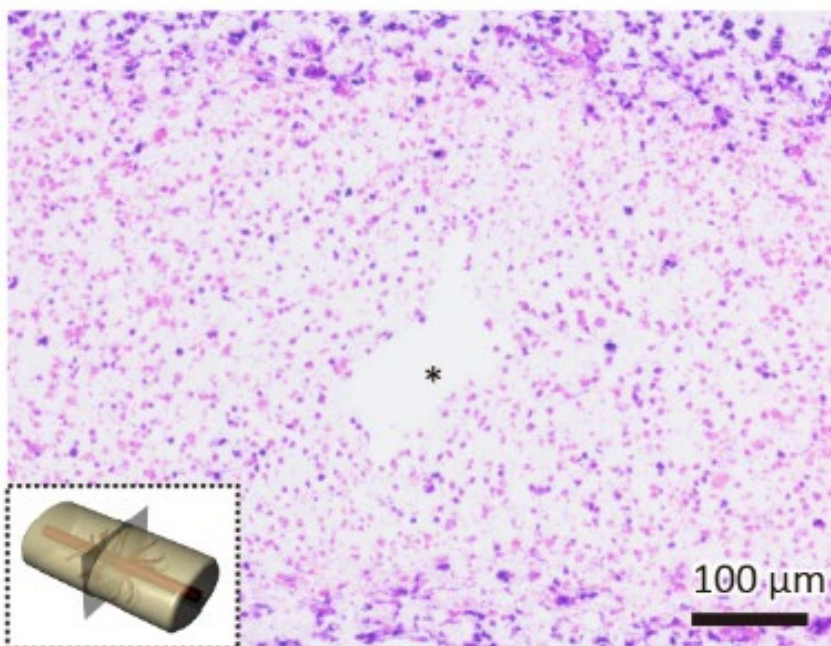
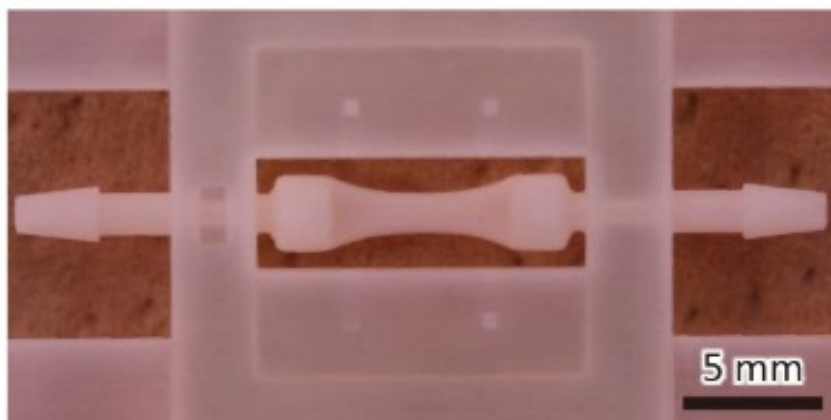
5. 培養液を流して培養する



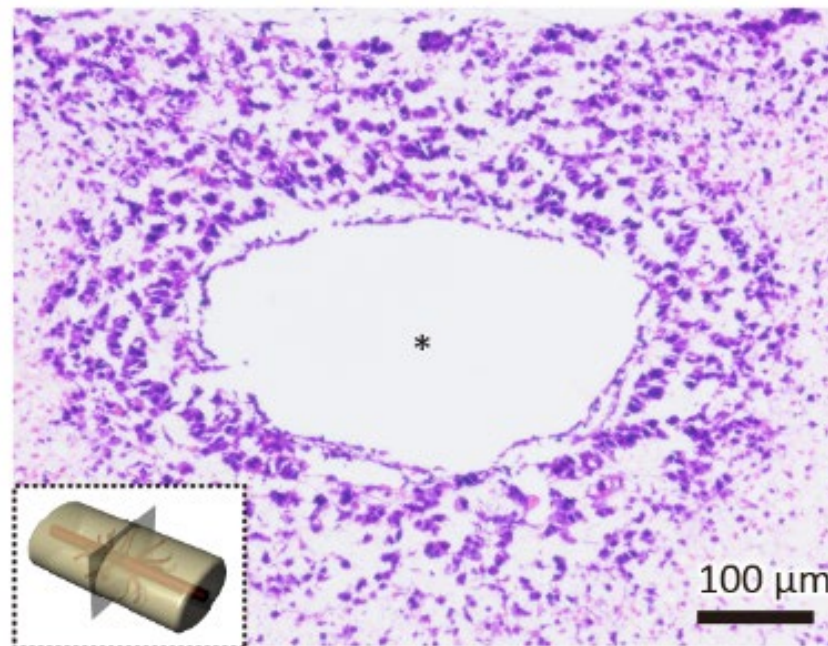
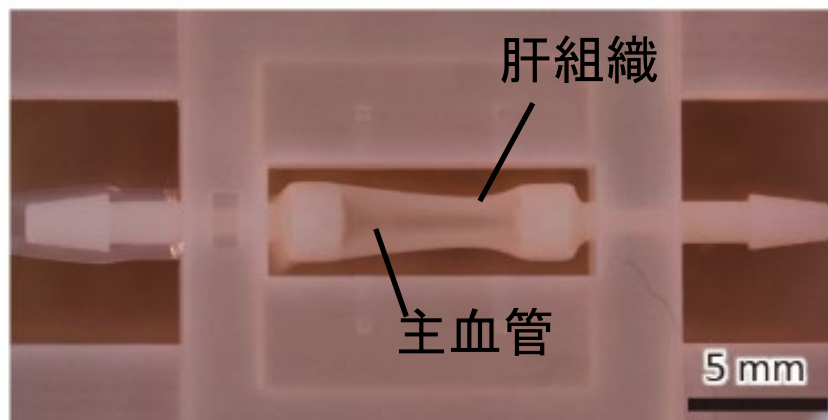
灌流による酸素・栄養供給

- HE染色により形態を評価
- 主血管を中心に高い細胞密度 → 酸素・栄養の供給

非灌流条件



灌流条件



毛細血管の形成

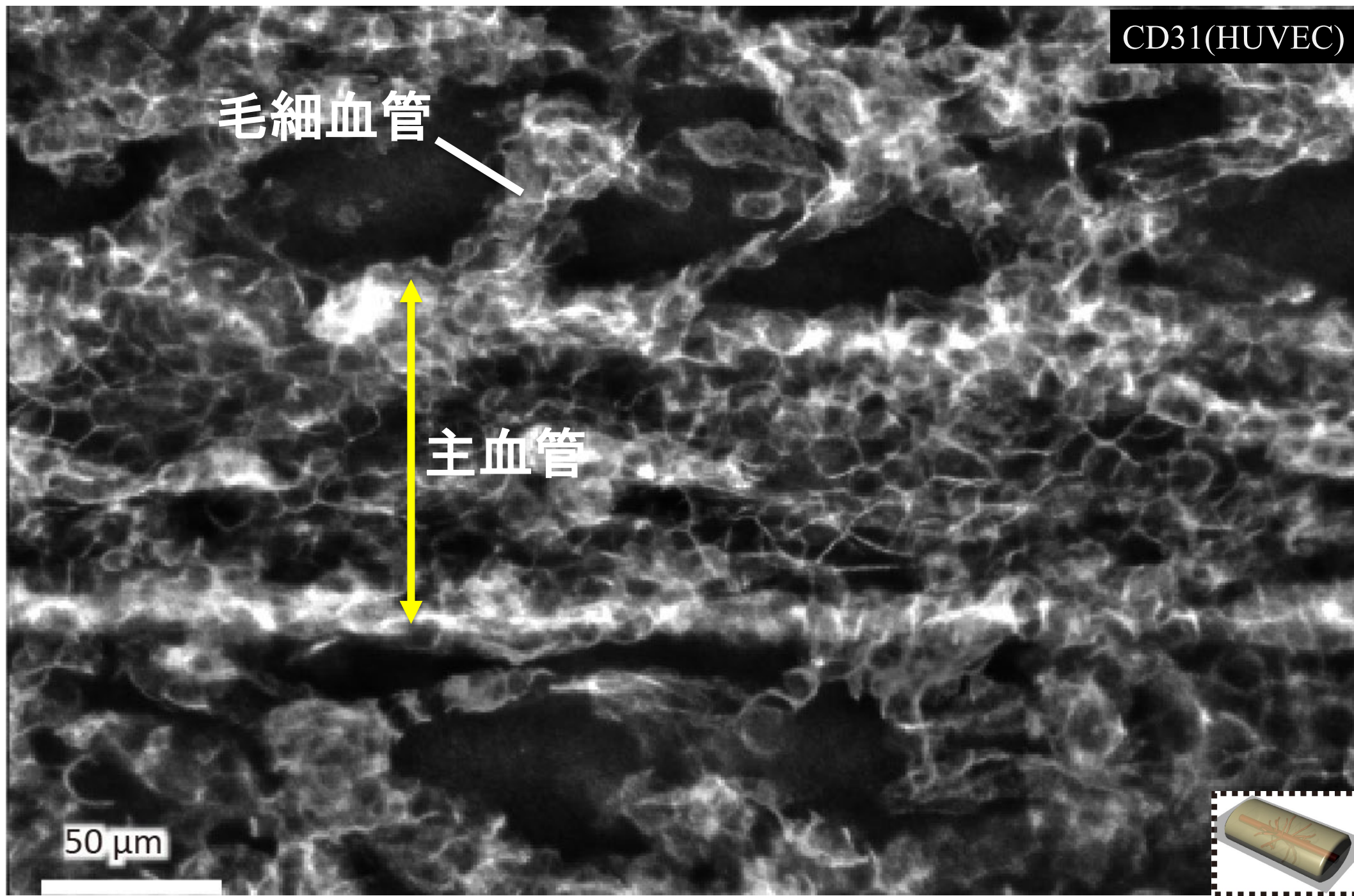
毛細血管
(密な肝細胞
の隙間を縫う
ような類洞様
構造)

Nuclei
CD31(HUVEC)

主血管

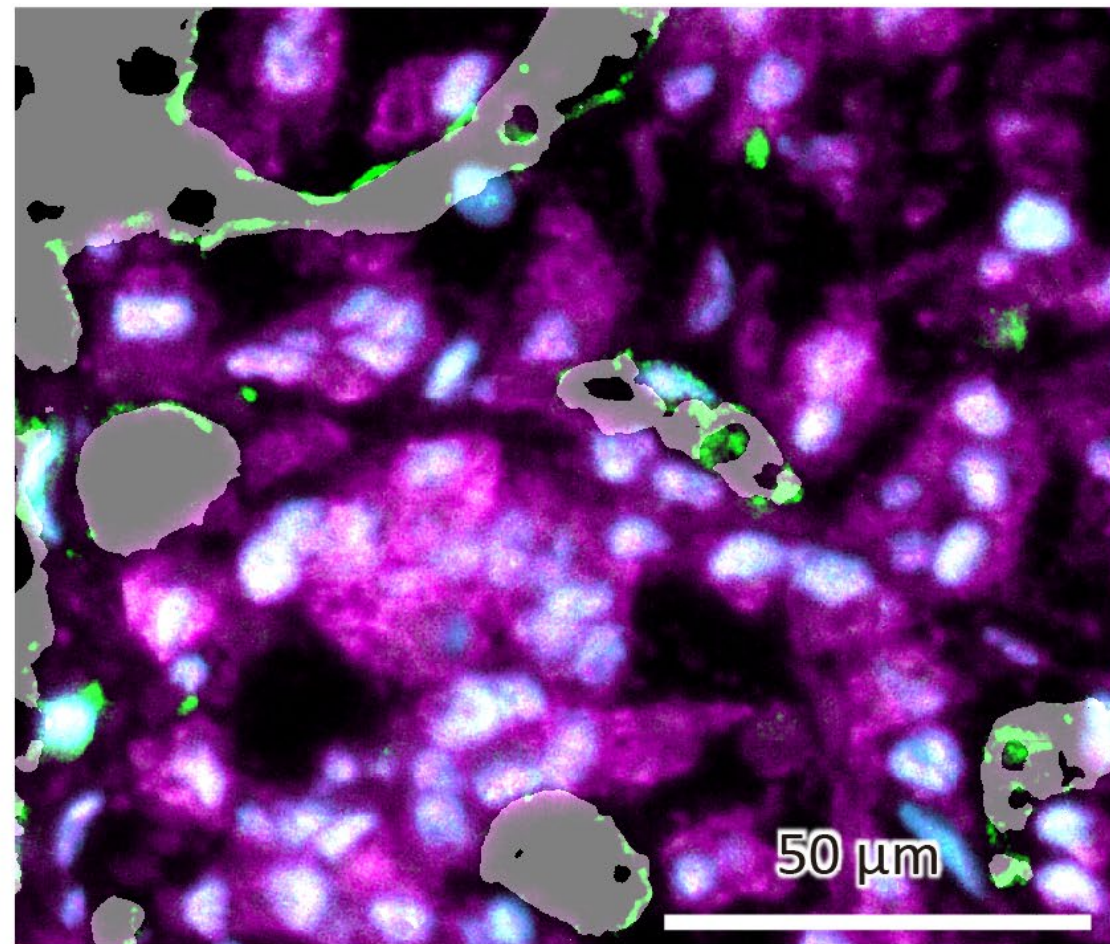
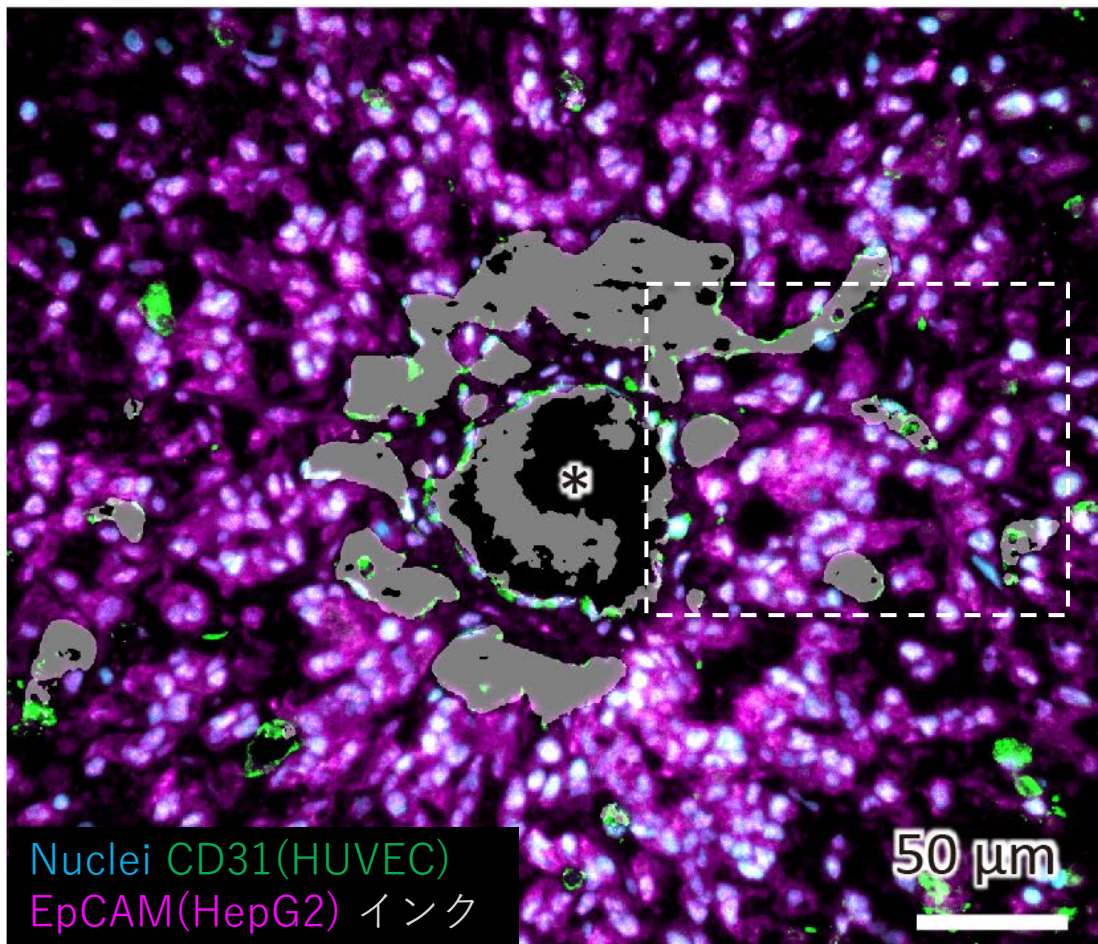
100 μ m

毛細血管の形成



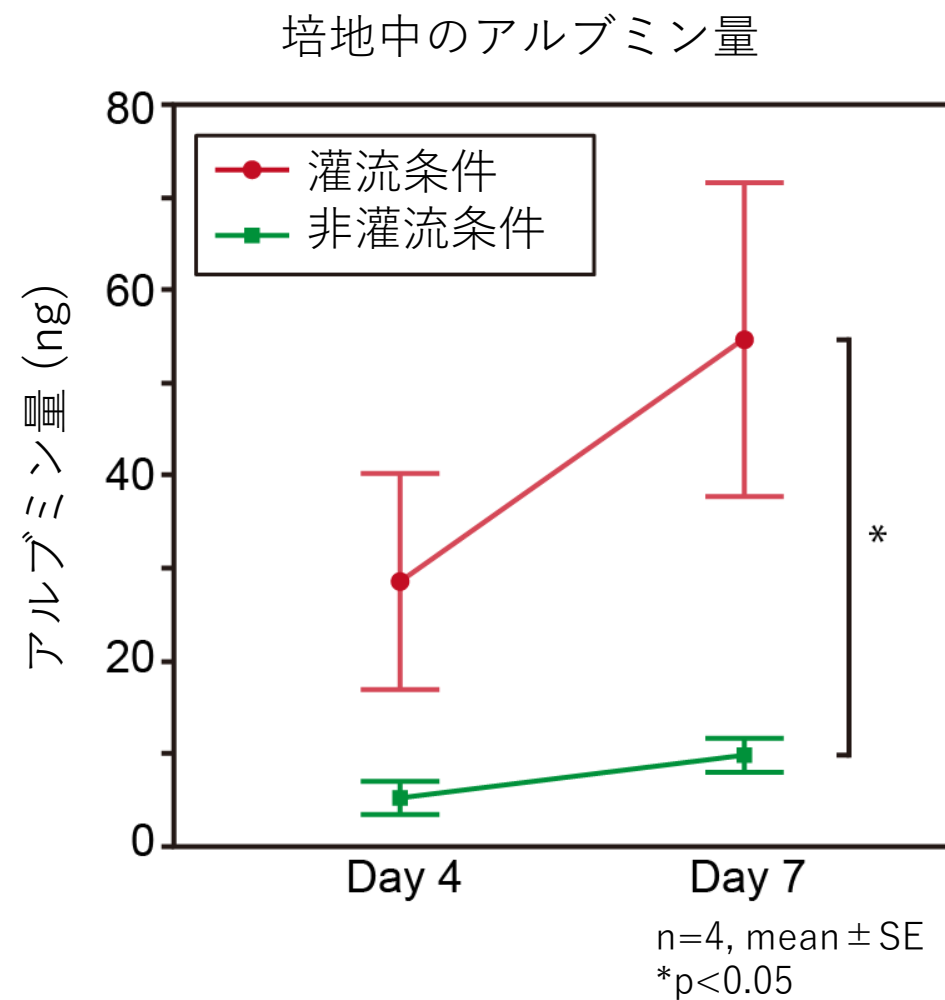
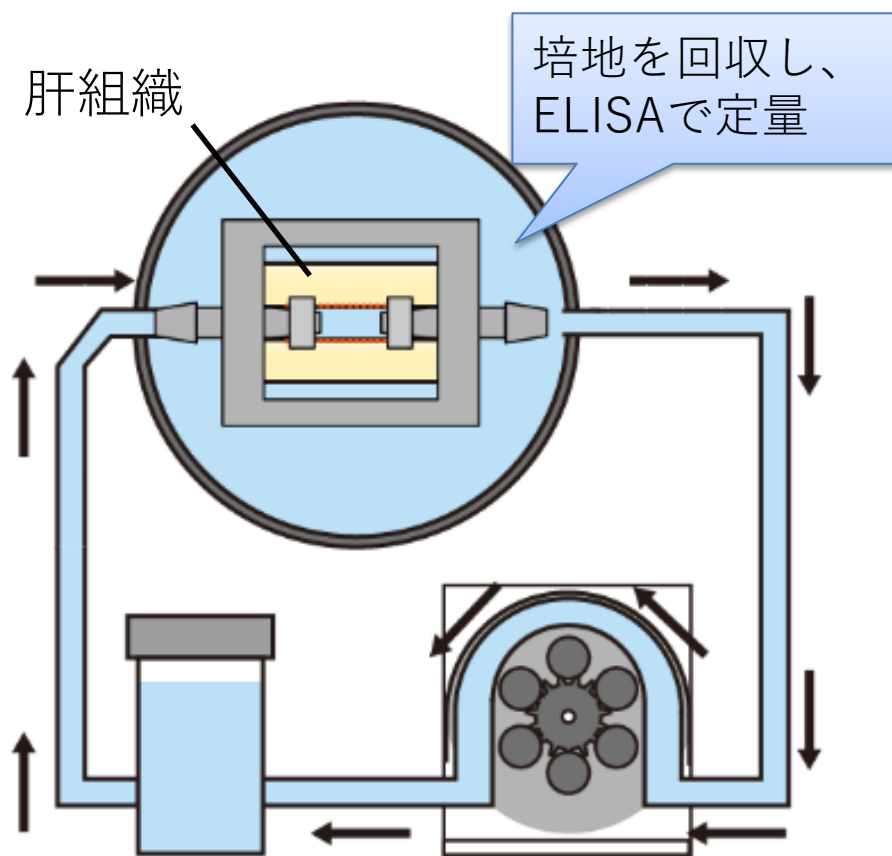
毛細血管の形成

- 主血管にインクを注入した後、組織切片を作製
- 主血管から毛細血管へのインクの流入を確認
→主血管と毛細血管は流体的に接続されている



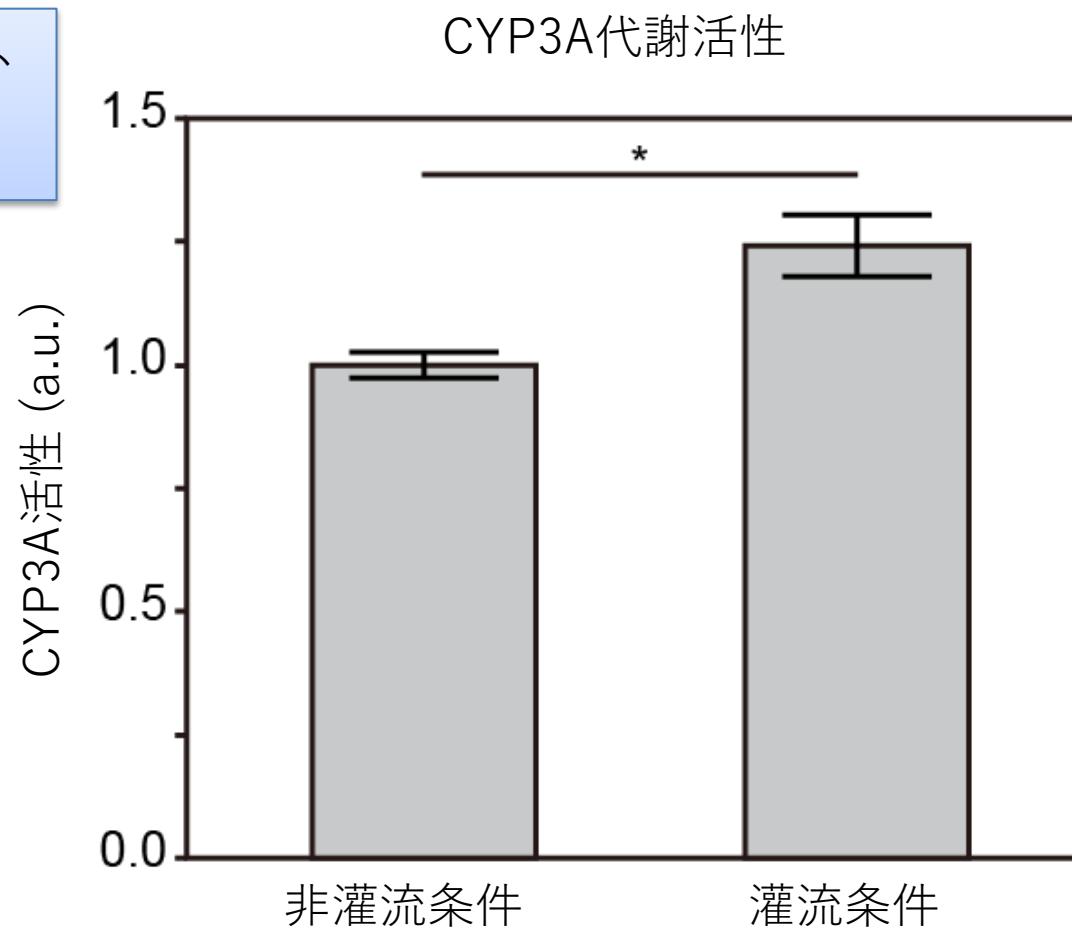
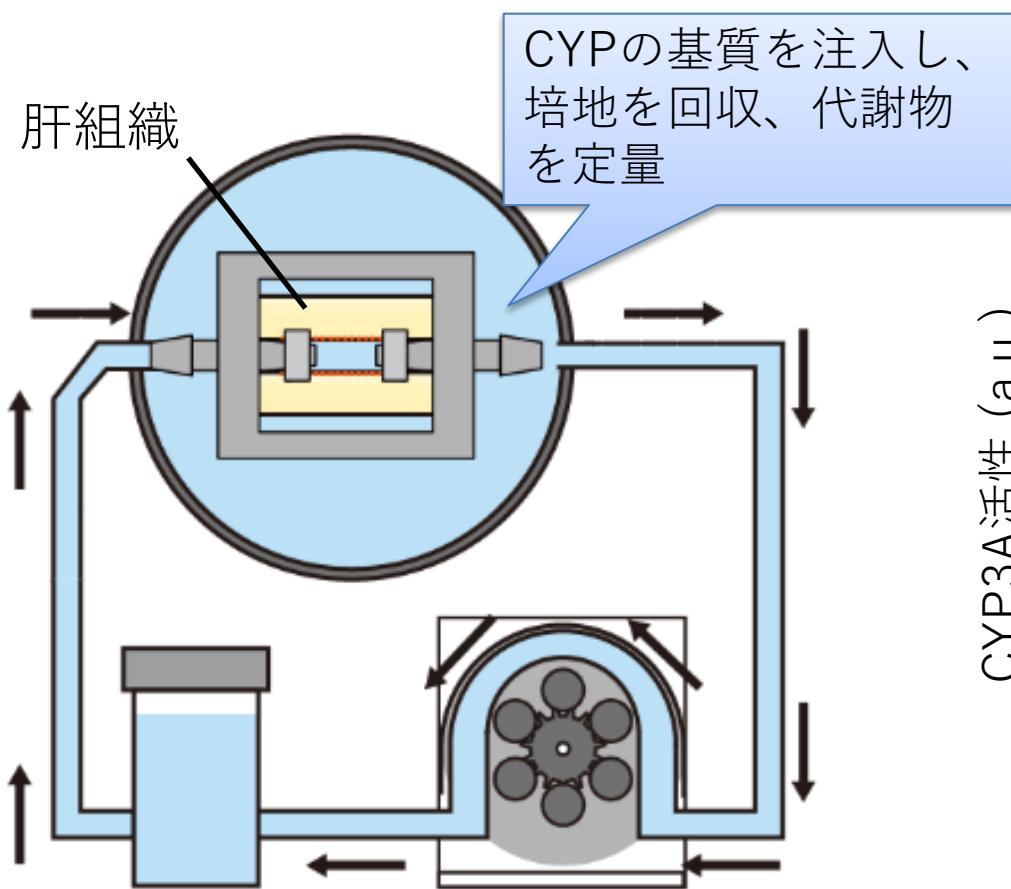
肝機能の評価

- 培地中のアルブミン量(肝細胞の機能の指標)を測定
- 灌流条件において多くのアルブミンが産生



薬剤代謝の評価

- シトクロムP450(CYP)代謝活性の評価を実施
- 灌流条件において高い代謝活性
→灌流によって組織全体としての機能が維持



n=3, mean ± SE

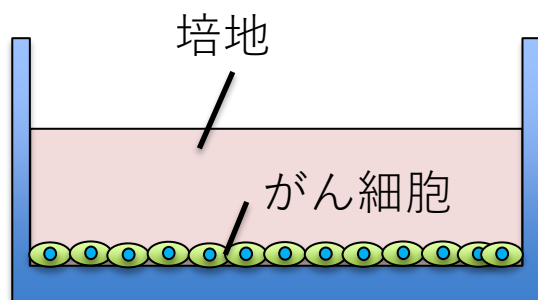
*p<0.05

実例2：血管付きがん組織

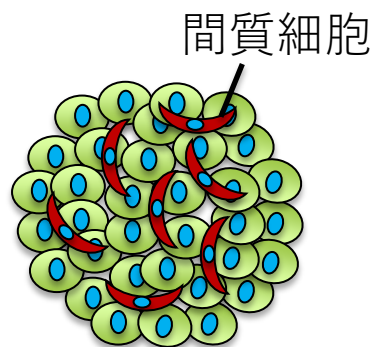
血管付きがん組織の概要

- 抗がん剤の試験用に様々ながんのモデルが開発されてきた
- 既存の非臨床モデルは薬効を正確に評価できない
 - 2次元培養は間質を欠き、薬剤感受性を過大評価
 - オルガノイドは血管を欠き、薬剤の分布、デリバリーを評価困難
 - PDXモデル（マウス）は、種差や作製コスト・時間の問題

2次元培養



オルガノイド



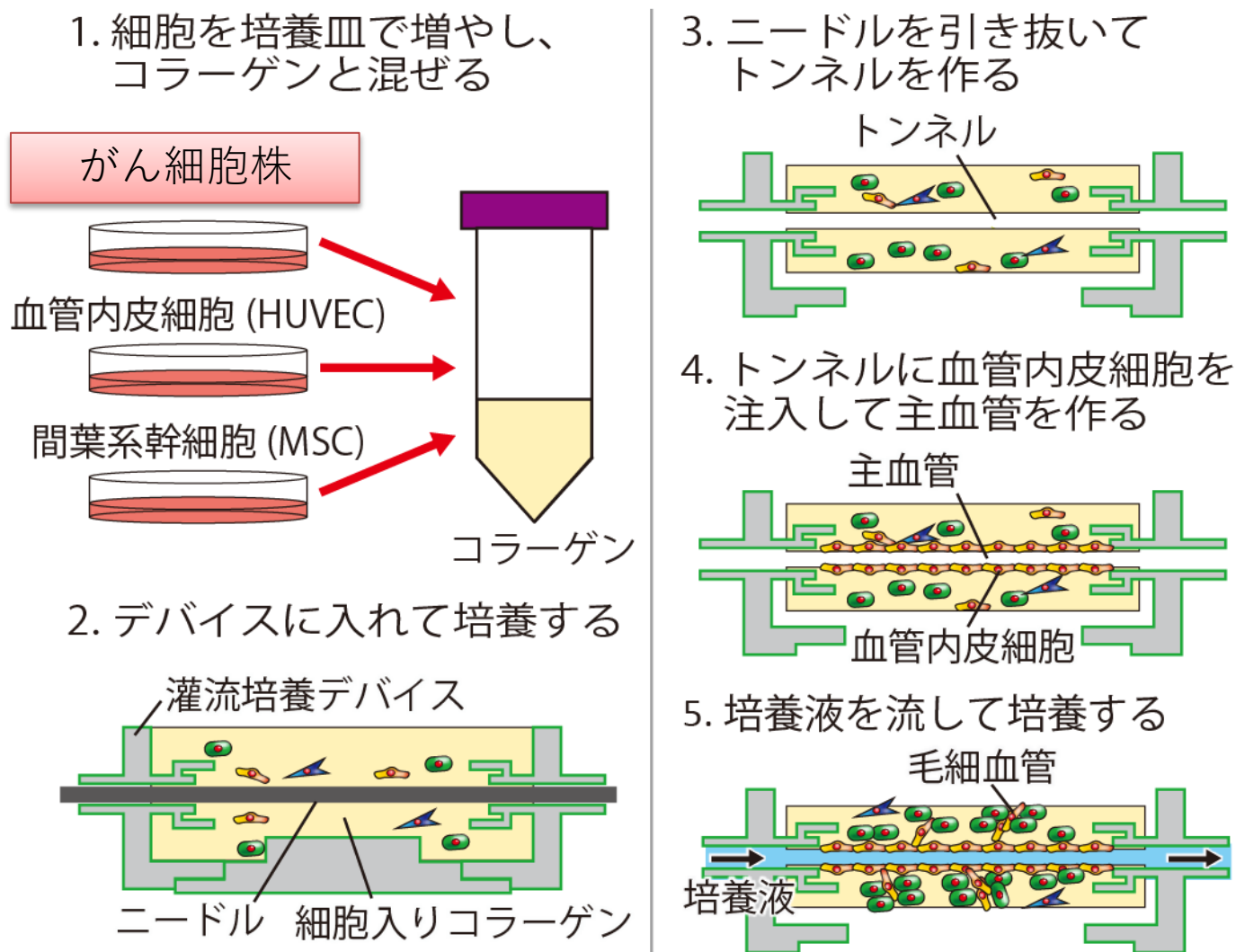
マウス



灌流デバイスで、血管・間質を持つヒト由来がん組織を構築

構築方法

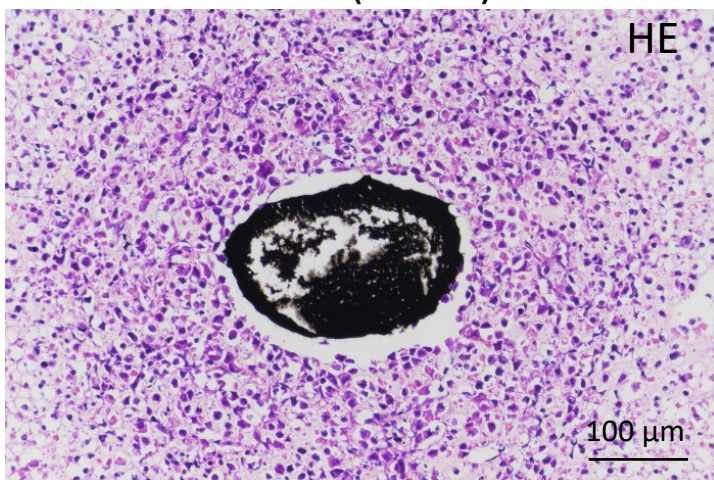
- 基本的には肝組織構築において、肝細胞をがん細胞に代えたもの



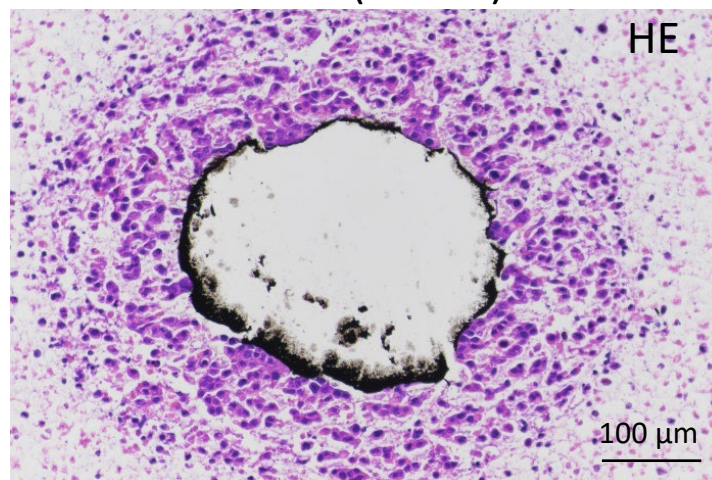
構築したがん組織

- 3種類のがん細胞を用いて組織構築に成功
→様々ながん細胞に適用可能

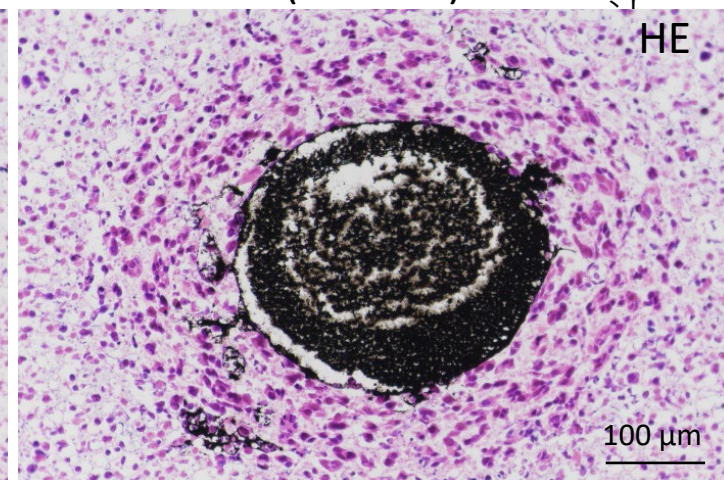
SW620 (EGFR-)



HT-29 (EGFR+)

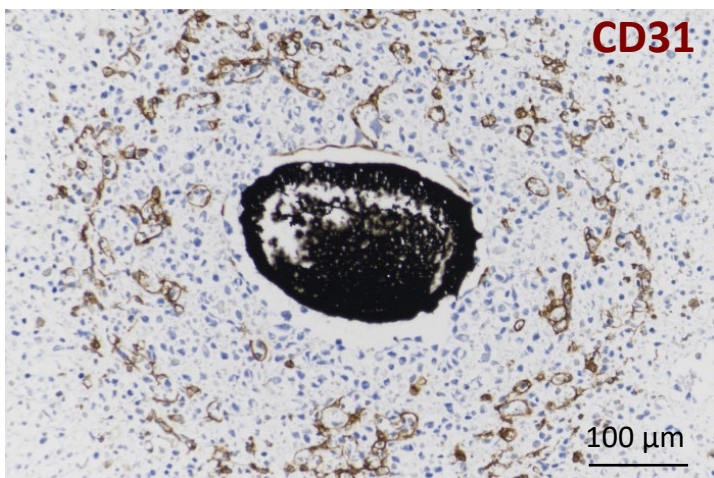


DiFi (EGFR++)

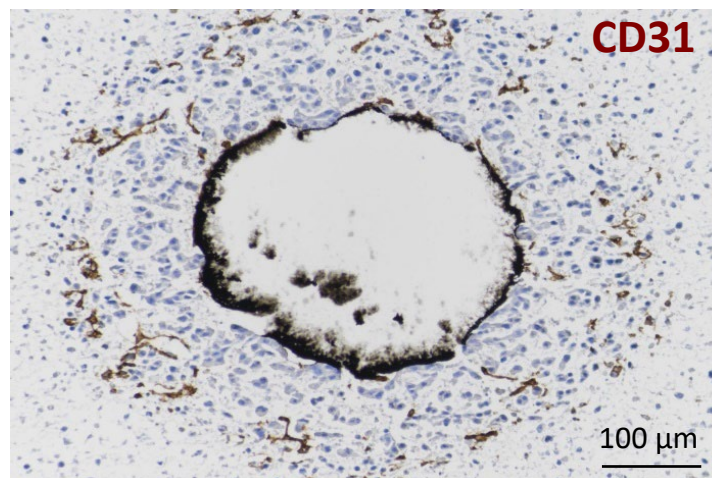


黒:墨
赤:ヘ

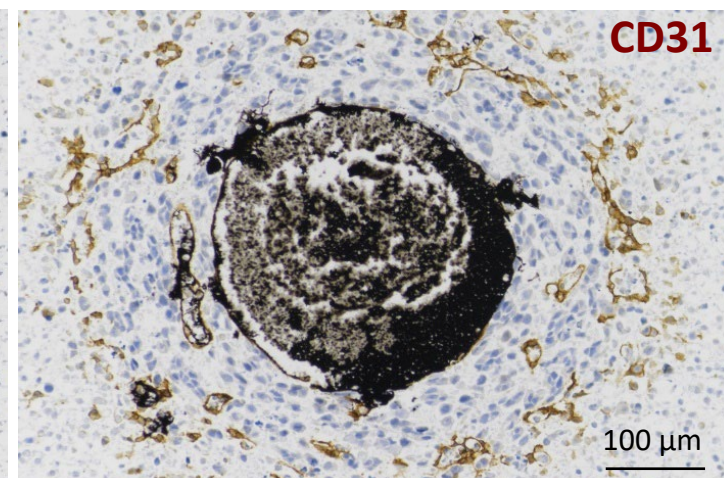
CD31



CD31



CD31

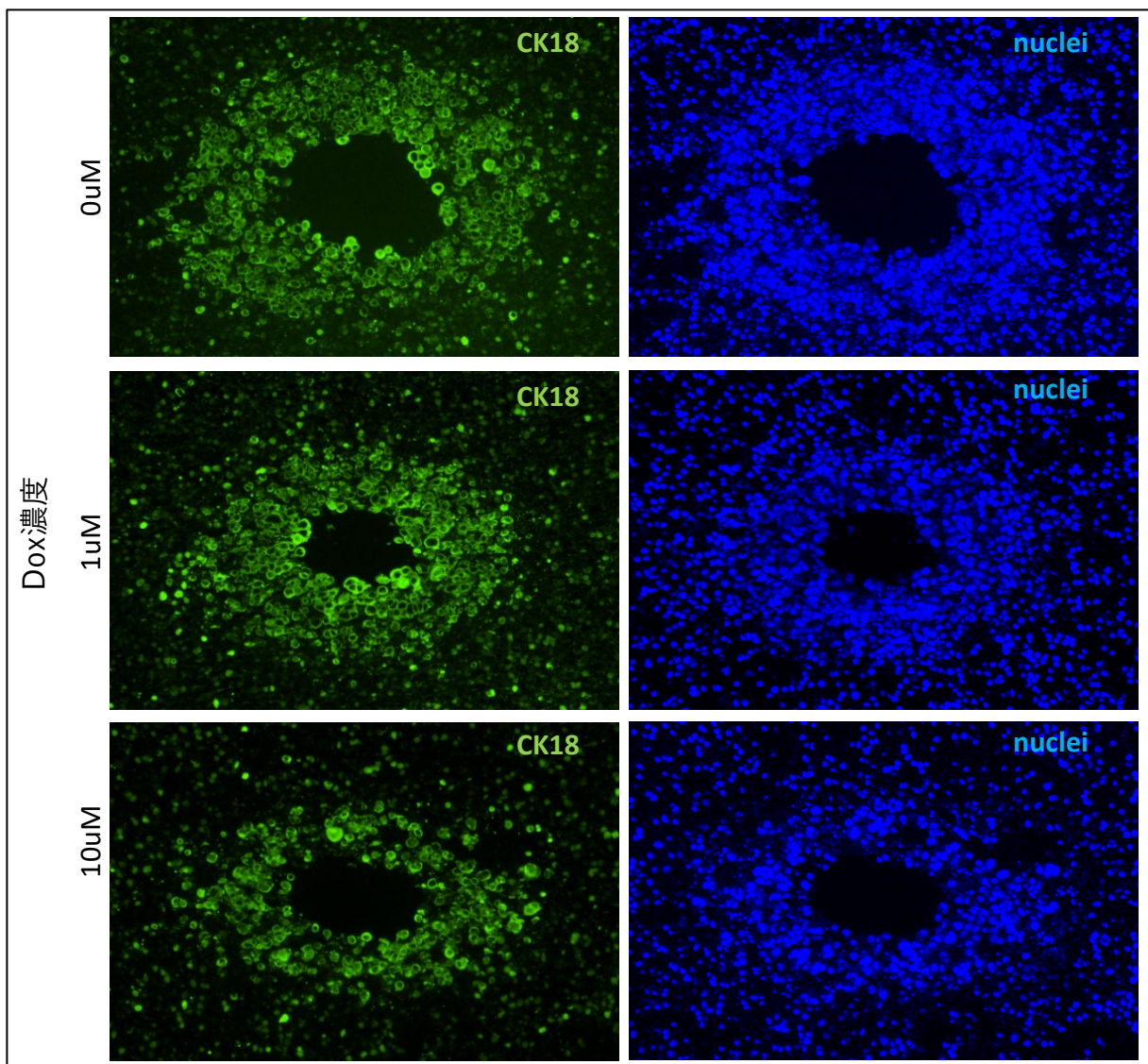


抗がん剤評価

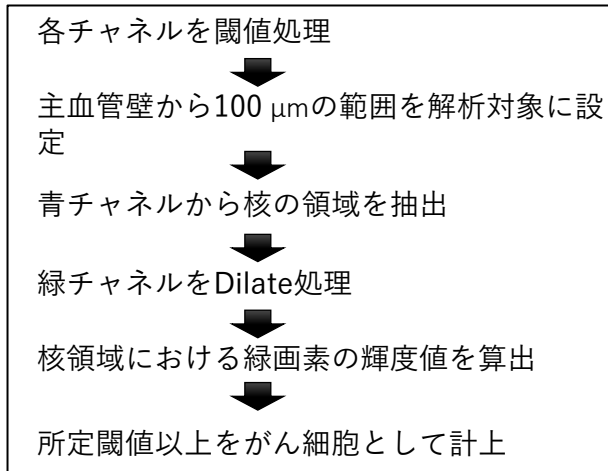
- 抗がん剤Doxorubicinを投与し、がん細胞数の変化を測定
→薬効評価試験への利用可能性

①免疫染色を実施、画像取得

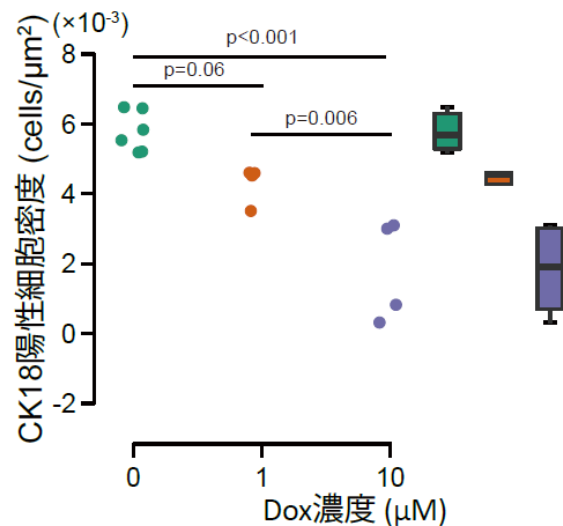
*本検討ではDiFiを使用



②画像処理を実施

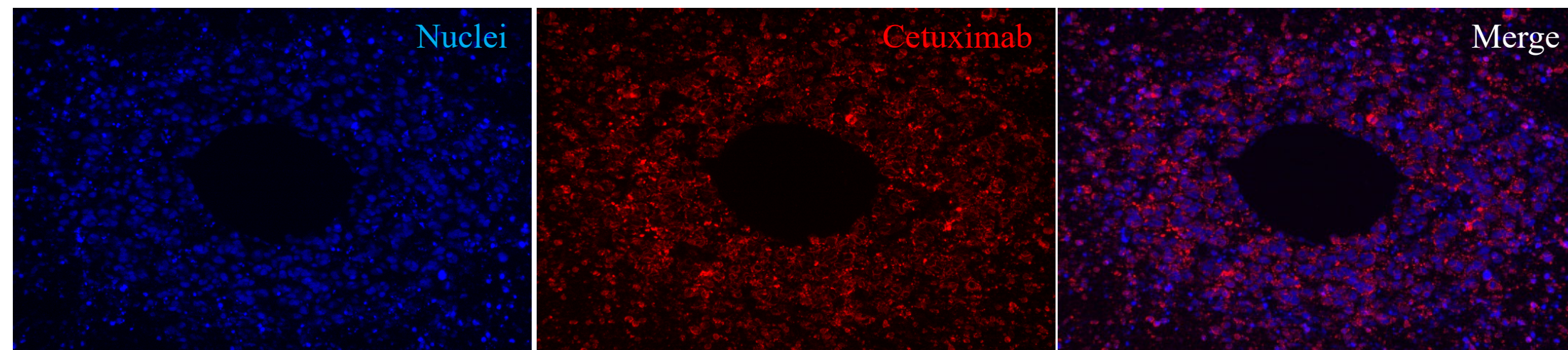
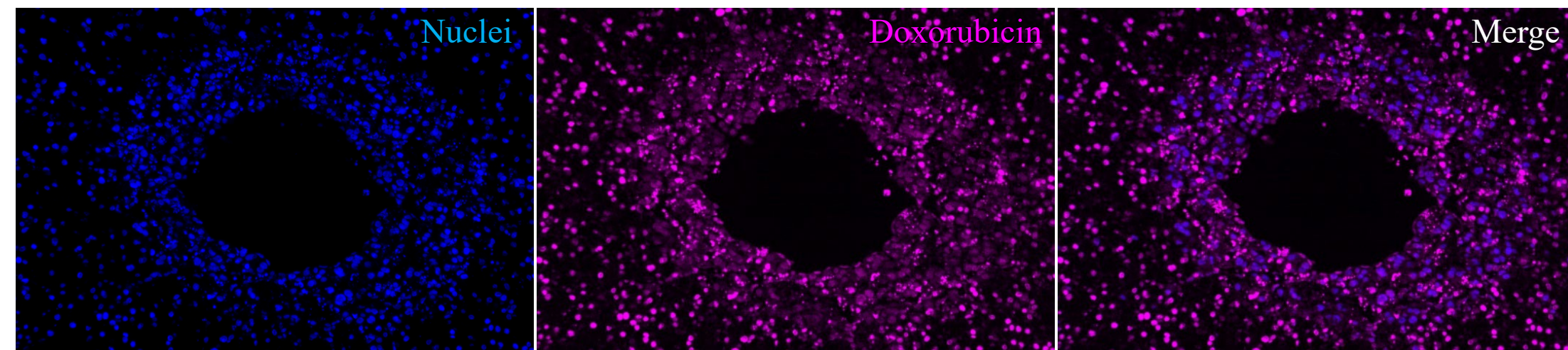


③細胞数-薬剤濃度グラフ



薬剤分布の測定

- 薬剤を投与後、切片を作成することで組織や細胞における薬剤の分布を計測することも可能



抗がん剤の血管への影響

- がん細胞だけでなく、血管が抗がん剤から受ける影響も同時に評価可能
→血管が存在する組織ならではの機能

0 μ M

1 μ M

CD31

CD31

100 μ m

100 μ m

想定される用途

- 肝組織においては、肝毒性や薬剤代謝の評価への利用が期待できる
- がん組織においては、抗がん剤の評価への利用が期待できる
- 上記以外にも、細胞の種類を変えることで様々な臓器の構築に利用可能
 - 薬剤や化粧品の試験ツール
 - 再生医療用の組織・臓器
 - 食品（培養肉）

実用化に向けた課題

- 血管付きの組織を構築するデバイスと方法を開発済み。しかし、現時点ではスループット性が低い。
- 今後、複数の組織を同時に構築し、培養・評価できるようなマルチスループットのシステムを開発していく。
- 構築可能な組織・臓器のラインナップを拡充する。

企業への期待

- 灌流デバイスの生産・販売や受託試験での利用（ライセンス契約、共同研究等可能）
- 特定の種類の血管付き組織の共同開発
- 創薬等における所望の被評価物を用いた検証

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：3次元肝組織モデル
- 出願番号：PCT/JP2020/037931
- 出願人：国立研究開発法人産業技術総合研究所
- 発明者：森 宣仁、木田 泰之、高山 祐三、赤木 祐香

お問い合わせ先

**産業技術総合研究所
スタートアップ推進・技術移転部
技術移転室**

**T E L : 029-862-6158
e-mail : aist-tlo-ml@aist.go.jp**