細胞培養マイクロデバイスの研究 マイクロスケールでの細胞培養・解析技術

フォトリソグラフィと呼ばれる光を用いた微細加工技術が、主に半導体産業で発展してきた。ナノメートルオーダーの精度で微小な電極配線や構造体を作製でき、身近にあるさまざまな工業製品に用いられている。PCやデジタルカメラ、スマートフォンなどが飛躍的に高性能化、小型化した主な理由の一つがこの微細加工技術の進歩である。10年ほど前から、この技術をウェットな系であるバイオ分野へ応用し、全く新しい解析技術を開発する試みが活発になってきた。この領域は、Lab on a chipやMicrofluidics, BioMEMSなどさまざまな名称で呼ばれ、関連するジャーナルや学会が設立されている。

安価な研究室用の装置でも、細胞や微生物と同等以下のスケールで微細加工ができるため、たとえば細胞の周囲の環境を正確にコントロールして、従来の培養方法では不可能な特殊な培養条件下で細胞の応答を解析するようなマイクロデバイスも開発されている。このような新しい細胞培養法は、細胞システムをより詳細に解析する基礎的な分野から、再生医療のような応用分野に適用され、さまざまな展開が図られている。ここでは、いくつかの細胞培養マイクロデバイスについて紹介したい。

生体内の細胞は、周囲の液性因子（成長因子や酸素、栄養素など）によって機能や増殖などが制御されているが、単に液性因子の濃度を感知するだけではなく、その濃度勾配も認識して遊走する方向や突起を伸ばす方向な

どが決定されている。このような機能は、発生過程で組織や臓器が形成される際や、微生物が自らにとってより好ましい方向へ移動する際にも重要な役割を果たしている。細胞のもつこのような性質を詳細に調べるために、微小な流路を分岐・蛇行させ濃度勾配を作り出すことができるマイクロデバイスが開発されている⁽²⁾。図1は、このような濃度勾配形成と細胞試験が可能なマイクロデバイスであり、濃度勾配を可視化するために、Inlet 1とInlet 2から赤と緑の蛍光基質溶液を送液した様子である。中央の分岐・蛇行構造によって一連の混合比系列の溶液が作り出され、これらを再び1本のMain channelで合流させることで、流れに垂直な方向に濃度勾配が形成される（図1C, D）。このデバイスを用いて、たとえば神経成長因子の濃度勾配下における神経突起の伸長の様子などが評価されている。

図1のマイクロデバイスは、さらにInlet 3とInlet 4を用いることで、Main channel内の特定の位置のみに細胞を接着させることができるように工夫されている。つまり、従来は濃度勾配下での細胞の動きを評価するには、Main channelを連続的に観察して細胞を追跡する必要があったが、このマイクロデバイスでは、培養開始時の細胞の位置を決めてやることで、培養後に観察するだけで濃度勾配に対して細胞がどの程度移動したのかがわかるというものである。細胞をマイクロ流路内の特定

図1 ■ 濃度勾配形成デバイス⁽¹⁾

の位置のみに接着させる方法についてはここでは詳しく説明しないが、後述するように細胞と同等スケールで細胞接着性をダイナミックにスイッチングする技術もまたこの領域ならではのアプローチである。

微細加工技術を用いて生体内の組織類似構造を作製し、創薬や再生医療に役立てようという研究も進められている。たとえば、Ingberらは、肺胞組織を再現するマイクロデバイスを開発した⁽³⁾。このデバイスでは、厚み10 μm のシリコンゴムシートに直径10 μm の貫通孔を複数あけ、そのシートを介して上面と下面に肺胞上皮細胞と血管内皮細胞を接着させた。そして、このシートを呼吸と同じようなリズムで伸縮させることで生体の肺と同じような力学的な刺激を付与した。このように呼吸の状況を模倣することで初めて、生体の肺と同じナノ粒子の取り込み挙動が観察されたと報告している。彼らはまた、腸の蠕動運動を模倣した波状の力学刺激を与えることで、通常の培養皿での培養では形成されない絨毛が形成されることも見いだした。そして、蠕動を与えて培養した場合に、ヒト腸細胞と腸内細菌が共存することも示した⁽⁴⁾。このような、生体外で臓器や組織の挙動を解析できるデバイスは、特にOrgan on a chipとも呼ばれている。肝臓、血管、筋肉などの開発も進められており、創薬における動物実験代替としても期待されている。

紹介する最後の例は、微小な電極配線と電気化学反応を用いて任意の細胞のみを脱離・回収するマイクロデバイスである。スマートフォンやノートPCなどに用いられる液晶ディスプレイには、透明な電極材料が細かく配線されており、特定のピクセルに電圧を印加して光を変調することで全体として画像を表示している。電極配線の細かさがディスプレイの解像度を定める大きな要因となるため、その微細加工技術はかなり高度に制御できるようになっている。一方、電極の表面に密な分子層を形成し、これを介して電極表面に結合したタンパク質や細胞を、この分子層を電気化学的に切断することで、一緒に脱離させる方法が報告されている⁽⁵⁾(図2)。分子層には、アルカンチオールと呼ばれる分子がよく用いられている。これらの2つの要素技術を組み合わせ、任意の培養細胞一つを脱離させて回収するマイクロデバイスが報告されている。つまり、従来は顕微鏡下で培養皿の表面に接着したそれぞれの細胞を観察することができて、そこに見えているある特徴的な細胞のみを培養系から回

図2 ■ 特定の細胞のみを回収するマイクロデバイス⁽⁵⁾

A. 電気化学細胞脱離の原理, B. アレイ電極, RGD: アルギニン-グリシン-アスパラギン酸, ITO: 酸化インジウムスズ

収したり、または逆に排除したりすることは難しかった。しかし、このデバイスを用いると細胞一つのみをピックアップしたり、一つの細胞の接着領域の半分のみを脱離させることなどが可能である。

フォトリソグラフィなどの微細加工技術が動物細胞や微生物の培養に用いられてきている。これらのマイクロデバイスでは、従来のマクロな系では設定不可能であった条件下で細胞を培養・解析できるため、これまで知られていなかった細胞の性質の発見にもつながる。またここでは紹介しなかったが、必要なサンプル量を極端に低減できるため、培養系のみならず、化学・生物サンプルなどの分析にも用いられている。今後、このようなマイクロデバイス技術がさらに発展すればLab on a chipの概念そのものである、「研究室の機器が切手程度のチップ上にすべて集積化される」という日が来るかもしれない。

- 1) T. Okuyama, H. Yamazoe, Y. Seto, H. Suzuki & J. Fukuda: *J. Biosci. Bioeng.*, **110**, 230 (2010).
- 2) S. K. W. Dertinger, D. T. Chiu, N. L. Jeon & G. M. Whitesides: *Analytical Chem.*, **73**, 1240 (2001).
- 3) D. Huh, B. D. Matthews, A. Mammoto, M. Montoya-Zavala, H. Y. Hsin & D. E. Ingber: *Science*, **328**, 1662 (2010).
- 4) H. J. Kim, D. Huh, G. Hamilton & D. E. Ingber: *Lab. Chip*, **12**, 2165 (2012).
- 5) J. Fukuda, Y. Kameoka & H. Suzuki: *Biomaterials*, **32**, 6663 (2011).

(福田淳二^{*1}, 掛川貴弘^{*2}, ^{*1}横浜国立大学工学研究院, ^{*2}筑波大学数理物質科学研究科)

プロフィール

福田 淳二 (Junji FUKUDA) <略歴>
1998年九州大学工学部化学機械工学科卒業／2000年同大学大学院修士課程修了／2003年同大学大学院博士後期課程修了，博士（工学）／2003年知的クラスター創成事業招聘研究員（北九州市立大学）／2004年日本学術振興会特別研究員（PD）（北九州市立大学）／2005年 MIT, Robert Langer lab, Postdoctoral Fellow (MIT)／2006年筑波大学大学院講師／2013年横浜国立大学大学院准教授，現在に至る<研究テーマと抱負>血管構造を有する立体的な臓器・組織の構築<趣味>マラソン，スノーボード

掛川 貴弘 (Takahiro KAKEGAWA)
<略歴>2010年筑波大学第三学群工学基礎学類卒業／2012年同大学大学院博士前期課程修了／同年同大学大学院博士後期課程／同年日本学術振興会特別研究員（DC1）（筑波大学）<研究テーマと抱負>電気化学的手法による再生医療技術の確立<趣味>読書，サッカー