

## 腫瘍組織への血流を介した薬剤評価チップを開発 ～オンチップ血管網を利用した新規腫瘍モデル～

### 概要

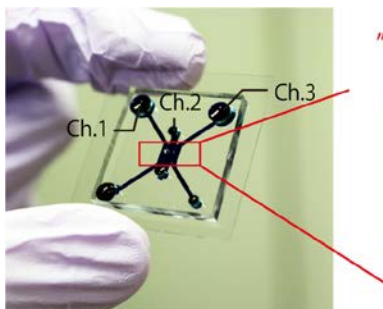
京都大学大学院工学研究科 横川隆司 教授，東北大学学際科学フロンティア研究所 梨本裕司 助教らの研究グループは，九州大学大学院医学研究院 三浦岳 教授，熊本大学国際先端医学研究機構 西山功一准教授らと共同で，生体内の固形癌を模したモデル内に血管を誘導し，血流を介した栄養供給が，腫瘍モデルの成長，薬剤評価に与える影響を評価するシステムを開発しました。

腫瘍組織は，その活発な活動を支えるため，周囲から血管を呼びこむことが知られています。腫瘍組織内の血管は，腫瘍のライフラインとして機能するとともに，血管内の流れに伴う化学的，物理的な作用は，腫瘍の活動を支える腫瘍微小環境 (tumor microenvironment: TME) を構築する重要な要素です。このような腫瘍微小環境を生体外で再現すれば，生体内の腫瘍の応答を評価可能なモデルが構築できます。

本研究では，研究グループが過去に報告した，血管を誘導するマイクロ流体デバイスをベースとし，乳癌の腫瘍組織のモデルに，血流を模した流れを有する血管を構築することに成功しました。構築された血管を介して，継続的な栄養供給を行った結果，血流を有しない腫瘍モデルと比較して，有意に腫瘍面積が増加，増殖活性が促進されるとともに，細胞死のマーカーが減少しました。さらに，流れの条件下で，薬剤評価を行ったところ，高濃度 (50 ng/mL) の薬剤投与では腫瘍面積の減少が観察できましたが，低濃度の投与 (5 ng/mL) では，大きな腫瘍面積の減少は観察されませんでした。一方，静置条件での薬剤投与では，低濃度 (5 ng/mL) で腫瘍面積の減少が観察されました。これらのことは，流れによる栄養供給が腫瘍の活動に有利に働いていることを意味します。また血流を模した流れの存在により，腫瘍の薬剤応答性が変化したことから，薬剤評価において流れの影響を考慮すべきであることが示唆されました。

腫瘍の活動を支える血管は，腫瘍治療の戦略を立てる上で重要な要素であり，本研究プロジェクトで開発したモデルを利用することで，血管が腫瘍組織に与える影響，また逆に，腫瘍組織が血管に与える影響の評価を調査していくツールとして展開出来ます。今後は，様々な腫瘍モデルへ本技術を展開し，新規に開発された薬剤のスクリーニングツールとして社会に貢献していくことが期待されます。

本研究成果は 2019 年 11 月 8 日に国際学術誌「Biomaterials」のオンライン速報版に掲載されました。



“流れる”血管網を備えた腫瘍モデル

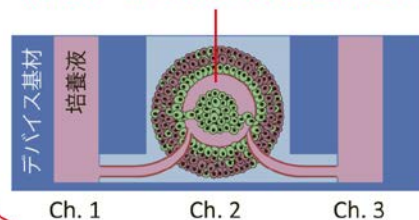


図 1: 腫瘍モデルへの血管導入，培養に利用したマイクロ流体デバイス。(左) デバイスの写真 (青: チャンネル (流路))，(右) 血管を構築した腫瘍モデルの模式図。両脇のチャンネル (Ch. 1 and 3) を利用して腫瘍内の血管に流れが付与可能。

## 1. 背景

薬剤開発においては、培養皿での細胞に対する薬剤投与から動物実験を経て臨床試験に至るまで、多くの時間、資金が必要となります。この薬剤開発の効率を向上させるため、生体内の腫瘍組織を模倣した腫瘍モデルの構築が求められています。細胞を凝集させ、立体的に培養するスフェロイドモデルは、従来の培養皿を用いた培養手法に比べ、形状や内部の化学物質濃度（酸素など）が生体内の腫瘍組織に近く、薬剤スクリーニングツールとして期待されています。しかし、従来のスフェロイドモデルには、腫瘍微小環境を構築する重要な要素である血管、および血管内の流れを再現できていませんでした。横川隆司教授、梨本裕司助教らの研究グループは、同グループが過去に報告した、流れる血管を組織モデルに導入するためのマイクロ流体デバイスをベースとして、流れる血管を備えた腫瘍モデルの構築に取り組みました。

## 2. 研究手法・成果

最初に、腫瘍細胞のみから構成されるスフェロイドをマイクロ流体デバイス内で培養し、血管誘導を試みましたが、腫瘍組織モデル内に十分な血管を呼びこむことができませんでした。次に、腫瘍細胞を繊維芽細胞、血管内皮細胞と混合したスフェロイドを作成し、血管誘導を試みたところ、ある混合割合で、腫瘍組織モデル内に「流れる」血管を構築できることが分かりました。

構築した血管網が腫瘍モデルに与える影響を調べるため、研究グループでは、構築した血管を介して連続的に培養液を供給し、腫瘍組織が成長する様子を評価しました。その結果、血管を経て栄養供給を行った腫瘍モデル（血管有り、図 2a）は、流れる血管を備えない腫瘍モデル（血管無し、図 2a）と比べて、腫瘍の面積、増殖活性が有意に高くなり、一方で、細胞死が起こる面積は有意に小さくなることを確認しました（図 2b）。このことは、血管を介した栄養供給が、腫瘍の増殖に有利に働いていることを意味しています。

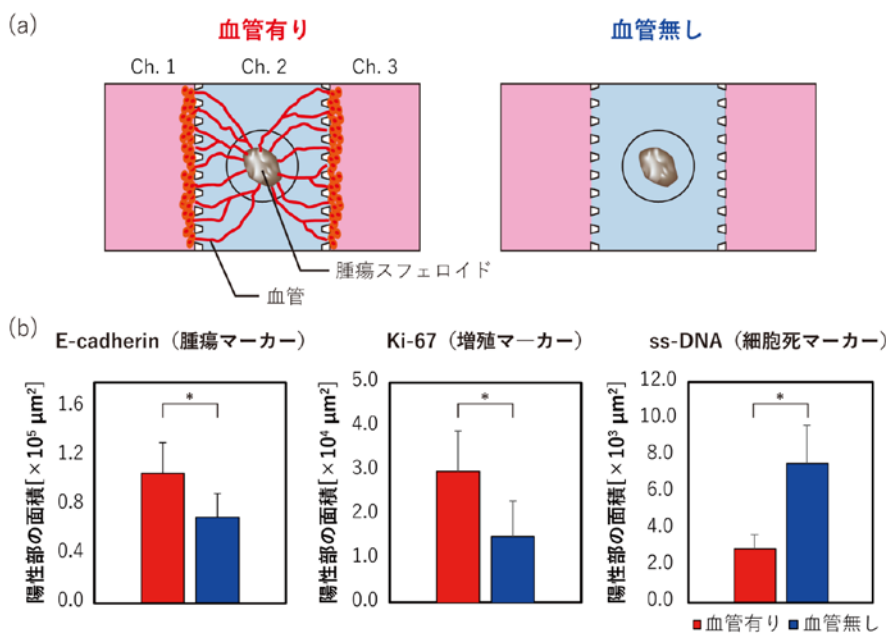


図 2：流れる血管網が腫瘍スフェロイドに与える影響の評価。(a) 流れる血管有り（左）、流れる血管無し（右）の模式図。血管無しのサンプルでは、腫瘍モデルと Ch. 1, 3 をつなぐ血管網が存在しない。(b) 血管を経た栄養供給を 4 日間行った後の、腫瘍マーカー、増殖マーカー、細胞死マーカーの定量結果 (\*  $P < 0.05$  ( $t$ -test);  $n = 6$ ).

さらに、構築したモデルを用い、流れのある条件下で薬剤投与（抗がん剤；パクリタキセル）を行ったところ、高濃度（50 ng/mL）の薬剤投与では腫瘍面積の減少が観察できましたが、低濃度の投与（5 ng/mL）では腫瘍面積の減少は観察されませんでした。一方で、静止条件での薬剤投与では、低濃度（5 ng/mL）であっても腫瘍面積の減少が観察されました。これは、低濃度領域では、流れによる増殖活性の促進の効果が、抗がん剤による増殖抑制の効果より強く現れたためと考えられます。

### 3. 波及効果、今後の予定

腫瘍組織内の血管は、腫瘍微小環境を構築する重要な要素であり、治療の対象としても期待されています。今回開発した微小流体デバイスを用いれば、腫瘍組織の増殖、腫瘍への経血管的な薬剤投与の効果、血管と腫瘍細胞間の生化学的・力学的な相互作用などを顕微鏡下において実時間で観察することができます。血管を通る「流れ」を含む腫瘍微小環境を再現したオンチップ腫瘍組織モデルは報告されておらず、薬剤開発において「流れ」の効果まで含めて評価するスクリーニングツールとしての利用も期待できます。

### 4. 資料提供

本研究成果に関連する画像や動画資料は下記 URL よりご利用いただけます。報道で使用される場合、提供元は「横川隆司 京都大学工学研究科教授」と明記するようお願いいたします。

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961219306465>

### 5. 研究プロジェクトについて

JST 戦略的創造研究推進事業(CREST), JSPS 科学研究費補助金, 日本医療研究開発機構 (AMED), みずほ学術振興財団, 中富健康科学振興財団の支援を受けました。

#### <論文タイトルと著者>

タイトル：Vascularized cancer on a chip: The effect of perfusion on growth and drug delivery of tumor spheroid

著者：梨本裕司, 岡田龍, 花田三四郎, 有馬勇一郎, 西山功一, 三浦岳, 横川隆司

掲載誌：*Biomaterials* (DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.119547)

#### <お問い合わせ先>

横川隆司（よこかわ・りゅうじ）

京都大学工学研究科マイクロエンジニアリング専攻・教授

TEL:075-383-3682

E-mail: ryuji@me.kyoto-u.ac.jp

梨本裕司（なしもと・ゆうじ）

東北大学学際科学フロンティア研究所・助教

TEL : 022-795-6167

E-mail: yuji.nashimoto.d8@tohoku.ac.jp