

補助事業番号 2023M-281
補助事業名 2023年度 汎用ヒト臓器チップのための電動アシスト機の開発
補助事業者名 長岡技術科学大学 技学研究院 技術科学イノベーション系
補助事業 システム幹細胞工学研究室 大沼 清

1 研究の概要

本研究では、汎用性の臓器チップの開発をめざしている。これまでの研究で、臓器チップ内に培養液を流すために、電動アシスト機を研究開発してきた。本補助金の援助のもと、この電動アシスト機の2号機を作製し、また各種の測定装置を購入して、性能を評価することができた。汎用性の臓器チップができれば、食品や保湿剤や目薬など、身近な製品の安全性・有効性を、動物を使わないで簡単に調べることが可能となるため、誰もが安心・安全に暮らすことができる未来へと貢献する。

2 研究の目的と背景

食品や化粧品、医薬品などのテストをするための、動物実験に代わる代替法として、マイクロ流路にヒト臓器の細胞を搭載した手のひらサイズのヒト臓器チップの研究開発が盛んになっている。特に、様々な機能を持つ「高機能型」の開発に盛んである。

それに対し我々は機能性より安価で簡単に使える「汎用型」の臓器チップの開発を目指している。汎用型ヒト臓器チップが実用化すれば、多様な医薬品や食品などの素材を一度に大量（1万種類以上）に調べることができる。大企業でなくても、自社開発した健康食品などの安全性・有効性を調べ、世界に向けて発信することが可能となる（図1）。

この汎用型ヒト臓器チップに培養液を流すため、我々は電動アシスト機を開発した。これにより、汎用型の臓器チップでよく使われる重力駆動式マイクロ流路の利点を継承しつつ、数時間で止まるという問題を解決した。しかし、完成した1号機は小さかったため、様々な測定装置を組み込めず、特性を継続して計測することができなかった。

そこで本事業では、電動アシスト機の台を大きくした第2号機を作製し、傾きと流れの継続的な測定・評価をした。測定・評価の物理的指標として、デジタル水準器で台の傾きを測り、小型顕微鏡を構築して流れを計測した。細胞培養特性は、温度、湿度、CO₂濃度を計測し、ヒト細胞が培養できるかを評価した。

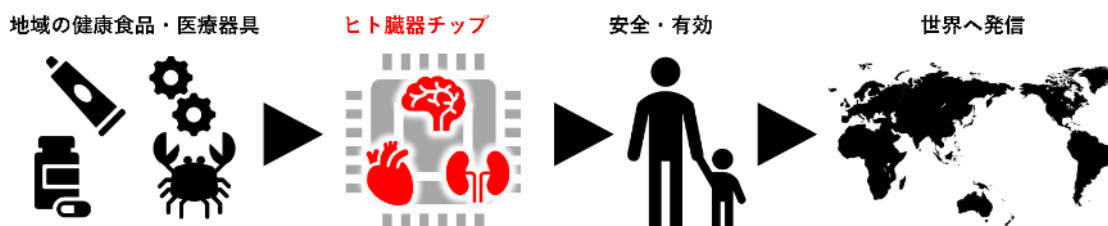


図1： 本事業の最終目標のイメージ

3 研究内容

臓器チップの中で培養液を流すための電動アシスト機の開発と測定

今回計画している物理的指標・細胞外用指標を評価用の測定をするため、本補助金を用いて大型の台を有する2号機を設計・制作した(図2)。

傾斜の測定に関してこれまでは、数時間に傾いた総計を計測と、傾くさまのビデオ計測をしてきた。しかし、これらの方法では、仕様通りに傾いているかが測定できなかった。そこで本補助金で高精度のデジタル水準器(DWL-8500XY)を購入し、電動アシスト機2号機の傾斜割合を測定した(図2)。その結果、30秒ごとに傾きを測定できるようになった。傾斜の平均値は設計通りの値だった。したがって、当初の計測目標は達成できた。

また、マイクロ流路内に流れる液体は、非常にゆっくり(24時間で $200\mu\text{L}$ 程)であるため、通常の流量計では流速を測定することができない。これまでは、1日に流れた液の重量を測定していたが、それでは、途中の流速の変化が分からない。そこで継続的に流れを観察するために、本補助金で新たに電動アシスト機に搭載可能な光学顕微鏡を構築した(図3)。このシステムを用いることで、マイクロ流路内を流れるポリスチレン球(直径 $4, 10\mu\text{m}$)の流れを測定することが可能となった。

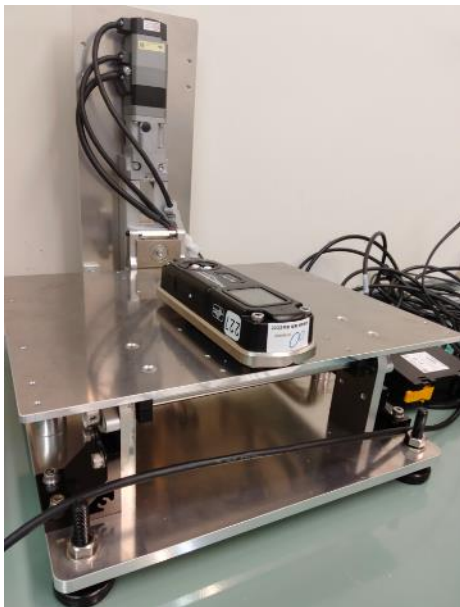


図2： 本補助金で作製した電動アシスト2号機と、傾きを測定の購入したデジタル水準器。

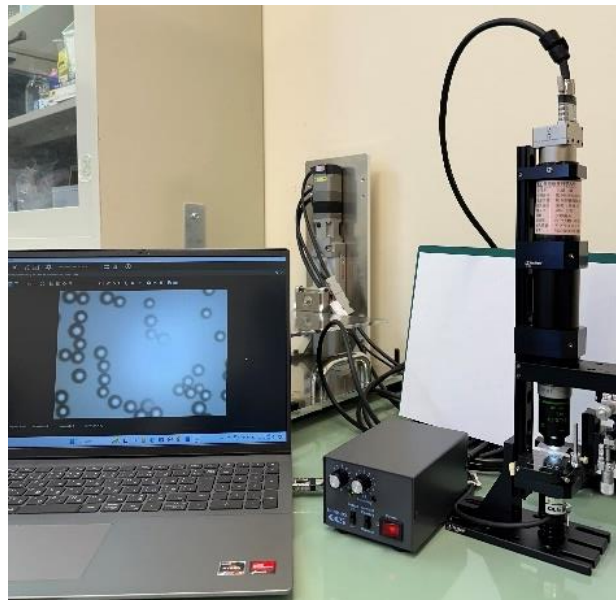


図3： 本補助金で構築した顕微鏡システム(右)と、それで観察したマイクロ流路内に流した直径 $10\mu\text{m}$ のビーズ(左)。

臓器チップの中で細胞培養状況の計測

ヒト細胞の培養には、温度が 37°C、湿度がほぼ 100%、CO₂ 濃度が 5% の環境が必要となるため、専用の CO₂ インキュベータが必要となる。しかし、この環境では通常の機械はすぐに錆びついてしまい、状態を計測できない。そのため、温度だけ 37°C に保つインキュベータ内に機器を入れ、更に細胞を培養する部分を囲う培養ボックスを作製して湿度をほぼ 100%、CO₂ 濃度 5% に設定したが、実測はしていなかった。なぜなら CO₂ 濃度 5% は、大気中濃度 (0.04%) の 100 倍以上高いために通常の測定装置では測定ができないからである。そこで、**本補助金で温度・湿度・CO₂ 濃度の測定装置を購入した (図 4)。**

購入した装置を用い、通常のインキュベータ内と電動アシスト機上の培養ボックスにおける温度・湿度・濃度・CO₂ を測定し、これらの値を元に培養ボックスの密閉性や、加湿システム、更には CO₂ ガスの供給流速などを調節した。その結果、温度・湿度・CO₂ 濃度が、通常のインキュベータ内と同等に制御できるようになった。

上述のように CO₂ インキュベータ内では、通常の機器はすぐに錆びついてしまうため、細胞の状態を観察するには外に出す必要がある。しかし、外に出した時点で、マイクロ流路の流れが変化して、正しい計測ができないという問題があった。そこで、**本補助金でインキュベータ内に設置できる顕微鏡を購入した (図 5)。**

購入した顕微鏡を用い、ヒト iPS 細胞を CO₂ インキュベータ内で培養しながら観察することが可能となった。そして、細胞が増殖する様子を、数値化することに成功した。本補助金のおかげで、臓器チップ内において、例えば心筋細胞などがどのように増えていくかを数値化でき、様々な医薬品等を加えたときの影響を数値化することも可能となった。



図 4 : 本補助金で購入した温湿度・CO₂ 測定器。これらを、臓器チップを囲う培養ボックスの蓋に取り付けた。



図 5 : 本補助金で購入した培養器内 (湿度 100%) 用の特殊顕微鏡。細胞が増殖していく様子を数値化できるため、臓器チップの評価に適している。

4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

我々の汎用性の臓器チップが実現化すれば、低コストで拡張性が高いものとなる。そのため、中小企業でも導入が可能となり、食品や保湿剤や目薬などの身近な製品の安全性・有効性を、動物を使わずに簡単に調べることが可能となる。そうすれば、自社開発した健康食品などの安全性・有効性を調べ、世界に向けて発信することが可能となる（図1）。本研究を通じ、誰もが安心・安全に暮らすことができる未来へと貢献したい。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

本事業に採択する前の段階では、臓器チップの開発は、原理実験がおわった段階であった。本事業に採択されることで、様々な測定・評価装置を購入することができ、臓器チップの開発の性能をリアルタイムで評価することが可能となった。今後は、健康食品などの規制があまり厳しくない領域での実用化を目指す。それに成功すれば、最終的には最も規制が厳しい医薬品の開発にも使えることをめざしたい。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

1) 学会のプロシーディング

Nuttakrit Limjanthong, Yasunori Fujiwara, Toshimasa Homma, Kazuhide Totani, Kiyoshi Ohnuma, "Numerical simulation of the stableness of liquid delivery in gravity-driven microfluidics assisted by a slow-tilting table" Transactions on GIGAKU, Accepted 2024/04/26

7 補助事業に係る成果物

- (1) 補助事業により作成したもの
所定の報告書
- (2) (1) 以外で当事業において作成したもの
なし

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名： 国立大学法人 長岡技術科学大学 技学研究院
技術科学イノベーション系 物質生物系（兼任）
(コクリツダイガクホウジン ナガオカギジュツカガクダイガク ギガクケン
キュウイン ギジュツカガクイノベーションケイ/ブッシツセイブツケ
イ (ケンニン))

住 所： 〒940-2188
新潟県長岡市上富岡町 1603-1 生物棟 654 号室

担 当 者： 准教授 大沼 清 (オオヌマ キヨシ)

担 当 部 署： 技術科学イノベーション系/物質生物系（兼任）
(ギジュツカガクイノベーションケイ/ブッシツセイブツケイ (ケンニン))

E - m a i l : kohnuma@vos.nagaokaut.ac.jp

U R L : https://msb.nagaokaut.ac.jp/labo/stem_cell_technology/
<https://whs.nagaokaut.ac.jp/stem-cell/index.html>