

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		酸素濃度制御マイクロ流体デバイスによるがん微小環境の低酸素応答の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Investigation of cancer microenvironment under hypoxic exposure by using microfluidic device with controllability of oxygen tension			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓) フナモト	名) ケンイチ	研究期間 B	2014 ~ 2016 年
	漢字 CB	船本	健一	報告年度 YR	2016 年
	ローマ字 CZ	Funamoto	Kenichi	研究機関名	東北大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		東北大学学際科学フロンティア研究所・准教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>がん組織の内部は、細胞群の過剰な増殖により低酸素状態にある。低酸素負荷はがん細胞の活動を活発化させると共に、血管内皮細胞による血管新生を促進する。この際に形成される血管は未熟であり、がん微小環境には不均一な酸素濃度分布や、急性の低酸素負荷と再酸素化が発生し、がんの転移を誘発する。このような酸素濃度の時空間変化に対するがん微小環境の応答には、不明な点が多く残されている。本研究では、がん微小環境を再現する酸素濃度制御マイクロ流体デバイスを開発し、がん細胞と血管内皮細胞の低酸素応答と、それらの細胞間の相互作用の変化を解明することを目的とした。まず、既存のデバイスでは不可能であった酸素濃度 3%未満の低酸素状態の生成と酸素濃度の制御の高速化を実現するため、新たなデバイスを設計し、検証実験を行った。デバイスのデザインは、酸素濃度を調整した混合ガスを供給するガス流路を、細胞培養を行う流路(メディア流路やゲル流路)に対して鉛直上方に配置する構造とした。数値解析により各流路内の流れ場とデバイス内の酸素濃度を求め、デバイスや流路の構造(形状およびサイズ)を最適化した。その後、実際にデバイスを作成し、酸素濃度に応じて蛍光強度が変化するマイクロビーズを用い、デバイス内に生成される酸素濃度を計測した。その結果、酸素濃度 0.5%までの一様な低酸素状態や線形の酸素勾配を 15 分程度で生成することが可能になった。また、開発したデバイスを用いてがん細胞と血管内皮細胞の単一培養を行い、低酸素負荷に対する応答を観察した。がん細胞は酸素濃度に依存した遊走能を示し、低酸素下において遊走が促進された。血管内皮細胞の単層は、低酸素負荷により細胞間の接着結合が有意に減少し、物質透過性が増すことが明らかとなった。さらに、開発したデバイス内でがん細胞と血管内皮細胞の共培養を行うことにも成功し、時空間的に変化する酸素環境下での細胞間の相互作用の観察が可能になった。</p>					
キーワード FA	マイクロ流体デバイス	がん微小環境	低酸素	3 次元細胞培養	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード* TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

In cancer microenvironment, cells are exposed to spatial and temporal heterogeneity of oxygen tension. Hyperproliferation of cells causes a chronic hypoxic condition with a nonuniform spatial distribution of oxygen tension. In addition, immature vascularization in the cancer causes a temporal variation of oxygen tension due to ischemia and reperfusion. Hence, it is important to understand cellular responses and cell-cell interactions under temporal and spatial variations of oxygen tension. This study aimed to develop a microfluidic device with controllability of oxygen tension to reproduce cancer microenvironment, and to perform monoculture and coculture of cancer cells and endothelial cells under controlled oxygen tension. In order to lower the limit of the lowest oxygen level and to shorten the time needed to establish a steady-state (3% O₂ and 1 hour in the previous device), a new microfluidic device was designed. Gas channels, where gas mixtures at predefined oxygen concentrations are supplied, were repositioned to be above cell culture channels (media and gel channels) to enhance gas exchange between the gas channels and cell culture channels. Numerical simulations revealed changes of oxygen tension in the microfluidic device as a function of the system parameters such as device thickness, size, the media and gas flow rates. Then, oxygen tensions created with the appropriate settings were validated by using oxygen-sensing microbeads. As the results, a uniform oxygen tension down to 0.5% O₂ or a linear oxygen gradient were established within 15 min. By using the developed microfluidic device, responses of cancer cells and endothelial cells to hypoxic exposure were investigated. When the oxygen condition was switched between normoxia and hypoxia, an oxygen-dependent change of motility of the cancer cells was observed. Endothelial permeability increased with barrier function loss by hypoxic exposure, showing that a size-selective endothelial barrier function observed under normoxic condition disappeared. Usability of the developed device for coculturing the cells to investigate cell-cell interactions under controlled oxygen tension was also confirmed.