

MEA と BBB を統合した MPS デバイスの開発

研究分担者：松永民秀 名古屋市立大学医薬学総合研究院（薬学）教授

研究要旨

血液脳関門 (BBB) は脳毛細血管内皮細胞、脳ペリサイト、アストロサイトから構成されている。これまで、どのような化学物質が BBB を通過して神経毒性を示すのかを評価するための *in vitro* システムは皆無に等しかった。そこで本研究では、ヒト iPS 細胞由来神経細胞を播種した多電極アレイ (MEA) とヒト iPS 細胞由来 BBB 細胞を播種したセルカルチャーインサートを Microphysiological System (MPS) デバイ스에搭載し、メカニズムベースに予測性の高い化学物質の BBB 透過性と神経毒性の評価を開発することを目的としている。本研究の中で我々は、MPS に搭載する細胞株選択および培養条件の検討を担っており、特にヒト iPS 細胞由来 BBB 細胞を構築し MPS に搭載、多電極アレイ (MEA) と統合することを目標としている。

A. 研究目的

MPS 上での iPS 細胞由来 BBB 細胞の培養条件の検討および iPS 細胞由来 BBB 細胞を搭載した MPS と MEA の統合に向けた開発を目的とする。本年度においては予備検討として、スタンディングタイプのセルカルチャーインサート上においても、高い経内皮的電気抵抗 (TEER) 値を維持した培養が可能かどうかを調べることを目的とした。

B. 研究方法

iPS細胞由来脳毛細血管内皮細胞をスタンディングタイプのセルカルチャーインサートに播種し、チョップスティック型の測定器を用いて経内皮的電気抵抗 (TEER) 値を測定した。また、ルシファーイエローを用いた透過性試験により、傍細胞経路輸送についても確認した。

C. 研究結果

既存のセルカルチャーインサートと同様に、スタンディングタイプのセルカルチャーインサートにおいても、TEER値を測定できることを確認した。また、得られたTEER値は、既存のセルカルチャーインサートよりもやや低い値ではあったものの、 $1000 \Omega \cdot \text{cm}^2$ を超える値を示したことから、タイトジャンクション機能を十分に備えていることが示された。また、ルシファーイエローを用いた透過性試験においても、 $2.2 \times 10^{-5} \text{ cm/sec}$ の値を示し、TEER値同様、高いタイトジャンクション機能を有していることが確認できた。

D. 考察

これまで用いられてきたセルカルチャーインサートとは異なり、MEAとの統合においては、スタンディング

タイプのセルカルチャーインサートしか用いることができないが、プレート上に立つスタンディングタイプのセルカルチャーインサートにおいても高いタイトジャンクション機能を有することが確認できた。

E. 結論

MEAと統合することが可能なスタンディングタイプのセルカルチャーインサートにおいても、高いタイトジャンクション機能を有するiPS細胞由来脳毛細血管内皮細胞を培養することが示された。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

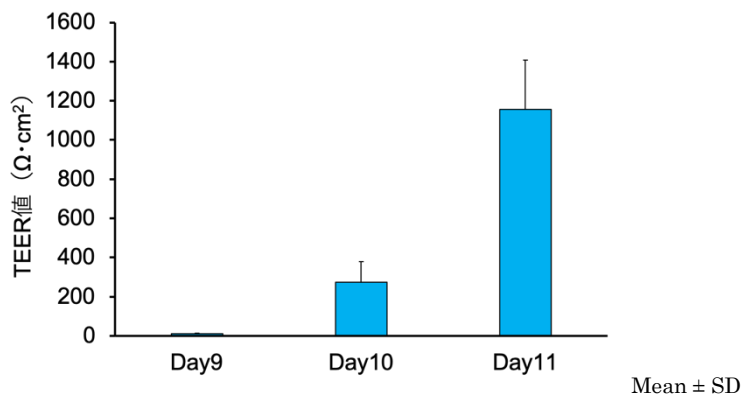
竹内規晃、山下美紗季、坡下真大、岩尾岳洋、常喜祥子、広瀬賢一、山中誠、小柳博、畠山健治、松永民秀。ヒトiPS細胞由来脳毛細血管内皮細胞を用いたBBB-on-a-chipの開発。日本薬学会 第143年会, 2023年3月26日。

G. 知的所有権の取得状況

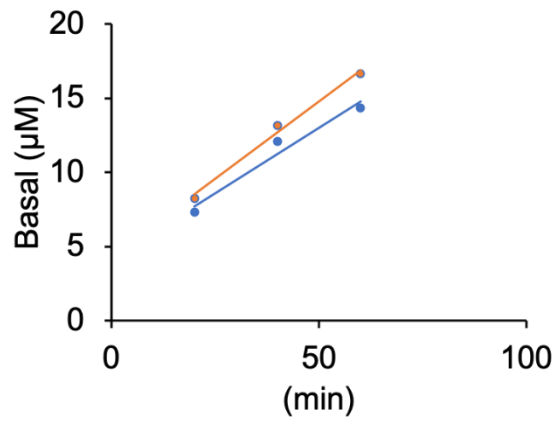
1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし



スタンディングインサート上に播種したヒト iPS 細胞
由来脳毛細血管内皮細胞の経内皮的電気抵抗値



$$P_{app} = 2.9 \times 10^{-5} \text{ cm/sec}$$

ヒト iPS 細胞由来脳毛細血管内皮細胞におけるルシファーイエローによる透過性試験