

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
（課題番号：22KD1002）
令和6年度研究成果報告書

AI支援型MPSを用いたヒトiPS由来神経細胞による神経毒性試験法の開発

研究代表者 安彦行人 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 室長

分担課題：細胞機能の評価に着目したMPSデバイスの開発

研究分担者：松永民秀 名古屋市立大学 特任教授

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）デバイスに搭載し、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上でのヒトiPS細胞由来BBB構成細胞の培養条件の検討およびヒトiPS細胞由来BBB細胞を搭載したMPSと多電極アレイ（MEA）の統合に向けた開発を目的とする。本年度においては2層灌流デバイスにMEAを連結できる方法を開発、灌流時における神経細胞への影響を調査し、デバイスを改良することを目標とした。

B. 研究方法

これまで開発してきた2層灌流デバイスに既存のMEA（MaxWell Biosystems社）を連結し、MEA側に播種したラット初代培養神経細胞に灌流の影響がでないか神経活動電位を長時間測定した。

灌流培養用ポンプには圧力駆動型ポンプ（Fluigent社製）を用い、20, 40, 80 $\mu\text{L}/\text{min}$ の流速で灌流を行った。

C. 研究結果

2層灌流デバイスにMEAを搭載したデバイスの開発を進めてきたが、既存のMEAと2層灌流デバイスを一体化させる方法が困難を極め、一体型デバイスの開発を断念した。そこで、2層灌流デバイスとMEAを配管にて連結したMEA連結型BBB-on-a-chipの開発を行い（図1）、既存のMEA側にシリコン製のカバーを被せ、上部を厚めの蓋で押さえつけることで灌流できる装置を開発した。当初、MEA側に取り付けた配管の入口側と出口側の高さを培地液面と同様にして灌流操作を行った。その結果、電極すべてにノイズが生じ神経活動電位を測定することが困難であった。

次にMEA側に取り付けた入口側の配管の高さを短くし、培地液面と接しないように改良した。その結果、灌流培養を行いながら神経活動電位を測定することに成功した。しかし、同じ間隔でノイズが生じる現象も生じたため、灌流速度を20, 40, 80 $\mu\text{L}/\text{min}$ の3通りで測定を行ったところ、ノイズが生じる間隔が灌流速度の増加に伴い短くなることが判明した。

D. 考察

当初開発したMEAにおける灌流装置では、MEA内の液培地液面と入口側および出口側の配管が繋がってしまったことで、MEA内に電流が流れ込んだと予想した。そこで、改良型では入口側の配管を培地液面より高くすることで培地との接地を避ける構造にした。その結果、全ての電極にノイズが生じることはなくなったが、一定間隔でノイズが生じる現象が生じるようになった。そこで灌流速度を変更したところ、灌流速度依存的にノイズ間隔が短くなることが判明し、入口側の配管で生じている液滴がMEA内の培地液面に落ちる際にノイズが生じていると考察された。

E. 結論

MEA側に配管をつなげることで、神経細胞上で灌流を生じさせることに成功した。一方、神経活動電位の測定には、ノイズを生じさせない方法が必要であり、継続してデバイスの改良を行い、MEA連結型BBB-on-a-chipの開発へと繋げていく。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

Hiroyuki Sato, Kaho Nakai, Yuri Ikeda, Nagae Kazue, Tadahiro Hashita, Takahiro Iwao, Tamihide Matsunaga. Evaluation of receptor-mediated uptake and transcytosis using human iPS cell-derived brain microvascular endothelial-like cells, 2024 International Society for the Study of Xenobiotics/The Japanese Society for the Study of Xenobiotics, Hawaii, 2024年9月15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

(図表は以下、1ページに1点でお願いいたします。)

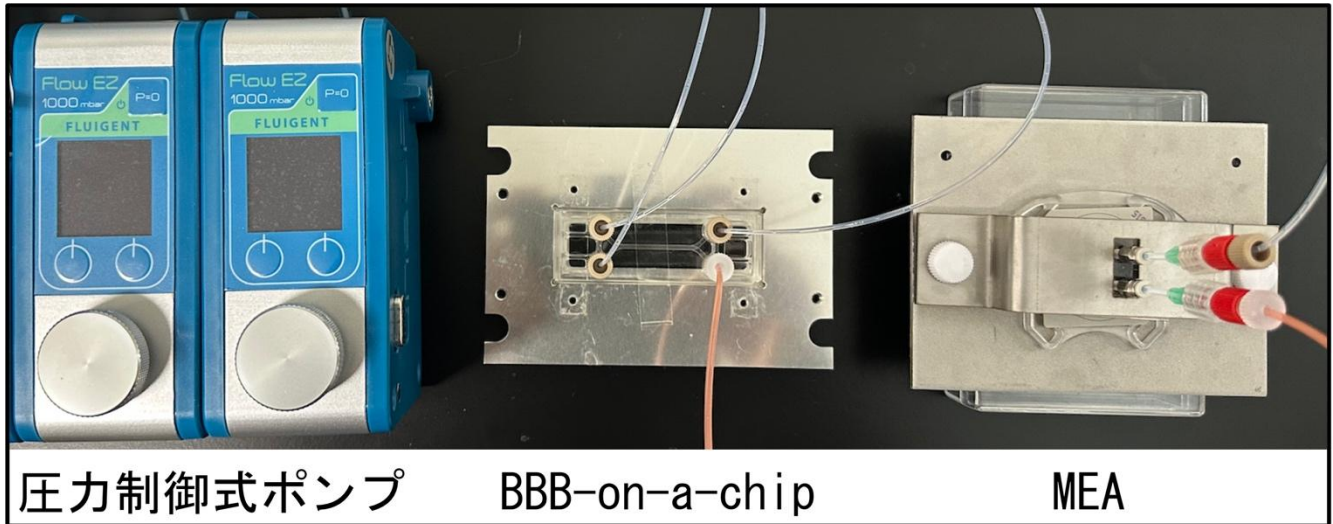


図1 開発中のMEA連結型BBB-on-a-chip