

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－韓国 研究交流）

1. 研究課題名：「マイクロ流体システムを利用した肝臓癌血管新生モデルの開発」
2. 研究期間：平成21年11月～平成25年3月
3. 支援額：総額14,500,000円
4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	須藤 亮	慶應義塾大学 理工学部	准教授
研究者	谷下 一夫	慶應義塾大学 理工学部	教授
研究者	三高 俊広	札幌医科大学 医学部附属 フロンティア医学研究所	教授
研究者	吉川 大和	東京薬科大学 薬学部	准教授
研究者	辻 知宏	慶應義塾大学大学院 理工 学研究科	大学院生
研究者	Johann Kalch man	慶應義塾大学大学院 理工 学研究科	大学院生
参加研究者 のべ			19名

相手側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	Seok Chung	School of Mechanical Engin eering, Korea University	Associate P rofessor
研究者	Jeong-Hun Na m	School of Mechanical Engin eering, Korea University	Graduate st udent
研究者	Hyun-Jung Li m	School of Mechanical Engin eering, Korea University	Graduate st udent
研究者	Sewoon Han	School of Mechanical Engin eering, Korea University	Graduate st udent
研究者	Yoojin Shin	School of Mechanical Engin eering, Korea University	Graduate st udent
研究者	Hyo-Eun Jeon g	School of Mechanical Engin eering, Korea University	Graduate st udent
参加研究者 のべ			11名

5. 研究・交流の目的

本研究は、数十から数百マイクロメートルのサイズの流路を有するマイクロ流体システムを用いて肝臓癌血管新生モデルを開発し、肝臓癌組織と血管形成の関係を顕微鏡下で観察し、その相互作用を解析することを目標としている。具体的には、日本側の組織工学、細胞生物学、癌生物学、生体工学に基づく細胞培養・解析技術と、韓国側のマイクロ流体システムの設計・微細加工技術を組み合わせ、新しい肝臓癌血管新生モデルを作成することを目的とした。

6. 研究・交流の成果

6-1 研究の成果

従来の癌細胞を用いた研究では、培養皿を用いた二次元培養が広く利用されてきた。しかし、実際の腫瘍組織は三次元であり二次元で培養した場合とは挙動が異なることが知られている。本プロジェクトで開発したマイクロ流体デバイスでは、間質流という流れを人工的に発生させることで肝細胞癌の三次元培養を可能にしている。さらに、腫瘍組織が成

長するためには血管との相互作用が古くから認識されているが、本プロジェクトで開発したマイクロ流体デバイスでは三次元の肝細胞癌組織の近傍に血管内皮細胞を配置することが可能である。イメージングが容易であることもマイクロ流体デバイスの利点の1つであり、血管形成と肝細胞癌組織の相互作用を解析することが可能になった。これらの成果は生物・医学の分野で行われていた細胞培養に工学の微細加工技術を組み合わせることで、生体工学の観点から新しい癌細胞培養モデルを提案するものであり、国際学術誌に5編の論文を発表した。特に、本プロジェクトで開発したマイクロ流体デバイスを用いた技術は *Nature Protocols* 誌に掲載受理され、表紙を飾った。

韓国側チームは微細加工技術に卓越しており、日韓のチームが協力することによって本研究プロジェクトで使用したマイクロ流体デバイスを自在に改良することが可能になった。本研究プロジェクトで使用するマイクロ流体デバイスはフォトリソグラフィーという技術を必要とするが、加工原理は比較的単純であるが、実験プロトコルには表現されにくい細かいノウハウが存在する。したがって、本プロジェクトで相手側と協力したからこそマイクロ流体デバイスを用いた肝臓癌血管新生モデルの開発が実現できたと考えられる。また、韓国側チームが微細加工技術に卓越している一方で、日本側チームは肝臓の組織工学、特に三次元培養に関するノウハウを有する。そこで、共同で開発したマイクロ流体デバイスで高分化型肝細胞癌 **HepG2** や低分化型肝細胞癌 **HLE** の三次元培養を行い、血管新生モデルと組み合わせることによって、本研究プロジェクトで目的としていた肝臓癌血管新生モデルを実現した。これらの成果は相手側と協力したからこそ得られた成果であり、日本側単独ではなしえなかったと考えられる。

本プロジェクトによって韓国側チームと共同研究を行い、肝臓がん細胞 (**HepG2** や **HLE** などのヒト肝癌細胞株) と血管内皮細胞 (ヒト臍帯静脈内皮細胞) の共培養を実現するマイクロ流体デバイスを開発した。この三次元共培養モデルを基盤として様々な癌細胞を用いた研究への展開を考えている。実際、より現実の癌細胞に近い性質を有する人工癌幹細胞を用いることによって新たな腫瘍血管新生モデルを開発する研究を始めている。今後のさらなる展開として、最終的には癌患者から分離した癌細胞の挙動を解析するようなバイオチップとして利用できるようにすることを目指している。そうすることで、多様性のある癌細胞について患者ごとに解析することにつながり、癌の治療戦略を決める新たな診断モデルとして利用できることになれば社会への波及効果は極めて大きい。また、新規抗癌剤開発における創薬研究にも利用されることが期待できる。

6-2 人的交流の成果

本プロジェクトでは、2009年度に韓国側チームから派遣された大学院生を日本側チームで15日間に渡って受け入れ、共同研究を行った。その際、韓国側チームとの交流を行うことで日本側チームの大学院生も刺激を受け、研究のアクティビティーに関する相乗効果が見受けられた。その一方で、2010年度および2011年度にそれぞれ、日本側チームから2名の大学院生を韓国側チームへ15日間に渡って派遣し、共同研究を行った。その際、韓国側チームとの交流を行うことで日本側チームの大学院生も刺激を受け、帰国後の研究に対するアクティビティーの向上につながった。

また、本プロジェクトにおける研究交流活動として2010年7月26日に慶應義塾大学にて第1回国際シンポジウム (1st Keio-Korea Universities International Symposium on Microfluidics and Tissue Engineering) を開催した。さらに、翌年度の2011年7月22日には第2回国際シンポジウム (2nd Korea-Keio Universities International Symposium on Microfluidics and Tissue Engineering) を韓国 Korea University にて開催した。これらのシンポジウムでは、日本および韓国チームのメンバーが集まり、主に学生がポスター発表を行うとともに、チームリーダーによる講演、および当該分野の卓越した研究者を招聘し、特別講演を行った。特別講演者として、Prof. Roger Kamm (Massachusetts Institute of Technology, USA)、Prof.

Shuichi Takayama (University of Michigan, USA)、Prof. Noo Li Jeon (Seoul National University, Korea)、Prof. Shoji Takeuchi (University of Tokyo, Japan)、Prof. Kahp Yang Suh (Seoul National University, Korea)らを招聘し、当該分野における最先端の研究成果に関して情報共有を行うとともに、ポスターセッションでは、日韓両チームメンバーが発表を行い、特別講演者から有用なコメントを得ることができた。これらの交流活動は日本側チームメンバーにとって大変貴重な経験となった。

本プロジェクトを通じて韓国側チームリーダーと数年に渡って共同研究を行うことで、より一層強固な協力関係を築くことができた。これまでの研究期間を通してさまざまな研究討論を行ってきた中で次の共同研究につながるような話も出てきており、今後も継続して共同研究を行い、アジア地域における研究ネットワークを確立していきたいと考えている。

7. 主な論文発表・特許等（5件以内）

相手側との共著論文については、その旨を備考欄にご記載ください。

論文 or 特許	・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年 ・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、 出願番号、出願人、発明者等	備考
論文	Shin Y, Jeon JS, Han S, Jung GS, Shin S, Lee SH, Sudo R, Kamm RD, Chung S. In vitro 3D collective sprouting angiogenesis under orchestrated ANG-1 and VEGF gradients. <i>Lab on a Chip</i> , 11(13): 2175-81, 2011	相手側との 共著論文
論文	Zervantonakis IK, Kothapalli CR, Chung S, Sudo R, Kamm RD. Microfluidic devices for studying heterotypic cell-cell interactions and tissue specimen cultures under controlled microenvironments. <i>Biomicrofluidics</i> , 5(1): 13409, 2011	相手側との 共著論文
論文	Shin Y, Han S, Jeon JS, Yamamoto K, Zervantonakis IK, Sudo R, Kamm RD, Chung S. Microfluidic assay for simultaneous culture of multiple cell types on surfaces or within hydrogels. <i>Nature Protocols</i> , 7(7): 1247-1259, 2012	相手側との 共著論文
論文	Kalchman J, Fujioka S, Chung S, Kikkawa Y, Mitaka T, Kamm RD, Tanishita K, Sudo R. A three-dimensional microfluidic tumor cell migration assay to screen the effect of anti-migratory drugs and interstitial flow. <i>Microfluidics and Nanofluidics</i> , accepted	相手側との 共著論文
論文	Yamamoto K, Tanimura K, Mabuchi Y, Matsuzaki Y, Chung S, Kamm RD, Ikeda M, Tanishita K, Sudo R. The stabilization effect of mesenchymal stem cells on the formation of microvascular networks in a microfluidic device. <i>Journal of Biomechanical Science and Engineering</i> , accepted	相手側との 共著論文