

A Thesis for the Degree of Ph.D. in Engineering

Development of an in vitro neurovascular unit model
by on-chip tissue engineering

February 2019

Graduate School of Science and Technology
Keio University

Hiroyuki Uwamori

| | | | | | |
|--|---|---|---|-----|-------|
| 報告番号 | 甲 | 第 | 号 | 氏 名 | 上森 寛元 |
| 主論文題名： Development of an in vitro neurovascular unit model by on-chip tissue engineering (オンチップ組織工学による生体外 Neurovascular Unit モデルの開発) | | | | | |
| (内容の要旨) Neurovascular Unit (NVU) とは、主にニューロン、アストロサイトなどのグリア細胞、ペリサイトを伴う微小血管、細胞外マトリクスから成る概念的な構成単位である。このことは、神経変性疾患に対する治療戦略としてニューロンのみに着目するのではなく、周辺の細胞との相互作用の調査を行うことの重要性を示唆している。NVU における微小血管には血液脳関門という脳血管特有のバリア機能があり、ニューロンに対する薬剤の供給を制限する。これまで血液脳関門の機能について多くの研究が行われてきたが、生体外の脳血管モデルは生体内の環境との乖離があり、いまだに NVU の 3 次元生体外モデルは実現していない。そこで本研究では、マイクロ流体デバイスという細胞の 3 次元培養が可能なチップを用いて、神経幹細胞と脳の血管内皮細胞を培養し、生体外 NVU モデルを構築することを目的とした。 第 1 章に、本研究に関する基礎事項、従来の研究、本研究の目的を概説した。 第 2 章に、本研究で用いた試薬類や実験手法などについてまとめて述べた。 第 3 章では、まず NVU の中の微小血管のみに着目し、生体外血管新生モデルの確立のために行った実験について述べた。特に血管内皮細胞の臓器特異性について着目し、脳血管内皮細胞およびヒト臍帯静脈内皮細胞を用いてそれぞれ微小血管網の構築を行い、その構築プロセス、血管バリア機能の評価、血管内皮細胞のジャンクションタンパク群の発現評価などを行った。その結果、生体外脳血管新生モデルを確立するとともに、脳血管において血管バリア機能が優れていることを見出した。 第 4 章では、生体外 NVU 構造の構築を目指し、血管新生モデルと神経新生モデルの統合を試みた。まず、脳血管内皮細胞と間葉系幹細胞の共培養によって血管新生を誘導できるような細胞培養条件を検討した。次に、その培養条件下で神経幹細胞を培養し、3 次元的な神経網形成を誘導することに成功した。さらに、血管新生と組み合わせることで、神経網および微小血管からなる神経・血管組織の構築に成功した。 第 5 章では、第 4 章で述べた培養系を長期培養にすることにより、神経網と微小血管に加えアストロサイトを含んだ NVU 様組織の構築に必要な培養条件を検討した。長期培養によって神経幹細胞からアストロサイトへの分化誘導が確認され、神経・血管・アストロサイトを含む組織の構築に成功したが、生体内の模擬のため、さらなる検討が必要であることが示唆された。 第 6 章に、結論として各章の内容をまとめて研究成果を要約し、今後の展望について述べた。 | | | | | |

