

3次元血液脳関門モデルの構築と 受容体媒介トランスサイトシス評価への応用

まつさき みちや
松崎 典弥

大阪大学大学院工学研究科



略歴

平成15年9月 鹿児島大学大学院理工学研究科博士後期課程 短期修了
平成15年4月 日本学術振興会 特別研究員
平成16年1月 スウェーデン ルンド大学大学院免疫工学専攻 客員研究員
平成17年4月 大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻 特任助手（常勤）
平成18年8月 大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻 助手（助教）
平成20年10月 科学技術振興機構さきがけ「界面の構造と制御」 領域研究者（兼任）
平成27年10月 大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻 准教授
平成27年10月 科学技術振興機構さきがけ「統合1細胞解析」領域研究者（兼任）
令和元年8月～現在 大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻 教授

所属学会

高分子学会、日本化学会、日本バイオマテリアル学会（理事）、アメリカ化学会、アメリカバイオマテリアル学会、日本人工臓器学会、日本再生医療学会、近畿化学協会、医用高分子研究会（運営委員）

血液脳関門 (blood brain barrier: BBB) は脳毛細血管内皮細胞 (BMEC) とペリサイト (PC)、アストロサイト (AC) で構成される中枢神経系の血管であり、血液と脳脊髄液間の物質交換を制限し、神経細胞を末梢由来有害物質から守っている。他の血管と比較して高いバリア性を有し、分子量 500 Da 以上の分子はほぼ 100%、低分子の 98% を透過させないことが報告されている。中枢神経薬開発において、開発スタートから上市に至る化合物はわずか 7% と他の疾患領域と比較して極端に低い成功率であるが、その

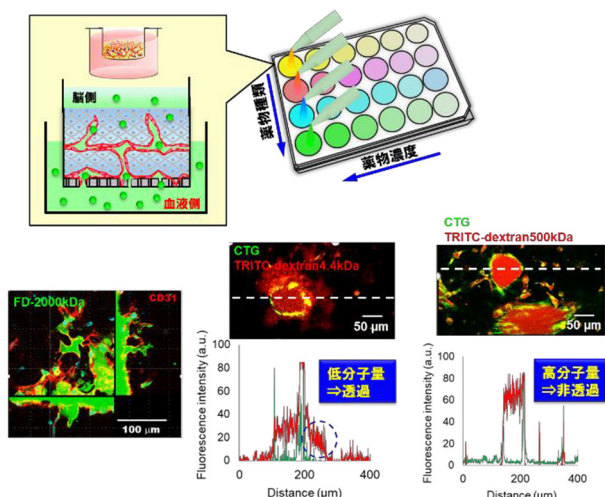


図1. 開口型BBB モデルの様子 (上) と CLSM 観察による蛍光デキストランの漏れ評価 (下)。

大きな原因がBBBである。従って、ヒト予測性の高い *in vitro* BBB モデルが構築できれば、新薬開発の探索、毒性評価、安全性評価といった開発段階の随所で有用と期待されている。

我々は、ヒト正常細胞由来株化細胞のBMECとPC、ACを用い、フィブリンゲルを足場として用い、接着促進と構造維持のためにコラーゲンマイクロファイバー (CMF) を用いることで、BMECのチューブネットワークを96ウェル内部に作製できることを報告した¹⁾。

蛍光免疫染色や組織標本解析、遺伝子発現、タンパク質発現解析より、形成されたチューブ構造は実際のBBBに類似したPCやACとの相互作用を有しており、BBBモデルとして薬物毒性試験に有用であることを見出した。さらに、受容体介在性トランスサイトosis (RMT) 評価への応用を目的として開口型BBBチューブネットワークを作製した。

これまで報告してきた開口型毛細血管チューブネットワークの作製方法²⁾を改良することで、底面開口型BBBチューブネットワークを24ウェルインサート内部に作製した (図1)。インサート下部の培地に蛍光標識デキストランを添加すると、入り口から内部のネットワークに拡散する様子が共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) 観察より確認された。また、低分子量体 (4.4 kDa) のデキストランを用いると一部透過する様子が観察されたが、高分子量体 (500 kDa) のデキストランではそのような漏れは観察されなかった。つまり、分子量に依存して物質の透過を制御できることが明らかになった。本開口型BBBチューブネットワークは、RMTを評価可能な新しいヒトBBBモデルとして期待される。

【参考文献】

- 1) Figarol et al., *Biomed. Mater.* **2021**, 16, 015006.
- 2) Nishiguchi et al., *Adv. Mater.* **2011**, 23, 3506.