

Title	人工的にがんの微小環境を再現するマイクロ流体細胞培養デバイスの開発
Sub Title	A microfluidic cell culture device for mimicking tumor microenvironment in vitro
Author	塚田, 孝祐(Tsukada, Kosuke)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2019
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>腫瘍組織の内部および周囲には新生血管のネットワークが形成され、それが腫瘍の増殖や転移に関わることが知られている。生体内の実験はその個体差が大きいこと、腫瘍周囲の微小環境を人為的に制御出来ないことが問題として残されている。そこで培養細胞レベルで腫瘍特異的な微小環境を作り出すことが期待されるが、技術的な欠落から実現するに至っていない。本研究では人工的にがんの微小環境を再現する3次元培養装置を新たに開発することを目的とした。初年度ではマイクロ流体デバイス内の酸素モニタリングを実現するための酸素センサポリマーフィルムを独自に開発した。従来はフィルム上に培養した細胞が酸素感受性ポルフィリン色素に接触する可能性があり、細胞毒性が懸念された。そこでポリスチレン微小粒子に色素Pd-Octaethylporphine (Pd-OEP) をドーピングし、その微粒子を生体適合性が高くかつ酸素透過性が高いpolydimethylsiloxane (PDMS) に包埋し、それをフィルム状に成形した新たな酸素センシングフィルムを作製した。測定感度と精度を示すS-Vプロットから、感度、精度ともに優れた酸素センサーであることが確認された。また酸素勾配を形成するマイクロ流体デバイスにこの酸素センシングフィルムを設置し、フィルム上に乳癌培養および腫瘍小片の移植を行い、酸素分圧測定を行った。その結果、細胞培養部分および腫瘍設置部分にて酸素分圧が低下し、それは細胞、腫瘍小片の呼吸による酸素消費であると考えられた。</p> <p>以上から、作製した酸素センシングフィルムは生体に対し、低侵襲に酸素分圧を測定することが出来る酸素センサーとして有効であり、腫瘍細胞や腫瘍組織の機能解析へ応用されることが期待された。</p> <p>It has been known that networks of new blood vessels are formed in and around the tumor tissue, which is involved in tumor growth and metastasis. Experiments in vivo have large individual differences, and it is difficult to control the microenvironment around the tumor. Therefore, it is expected to create tumor-specific microenvironment in cultured cells in vitro, but it has not been realized due to technical difficulties. In this study, we developed a new three-dimensional culture system that artificially reproduces the tumor microenvironment.</p> <p>In this first year, we developed an oxygen sensor polymer film to realize oxygen monitoring in a microfluidic device. In the conventional method, there had been a concern that cells cultured on a film come in contact with a cytotoxic oxygen-sensitive porphyrin dye. Therefore, the oxygen sensitive dye Pd-Octaethylporphine (Pd-OEP) was doped into polystyrene microparticles, and then they were embedded in polydimethylsiloxane (PDMS) with high biocompatibility and high oxygen permeability, and it was formed into a film. The S-V plot showing the measurement sensitivity and accuracy indicated that the oxygen sensor is excellent in both sensitivity and accuracy. An oxygen sensing film was placed on a microfluidic device that forms an oxygen gradient, and breast cancer cell culture and tumor tissue pieces were transplanted on the film. As a result, the partial pressure of oxygen decreased in parts of cultured cells and tumor tissue, which was considered to be due to the oxygen consumption of cells. From the above, it is clear that the developed oxygen sensing film can measure oxygen partial pressure with low invasiveness. This method is expected to be applied to analysis of cultured cells and tumor tissues.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=201800007-20180439

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	理工学部	職名	准教授	補助額	1,100 千円
	氏名	塚田 孝祐	氏名（英語）	Kosuke Tsukada		
研究課題（日本語）						
人工的ながんの微小環境を再現するマイクロ流体細胞培養デバイスの開発						
研究課題（英訳）						
A microfluidic cell culture device for mimicking tumor microenvironment in vitro						
研究組織						
氏名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
塚田 孝祐 (Kosuke Tsukada)		理工学部・物理情報工学科・准教授				
山本 雄広 (Takehiro Yamamoto)		医学部・医化学教室・講師				
梶村 眞弓 (Mayumi Kajimura)		医学部・生物学教室・教授				
1. 研究成果実績の概要						
<p>腫瘍組織の内部および周囲には新生血管のネットワークが形成され、それが腫瘍の増殖や転移に関わることが知られている。生体内の実験はその個体差が大きいこと、腫瘍周囲の微小環境を人為的に制御出来ないことが問題として残されている。そこで培養細胞レベルで腫瘍特異的な微小環境を作り出すことが期待されるが、技術的な欠落から実現するに至っていない。本研究では人工的ながんの微小環境を再現する3次元培養装置を新たに開発することを目的とした。</p> <p>初年度ではマイクロ流体デバイス内の酸素モニタリングを実現するための酸素センサポリマーフィルムを独自に開発した。従来はフィルム上に培養した細胞が酸素感受性ポルフィリン色素に接触する可能性があり、細胞毒性が懸念された。そこでポリスチレン微小粒子に色素 Pd-Octaethylporphine (Pd-OEP) をドーブし、その微粒子を生体適合性が高くかつ酸素透過性が高い polydimethylsiloxane (PDMS) に包埋し、それをフィルム状に成形した新たな酸素センシングフィルムを作製した。測定感度と精度を示す S-V プロットから、感度、精度ともに優れた酸素センサーであることが確認された。また酸素勾配を形成するマイクロ流体デバイスにこの酸素センシングフィルムを設置し、フィルム上に乳癌培養および腫瘍小片の移植を行い、酸素分圧測定を行った。その結果、細胞培養部分および腫瘍設置部分にて酸素分圧が低下し、それは細胞、腫瘍小片の呼吸による酸素消費であると考えられた。</p> <p>以上から、作製した酸素センシングフィルムは生体に対し、低侵襲に酸素分圧を測定することが出来る酸素センサーとして有効であり、腫瘍細胞や腫瘍組織の機能解析へ応用されることが期待された。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>It has been known that networks of new blood vessels are formed in and around the tumor tissue, which is involved in tumor growth and metastasis. Experiments in vivo have large individual differences, and it is difficult to control the microenvironment around the tumor. Therefore, it is expected to create tumor-specific microenvironment in cultured cells in vitro, but it has not been realized due to technical difficulties. In this study, we developed a new three-dimensional culture system that artificially reproduces the tumor microenvironment.</p> <p>In this first year, we developed an oxygen sensor polymer film to realize oxygen monitoring in a microfluidic device. In the conventional method, there had been a concern that cells cultured on a film come in contact with a cytotoxic oxygen-sensitive porphyrin dye. Therefore, the oxygen sensitive dye Pd-Octaethylporphine (Pd-OEP) was doped into polystyrene microparticles, and then they were embedded in polybioldimethylsiloxane (PDMS) with high biocompatibility and high oxygen permeability, and it was formed into a film. The S-V plot showing the measurement sensitivity and accuracy indicated that the oxygen sensor is excellent in both sensitivity and accuracy. An oxygen sensing film was placed on a microfluidic device that forms an oxygen gradient, and breast cancer cell culture and tumor tissue pieces were transplanted on the film. As a result, the partial pressure of oxygen decreased in parts of cultured cells and tumor tissue, which was considered to be due to the oxygen consumption of cells. From the above, it is clear that the developed oxygen sensing film can measure oxygen partial pressure with low invasiveness. This method is expected to be applied to analysis of cultured cells and tumor tissues.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Yabuki Y., Iwamoto Y. and Tsukada K.	Micro/nano particle-based oxygen sensing film for monitoring respiration of cells cultured in a microfluidic device	Japanese Journal of Applied Physics	in press			
Yabuki Y., Yokoyama J. and Tsukada K.	Micro/nano particle based-oxygen sensing film for continuous and non-invasive measurement of oxygen partial pressure around cells	IEEE EMBS Micro and Nanotechnology in Medicine Conference 2018	2018-12			
Yabuki Y., Yokoyama J. and Tsukada K.	Micro/nano particle-based oxygen sensing film for monitoring respiration of cells cultured in a microfluidic device	31st International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC 2018)	2018-11			