

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	Development of microfluidic cell culture devices to artificially mimic the cancer microenvironment
Author	塚田, 孝祐(Tsukada, Kosuke)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2021
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>腫瘍内の血管は不規則に分岐や蛇行を繰り返し部分的には逆流を呈するため、腫瘍組織は局所的に著しい低酸素状態になっている。この低酸素は腫瘍の増殖や血管新生に深く関与していることが知られている。同様に、腫瘍血管から供給されるグルコースや血管および腫瘍細胞に発現する腫瘍成長に関連するVEGFなどのタンパク質は腫瘍内で不均一に分布する。これらのガス・低分子勾配を形成する簡易な実験装置は一般的ではない。本年度は両者を同時に形成するマイクロ流体デバイスを数値シミュレーションおよび試作機を用いて実計測した。</p> <p>ガス供給マイクロ流路および細胞培養層を型取った金属モールドを作製し、PDMS (Polydimethylsiloxane) を流し入れ80°Cで加熱することで作製した。培養層に形成される酸素勾配はポルフィリン色素を含んだ酸素センシングフィルムを用いて酸素分圧値を実測し酸素勾配が形成されていることを実証した。細胞培養層には2本の培地入力チャネルを設け、それぞれから濃度の異なる分子を流入させることで化学勾配が形成される。試験的に蛍光色素を片方の流路から培養層に灌流させた結果、化学勾配が形成されていることを実証した。これらの設計を有限要素法を基にしたCOMSOLで数値シミュレーションし、酸素・化学勾配を自在に変更させることが可能であることを示した。</p> <p>以上の結果から、酸素・化学勾配を同時に形成させる新たなマイクロ流体デバイスを提案し、実測と数値シミュレーションからその有効性を実証した。</p> <p>Vessels in tumors branch and meander irregularly, and in some cases exhibit regurgitation, resulting in heterogeneous hypoxia in tumor tissues. It is generally known that this hypoxia is deeply involved in tumor growth and angiogenesis. Similarly, glucose supplied by tumor blood vessels and proteins such as VEGF related to tumor growth expressed in blood vessels and tumor cells are heterogeneously distributed in the tumor. Simple experimental devices to form gradients of these gases and small molecules are not common. In this year, we performed theoretical simulations and prototype experiments of microfluidic devices that can form both gradients simultaneously.</p> <p>A metal mold was fabricated to mold the microfluidic channels for gas supply and the cell culture layer. PDMS (Polydimethylsiloxane) was poured into the mold and then heated to form the microfluidic device. An oxygen sensing film containing porphyrin dye was placed in the culture layer, and the oxygen gradient formed in the culture layer was measured using an originally developed oxygen partial pressure measurement device. Two input channels were installed in the cell culture layer, and the chemical gradient was formed by the influx of molecules of different concentrations from each channel. The chemical gradient was observed when a fluorescent dye was flowed into the culture layer from one of the channels. These gradients were simulated by COMSOL, which is based on the finite element method, and it was shown that the oxygen and chemical gradients can be freely controlled.</p> <p>Based on these results, we proposed a new microfluidic device that simultaneously forms oxygen and chemical gradients, and demonstrated its effectiveness through measurements and simulations.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000010-20200014

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	教授	補助額	795	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）							
Development of microfluidic cell culture devices to artificially mimic the cancer microenvironment							
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・教授					
山本 雄広 (Takehiro Yamamoto)		医学部・医化学教室・講師					
梶村 真弓 (Mayumi Kajimura)		医学部・生物学教室・教授					
白井 宏明 (Hiroaki Shirai)		理工学部・物理情報工学科・准訪問研究員					
1. 研究成果実績の概要							
<p>腫瘍内の血管は不規則に分岐や蛇行を繰り返す部分的には逆流を呈するため、腫瘍組織は局所的に著しい低酸素状態になっている。この低酸素は腫瘍の増殖や血管新生に深く関与していることが知られている。同様に、腫瘍血管から供給されるグルコースや血管および腫瘍細胞に発現する腫瘍成長に関連する VEGF などのタンパク質は腫瘍内で不均一に分布する。これらのガス・低分子勾配を形成する簡易な実験装置は一般的ではない。本年度は両者を同時に形成するマイクロ流体デバイスを数値シミュレーションおよび試作機を用いて実計測した。</p> <p>ガス供給マイクロ流路および細胞培養層を型取った金属モールドを作製し、PDMS (Polydimethylsiloxane) を流し入れ 80°C で加熱することで作製した。培養層に形成される酸素勾配はポルフィリン色素を含んだ酸素センシングフィルムを用いて酸素分圧値を実測し酸素勾配が形成されていることを実証した。細胞培養層には 2 本の培地入力チャネルを設け、それぞれから濃度の異なる分子を流入させることで化学勾配が形成される。試験的に蛍光色素を片方の流路から培養層に灌流させた結果、化学勾配が形成されていることを実証した。これらの設計を有限要素法を基にした COMSOL で数値シミュレーションし、酸素・化学勾配を自在に変更させることが可能であることを示した。</p> <p>以上の結果から、酸素・化学勾配を同時に形成させる新たなマイクロ流体デバイスを提案し、実測と数値シミュレーションからその有効性を実証した。</p>							
2. 研究成果実績の概要（英訳）							
<p>Vessels in tumors branch and meander irregularly, and in some cases exhibit regurgitation, resulting in heterogeneous hypoxia in tumor tissues. It is generally known that this hypoxia is deeply involved in tumor growth and angiogenesis. Similarly, glucose supplied by tumor blood vessels and proteins such as VEGF related to tumor growth expressed in blood vessels and tumor cells are heterogeneously distributed in the tumor. Simple experimental devices to form gradients of these gases and small molecules are not common. In this year, we performed theoretical simulations and prototype experiments of microfluidic devices that can form both gradients simultaneously.</p> <p>A metal mold was fabricated to mold the microfluidic channels for gas supply and the cell culture layer. PDMS (Polydimethylsiloxane) was poured into the mold and then heated to form the microfluidic device. An oxygen sensing film containing porphyrin dye was placed in the culture layer, and the oxygen gradient formed in the culture layer was measured using an originally developed oxygen partial pressure measurement device. Two input channels were installed in the cell culture layer, and the chemical gradient was formed by the influx of molecules of different concentrations from each channel. The chemical gradient was observed when a fluorescent dye was flowed into the culture layer from one of the channels. These gradients were simulated by COMSOL, which is based on the finite element method, and it was shown that the oxygen and chemical gradients can be freely controlled.</p> <p>Based on these results, we proposed a new microfluidic device that simultaneously forms oxygen and chemical gradients, and demonstrated its effectiveness through measurements and simulations.</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)				
Katayama Y., Fujioka Y., Tsukada K.	Development of a patch-type flexible oxygen partial pressure sensor	IEEE Journal of Translational Engineering in Health and Medicine	June 2020				
塚田孝祐	フレキシブル酸素センサフィルムの開発と応用実験	第 24 回 酸素ダイナミクス研究会	2020 年 10 月				