

オンチップ・セロミクス・テクノロジーのヒト幹細胞由来心筋細胞を用いた 創薬スクリーニングシステムへの展開

安田 賢二

On-chip Cellomics Technology for Drug Screening System Using Cardiomyocyte Cells from Human Stem Cell

Kenji YASUDA

*Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University,
2-3-10 Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0062, Japan*

(Received October 1, 2009)

Limitation of conventional human Ether-a-go-go Related Gene (hERG) assay and QT prolongation testing for accurate prediction of Torsades de Pointes (TdP) by compounds showed us the necessity of a new approach to evaluate global cardiac safety. As one of the advanced applications of an on-chip cellomics system, on-chip cardiomyocyte cell network-based re-entry model assay has the potential to measure the TdP probability as a pre-clinical test for cardiac safety. This system also can estimate the heart pressure, Na, K, and Ca ion channel conditions using a single cell-based optical/electrical measurement system. In this presentation, we present the system setup and then its possible application for drug discovery and toxicology.

Key words—on-chip cellomics; on-chip re-entry model; Torsades de Pointes (TdP)

1. はじめに

細胞は、個体を構成する機能を処理するために独立して存在できる最小のシステムユニットである。特に、多細胞生物では異なる機能を持った細胞が集団となって、互いに相互作用をしながら複雑な処理を行うだけでなく、個体を維持するために環境との相互作用によって「順応」というプロセスを経ながら集団としての機能が最適となるように調整を行っている。既に1つの細胞の中の構成要素（タンパク質、オルガネラなど）の機能については、分子レベルでの解析によって明らかになりつつあるが、環境から獲得した情報がどのように保持され、また、細胞分裂時に、どのような仕組みで伝承されるのかは、まさに、今最先端の研究分野として研究が進められているところである。

まず、ナノバイオ技術の話始める前に生命科学

の発展を簡単にまとめてみたい。近代の生命科学は、基礎となる論理的な推定と実験による検証という自然科学の研究手法の確立と、あわせて仮説の検証を可能にする各時代の最先端の実験技術の開発との融合で実現してきた (Fig. 1)。宗教と迷信の影響が強かった神秘の領域である「生命」に対する科学的理解は、物理学（天文学）、化学などの他の自然科学の発展に伴ってようやく19世紀に、「生命科学」として整備されることとなった（第1の波）。例えば、多くの感染症の原因が細菌によるものであることも、19世紀当時の最先端技術である光学顕微鏡や巧みなガラス細工技術によって作られた培養フラスコなどを用いることによって初めて明らかにされたのである。また、ダーウィンの「種の起源」とあわせて有名な「メンデルの法則」などの遺伝性の規則の実験的検証も、地道なモデル生物の世代間比較から普遍的な生命の規則を見い出そうという概念的な「生命情報」の存在の仮説からモデルを用いた「構造的なアプローチ」によってなし遂げられたのである。生命の本質である「情報」の保持と継承（遺伝性）、そして、「情報」の環境に応じた変化

東京医科歯科大学生体材料工学研究所（〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台 2-3-10）

e-mail: yasuda.bmi@tmd.ac.jp

本総説は、日本薬学会第129年会シンポジウム S24 で発表したものを中心に記述したものである。

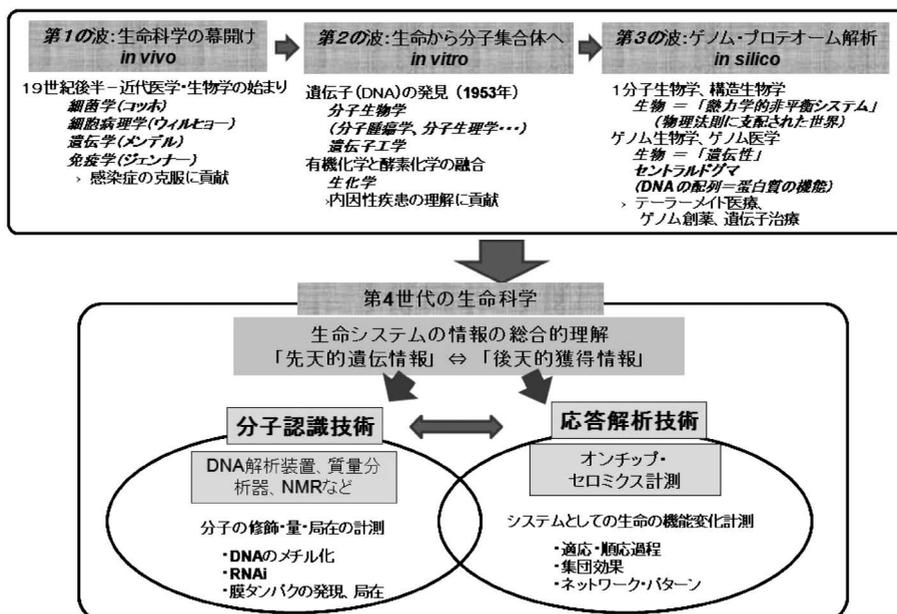


Fig. 1. Frontier of Life Science: into the 4th Generation

(適応、順応)の理解、そして変化と継承が組み合わされた「進化」についての知見が見い出されたことは、この第一世代の生命科学の特筆すべき成果であろう。

そして、生命科学の発展は次の段階(第2の波)に進み、生命の理解が「個体」全体を1つの生命として観察するレベルから、個体を構成する「分子」の理解、そして各分子の相互作用の理解へと進んでいった。例えば、先の「遺伝性」の根源である「遺伝子」の発見は、細胞が持つ世代間を伝承する遺伝因子情報の存在を「分子」という物質レベルで理解することに貢献しただけでなく、これに続く「分子生物学」「遺伝子工学」という新しい生命科学の理解と手法、そして応用産業を産み出した。また、「生命」を分子レベルからみたときに、決して「生命」は神秘的な存在なのではなく、「酵素」という触媒を巧みに利用して、複雑な化学反応の連鎖を効果的に進めている高度な化学合成工場と考えることができることもわかってきた。これは、産業革命後の化学産業の発展がもたらした多くの合成化学の理解を、巧みに生命の中の化学反応に適用することで生命を分子集合体として理解していく「生化学」分野として新たな産業の振興をもたらした。

このように生命活動の理解が「生化学反応の複雑な組み合わせ」であることが理解されてくると「生命の神秘」がいったいどこにあるのか、生命とは単

なる化学反応で示される反応がすべてであるのか、という疑問に答える研究が開始された(第3の波)。その1つが生命の化学反応を担う最小単位である生体分子の機能を1分子レベルで理解する「1分子生物学(あるいは1分子酵素学)」である。これは、一言でいえばミクロな分子レベルの世界での「1分子」の挙動と「個体(分取集合体)としての生命」とのつながりを明らかにしようとするものであった。この「1分子レベル」での生命の理解は、現在、精力的に進められている最中であり、これから何が明らかになるのか、この分野の成果に非常に興味と期待が持たれている。

そして、もう1つ20世紀末から始まった生命の神秘を理解するための試みが「ゲノム情報」の解明である。ヒトゲノム計画を始めとしたゲノム情報の包括的理解は、コードされているタンパク質の組み合わせの可能性を示し、また、生命の進化の歴史を示してくれた。さらに、マイクロRNAなど、今までのセントラルドグマを覆す新たな制御機構を明らかにしたりと、生命が持つ本質の1つである「情報」の理解を飛躍的に進めてくれた。そして、生命の中の分子が行う反応の素過程の連携として生命システムがどう構築されているか、生命情報をトータルに理解しよう、全体像を見ようという1つの流れが、1分子レベルでの生命の理解と結びついて新しい生命科学の研究の流れがまさに21世紀の中心的流れ

として精力的に進められている。

そして、第4世代の生命科学の研究の1つとして、さらなる生命情報の理解が進められている。これは、生命情報が、「先天的に与えられ世代間を変化せずに伝承する遺伝子に蓄えられた遺伝情報」と、この遺伝情報が与える膨大な潜在的組み合わせから実際に環境との相互作用や自分自身の学習によって特定の可能性が選択される機構である「後天的情報」の2つの機構を理解していくことである。すなわち、生命がどのような可能性の組み合わせを取れるのか、どのようにすればその可能性の組み合わせを制御できるのか、それを知ることがすなわち後天的獲得情報の理解なのである。今、分子レベルからは、エピジェネティクスという分野としてDNAの修飾機構などから、この後天的獲得情報の機構の解明が進められつつあるが、われわれは「細胞」を最小ユニットとして考えて、ここから機能という観点から、後天的情報の理解を進めている。本稿では、この後天的情報の機能解析を行う手法「オンチップセロミクス」とこの手法を実現するためのバイオチップ・ナノバイオテクノロジーについて紹介をする。

2. オンチップセロミクス計測技術：構成的アプローチによる細胞からの生命システムの理解¹⁾

先に述べたように、生命の情報は、遺伝子に蓄えられた先天的遺伝情報と、これに環境に対して順応するために蓄えられた後天的情報が組み合わされた全体的な情報と考えることができる。遺伝情報は、世代間（親子間）での伝承のために、DNA鎖などの非常に安定な「形（配列）」によって蓄えられている。したがって、計測技術は、主に観察対象の個体の特徴を理解するために、その個体の情報の最小構成要素である分子まで遡ってDNA鎖のA, T, G, Cの並びなどの「分子」全体の形を測ることで進められている。他方、後天的獲得情報を測るためには、「分子」の配列計測というアプローチに加えて、生命システムの変化量を見積もるために「機能」の観点からの解析技術が必要となるのである。

今までの理解では、複雑な後天的情報を保持できる最小構成単位は「細胞」であり、また、この後天的情報を反映して「機能」が計測できる最小単位も「細胞」である。生命システムは、この細胞が機能分担をしながら集団となることで、高次な生命シス

テムの機能を実現しているのであるが、まだ「細胞」という最小単位と「組織」「臓器」などの大きな機能単位との間での相関はよく理解されていない。例えば臓器内の細胞集団の構成で、同一細胞からなる組織ですら「幹細胞」「前駆体細胞」「分化細胞」「死滅」という役割分担を空間的配置の中で持っていることが最近ようやく分かり始めたところである。このことは「細胞」から「臓器」を作ることは単純な細胞集団を作るのではなく、臓器を再構成するためには、この細胞集団の高次構造の中に隠されたルールを理解する必要があることを示唆している。

この後天的獲得情報を実際に計測して理解するためには、分析的アプローチで用いてきたDNA解析装置やタンパク質分析装置などの物質そのものを計測する装置だけでなく、生命システムの機能そのものを計測する従来にない新しいアプローチが必要となってくる。構成的アプローチでは、セントラルドグマの考えに基づいたDNA分子からタンパク質に向けた構成的な生命の理解が既に開始されている。これは、ゲノム情報の理解を基盤としたアプローチであり、まずDNAに記録されたゲノム情報の理解、つぎに実際に発現している遺伝子（mRNA）や発現抑制因子（RNAiなど）の定量的解析、そしてタンパク質の定量的解析とタンパク質の機能を1分子レベルで理解していく流れである。このDNAからタンパク質の機能までの階層では、「集団の効果」「空間配置・空間情報」「時間的素過程の連携」の概念がない範囲では、非常にきれいなスキームが成り立ち、連続して研究が展開できた。機能単位の最小構成であるシステム（細胞）とパーツ（タンパク質）の間には非常に大きな違いがあるためである。それは細胞膜という外界と内界を区切るマクロな観点での境界面の発生と、各分子の素過程の連携が（特に細胞内小器官の存在による）空間配置によって規定されるという問題である。分子1つレベルでは可逆反応であったものが、細胞システムの中では不可逆に反応が1方向に進んでいくのである。この仕組みを明らかにするためには、従来の帰納的な分析的アプローチだけではなく、分析的アプローチから推測された機構を、演繹的な（再）構成的アプローチによって証明していくという手法が重要となるのである。

特に、後天的情報の仕組みの理解は、「外界からの刺激に対するシステムの応答の変化（ヒステリシス）を現象として理解する」と言い換えることができる。この応答の変化の根源を明らかにし、その分子レベルでの理解を進めるためには、どうしても再現性を保証された最も単純な細胞から再構築された最小構成のシステムの構築が必要となる。なぜなら、分析的アプローチのみでは、個体がある病気やある変化を起こした原因を特定の分子であると仮定して、分析的に理解していこうとしても、（実は、現状のプロテオーム解析の問題に一致することなのであるが）その状態で存在する物質の分布（マーカー）を見出すことはできても、これらのうちで何が原因となる分子で、何が結果として生じた物質なのかという、時間的因果関係が特定できるような分析的な理解を行うことはできないからである。本質的にそれがなぜ起こるかということを知るためには、本当にその分子が決定的な因子なのか、それとも単に副産物として生まれたものなのか区別する必要がある（Fig. 2）。

細胞をスタートラインとした研究アプローチを実現するためには、細胞内の状態を1細胞レベルで知る必要があり、また、表現型（フェノタイプ）の違いなどを知るためには表現型そのものを定義するマッピングが必要となる。この細胞はどのような細胞なのか、あるいは中の状態がどうなっているのか、これが1細胞単位でわからなければならないのである。今までのように、よくわからない複数の細胞の適当な塊りから得られた結果を細胞数で割ったものでは、本当に各細胞の内部状態が違うリズムで振動しているだけでも、平均値のデータは何の状態を反

映しているのか全く判別できなくなってしまうのである。これらの課題を解決するためにも、今までのような任意の細胞集団の平均的状态の計測ではなく、1細胞を単位として細胞からより複雑なシステムを一階層ずつ組み上げていく流れ、これをわれわれは「オンチップセロミクス計測」と呼んで開発を進めている。

オンチップセロミクス計測は、Fig. 3 に示したように細胞精製、細胞ネットワーク構築・計測、細胞内状態分析の3つのステップからなっており、各ステップを実現するための技術として、それぞれオンチップセルソーター、オンチップ細胞ネットワーク計測システム、オンチップ1細胞ゲノム・プロテオーム計測システム等の技術の開発を並行して進めている。

3. オンチップセロミクス計測

3-1. 細胞ソースの確保：細胞精製技術²⁾ まずオンチップセロミクス計測技術で最も重要な前処理技術である1細胞単位での細胞精製技術について説明する（Fig. 4）。この技術の特徴は、細胞に刺激を与えることなくマイルドに1細胞単位で細胞を精製分離するために、微細加工技術を利用したハードウェア（装置システム）だけでなく、新しいソフトウェア技術（細胞を可逆的に修飾するDNAアプタマーを利用したプロトコル）を開発して利用しているところであり、各技術ともに特長があるので、その特長と用途に合わせてどの技術を用いるかを定めることとなる。

具体的に、これら4つの技術のうち、磁気ビーズとDNAアプタマーを組み合わせた精製技術と、画像処理型セルソーター技術について、簡単に紹介す

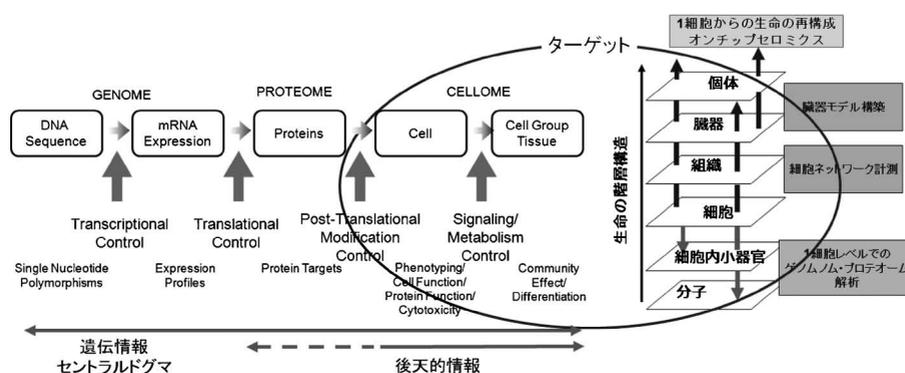


Fig. 2. Reconstructive Approach of Life System from Single Cell

従来の手法



オンチップ・セロミクス計測法

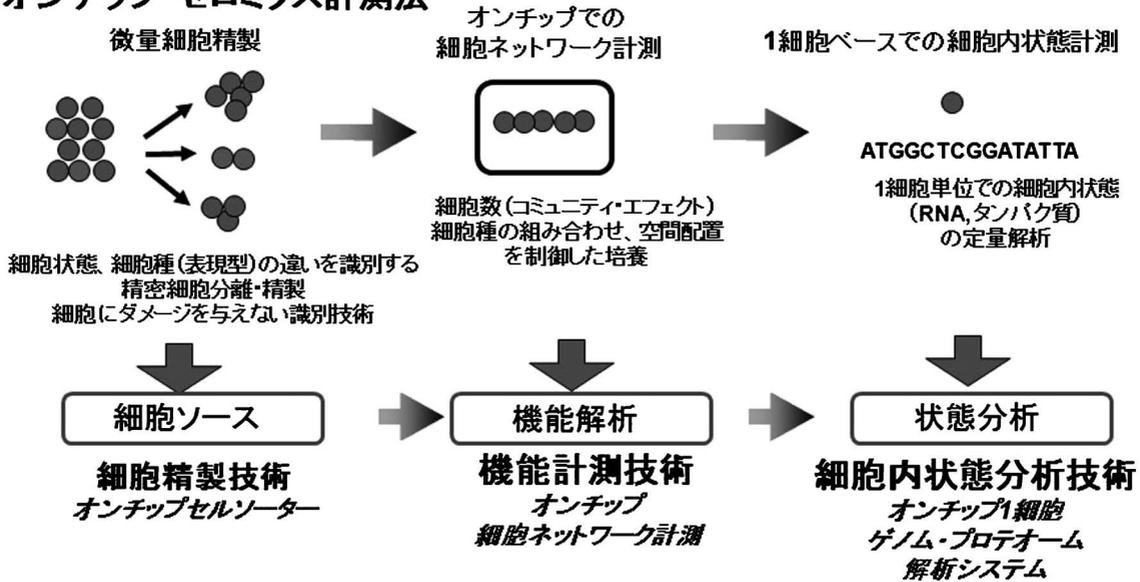


Fig. 3. Nano-biotechnology for On-chip Cellomics

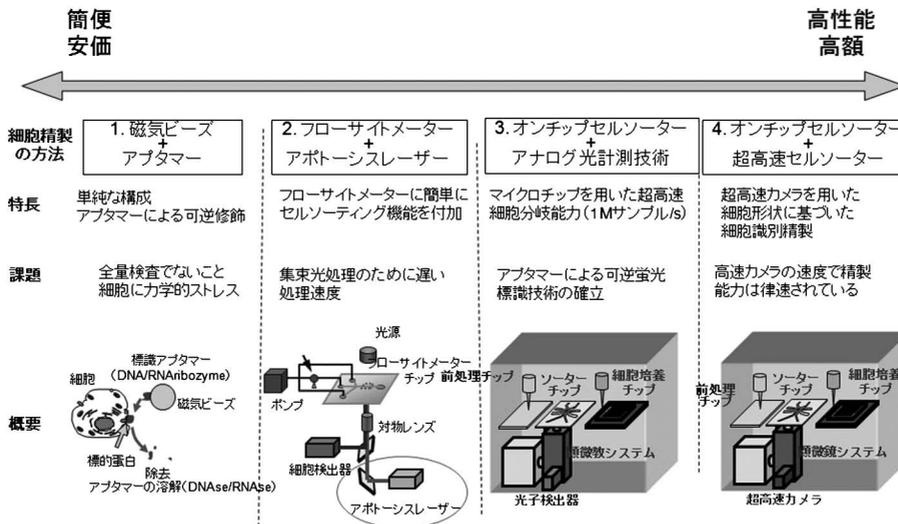


Fig. 4. Four Approaches of Cell Purification Using Nano-biotechnology

る (Fig. 5).

前者は抗体に代る標識物としての DNA アプタマーを利用した簡便な細胞精製技術である.³⁾ 抗体は選択的に細胞にダメージを与えずに溶かすことは

できないのに対して, RNA あるいは DNA リボザイムからなるアプタマーを使えば細胞標識後に溶かすことができる. Figure 5 に実際に DNA アプタマーが細胞表面に結合し, 酵素処理によって除去さ

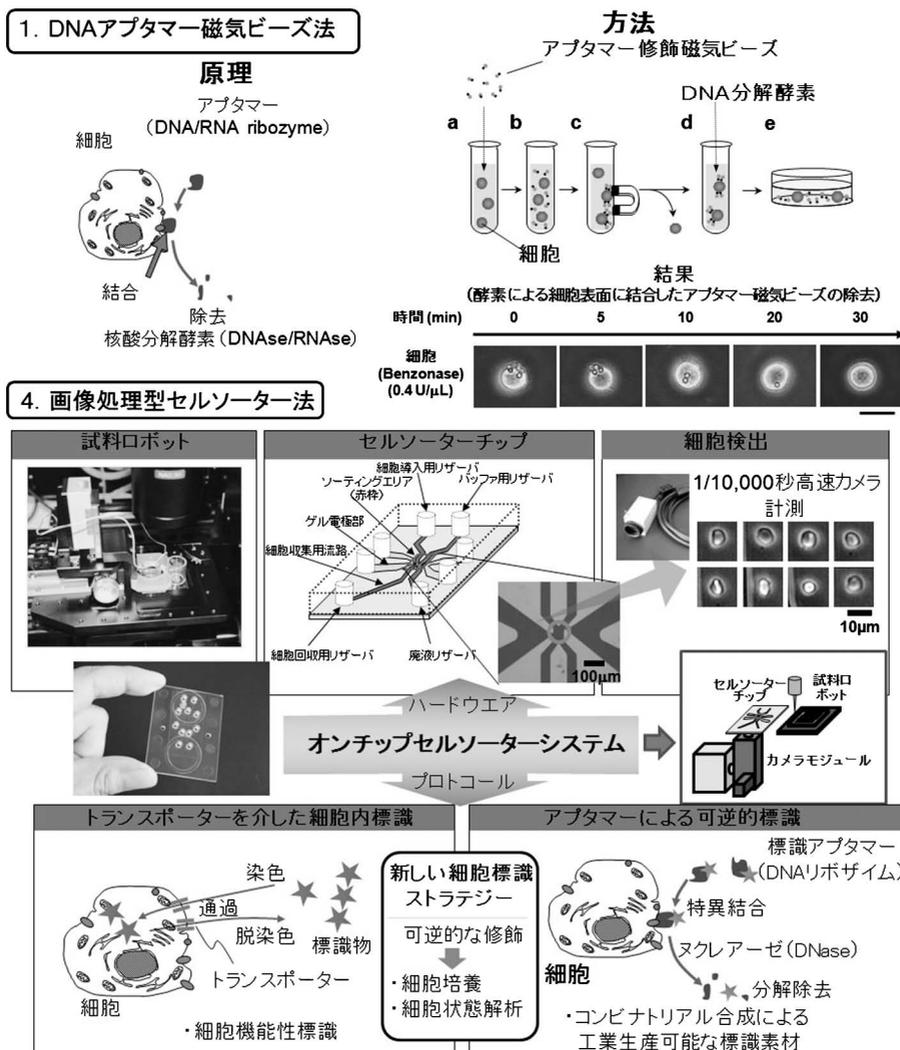


Fig. 5. Cell Purification Using DNA Aptamer and Image-recognition Cell Sorter

れるプロセスを示した。DNA アプタマーを表面に固定化した磁気ビーズを細胞と一緒に試験管中で攪拌すると、細胞表面に磁気ビーズが結合する。その後、DNA 分解酵素を加えると、細胞表面に結合したアプタマーはすべて分解して除去されることが分かる。

次に、画像処理型セルソーターについて説明する。この技術の第1の特徴は、光学系をベースにした目視（実際には画像処理）によってすべての細胞を1つ1つ厳密に見て、その特徴を確認して分離（ソーティング）するということである。そして、そのために中核となる分離チップや試料貯め、精製細胞貯めなどのプラットフォームを備えたシステムを非常にコンパクトに実現している。例えば動物細胞から細胞を取ってきたその場所ですぐにユーザーで

ある生物学者が特定の熟練技術がなくても簡単に細胞を分離精製できるというコンセプトで開発したもので、実際の試作機は遠心分離機より小さいものとなっている。

2番目の特徴は、セルソーティングプロセスのすべてがチップ内の微小流路で行われることである。そのためにチップ中に、必要なすべての要素・機能が組み込まれている。そしてこのチップはプラスチックでできており、焼却処理が可能な使い捨てとなっている。また、チップの底面のプラスチック層の厚さは100ミクロンとなっているため、流路を流れる細胞を最大100倍の対物レンズで直接観察して分離することができる。

第3の特徴として、高速カメラで取得した画像を、そのコマ速度で（1フレームの画像取得イン

ターバル内で) 実時間処理して識別・分離することができることである。現在、システムは1/10000秒単位の画像をリアルタイムで処理して分離するようになっており、これは従来の液滴型セルソーターと同程度の速度での処理ができるものである。

また、新たに開発したソフトウェア(プロトコル)は、従来のセルソーティングの染色方法である抗体標識に対して先にも述べた DNA アプタマーを用いるものである。今までのセルソーターでは抗体が細胞表面に出ているタンパク質などの識別が可能のために大いに活用されていたが、抗体の問題点、すなわち、抗体が本来、細胞を殺すためのツールであるために、抗体が細胞に付くということが細胞にとってはダメージとなるだけでなく、一度細胞に結合した抗体は一般に二度と外すことができないことから精製後に細胞培養を行うにはあまり望ましくないツールとなっている。標的の細胞に付いたマーカーは精製後に細胞から除去できることが理想的なため、本技術では、染色後にこれを除去できる可逆な標識物を使う2つのストラテジーを採用している。

1つはトランスポーターを通過する蛍光標識試

薬、この物質のトランスポーターの通過の具合を観察するという方法である。この場合には、トランスポーターそのものが細胞表面に発現しているかという存在の確認が目的ではなく、例えばリン酸化などによってチャンネルがクローズしているかオープンしているかという機能に関する情報を見ることを目的にしている。そして、このトランスポーターの通過能を見て細胞精製をした後に、この標識された細胞を再培養していると、取り込まれていた標識物はすべて排出されて細胞は初期状態に戻る。

このようなハードウェアとソフトウェアの組み合わせによって、特定の細胞を回収して、次のステップである細胞ネットワーク計測で用いる細胞の供給が可能となるのである。

3-2. 機能解析：オンチップ細胞ネットワーク計測技術 前節で述べたような細胞精製技術で分離した精製細胞はチップ上で各細胞の空間配置を制御した組織モデルとして培養計測することとなる。従来の細胞培養では細胞は無秩序に並んで細胞同士の相互作用も制御することができない (Fig. 6, right)。これを制御することが構成的に細胞集団の

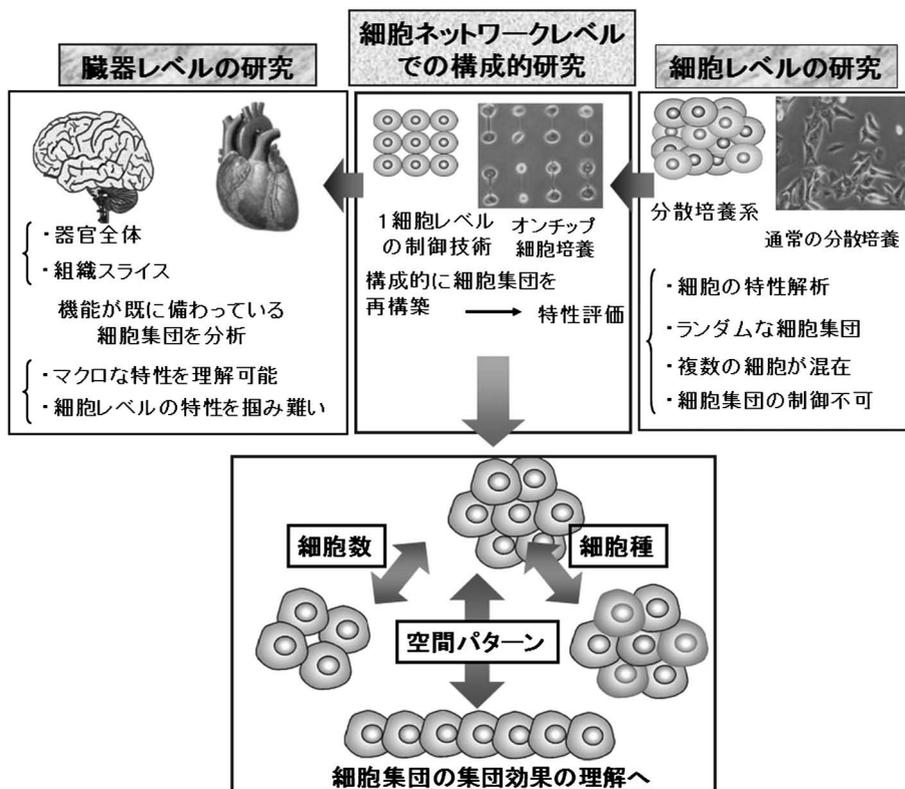


Fig. 6. On-chip Cell Network Cultivation Technology Using Nano-biotechnology

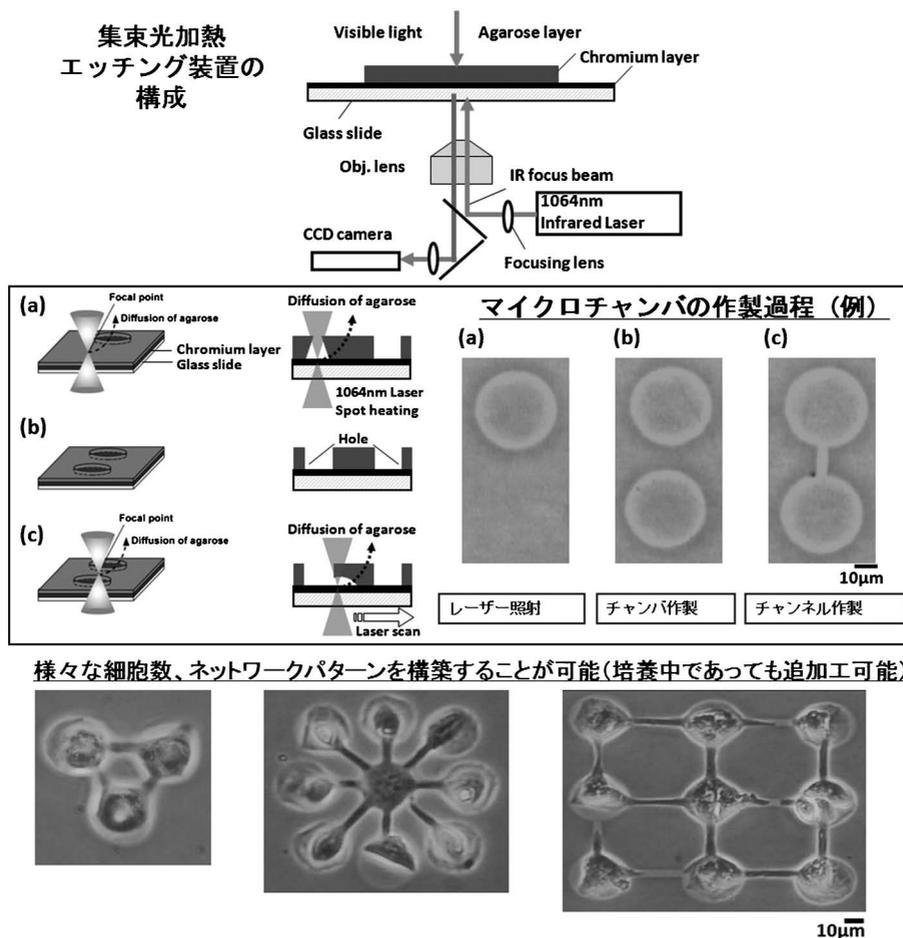


Fig. 7. Cell Network Formation Using Agarose Photo-thermal Etching

空間配置を構築するための第一歩である (Fig. 6, center). そして, 細胞集団のサイズや構成を自在に制御することで, 細胞が集団化することで臓器の機能にどのように近づくことができるかを, 細胞数の効果, 空間配置形状の効果, 細胞種の組み合わせの効果からの観点で計測することができる (Fig. 6, lower). このように細胞を1細胞から空間的構成を制御して細胞集団を構成的に構築することがチップセラミックスの構成的手法となる.

Figure 6での構成的細胞ネットワーク構築を行うためにわれわれが新たに開発した手法によって簡単に実現することができる.^{4,5)} この原理は以下のとおりである (Fig. 7). 細胞を培養する基板上に薄くアガロース (寒天) を塗布し, アガロースに赤外線集束光を与えると集束位置だけ温度が60°C程度に上昇する. これを集束赤外線を用いてマイクロレベルでの局所加熱によって, その照射領域のアガロースのみをゲル状態からゾル状態に変化させて培

養液中に拡散させることで微細加工をするものである. この技術をわれわれはアガロース集束光加熱エッチング技術と呼んでいる. アガロースゲルのメッシュは非常に大きい, ゴル状態になった単一のアガロース分子はメッシュ間ををすり抜け拡散することでこの領域のアガロースが消失するのである. これによってマイクロメートルの微細加工をリアルタイムで顕微鏡を観察しながらすぐできるようになる. ここで重要なことは, このような微細加工のプロセスが細胞培養中であっても行えるということである. すなわち, 従来のマイクロプリンティングやガラスエッチング法などでは不可能であった, 細胞培養をしながら段階的にかつ自在に細胞間のコミュニティとしてのネットワークづくりができるということである. 発生の段階で細胞と細胞の機能的な相互作用は段階的に作られていくと考えられているが, それがチップ上で再現できる, つまり時間発展的にマイクロストラクチャーを変更できるという有

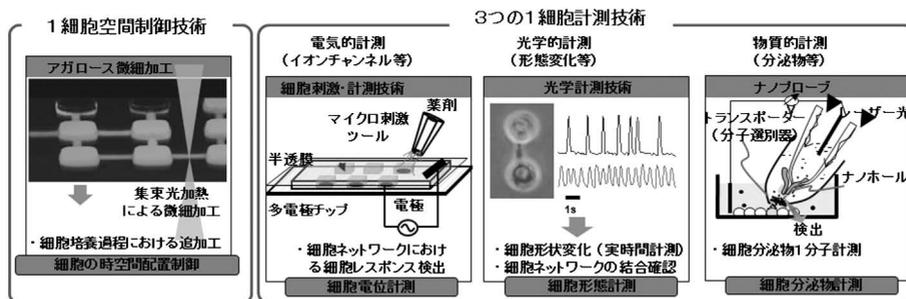


Fig. 8. Nano-biotechnology for on-chip Cell Network Analysis

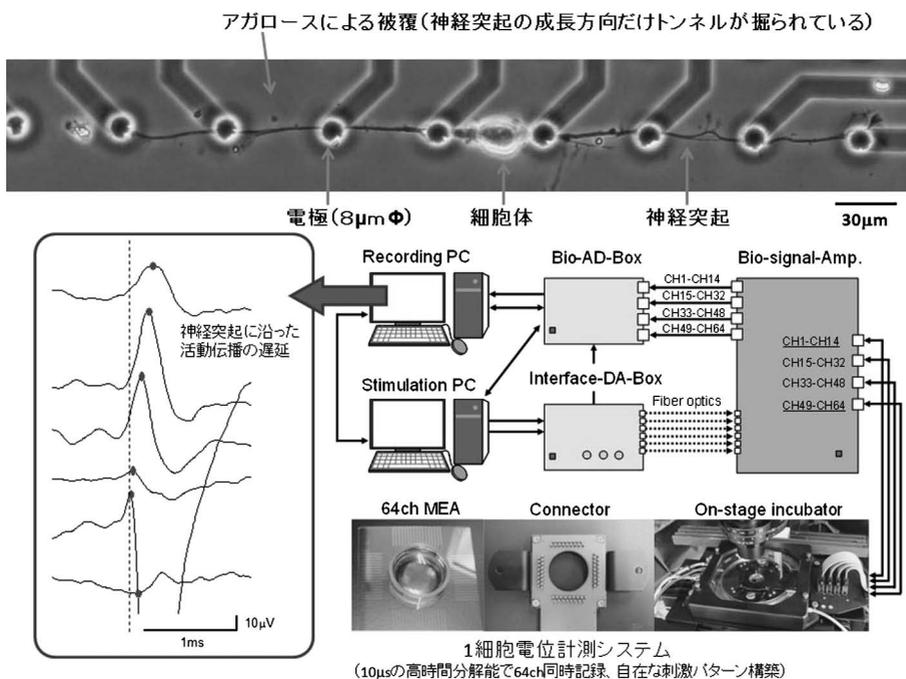


Fig. 9. Single Cell Level Measurement of Single Neuron on Biochip

利さは、生物の世界では特に重要となる。

実際にオンチップ細胞ネットワーク計測を実現するには、Fig. 8に示したように、バイオチップ上の細胞の空間配置制御する技術だけでなく、細胞の状態や機能の変化を細胞を破壊することなく連続的に計測する3つの計測技術、光学計測技術、細胞電位計測技術、細胞分泌物計測技術を組み合わせる必要がある。

例えば、上記アガロース微細加工による細胞配置技術と1細胞レベル電極アレイ電気生理刺激計測システムを組み合わせれば、特定の1細胞に電気的な刺激を与えたり電気的な応答を1ヵ月以上にわたって連続で長期記録することができるようになる。Figure 9は、実際に神経細胞1細胞から伸長した軸索と樹状突起を、電極に沿って伸長するようにアガ

ロース微細加工をして計測をしたものである。図からもわかるように、アガロース微細加工があるために、細胞は電極に沿って神経突起を伸長させることができず、また、電極上の神経突起の電気シグナルを計測システムは測定することができる。⁶⁾

4. 細胞ネットワーク計測の実例

4-1. 細胞の同期現象における集団効果の理解^{7,8)}

実際にオンチップ細胞ネットワーク計測システムを利用して、明らかにできる生命現象の例の1つを紹介したい。これは心筋拍動細胞を用いて明らかにした研究である。孤立化した心筋細胞の拍動は非常に不安定で、その拍動周期の揺らぎは20%以上である。しかし、細胞が集団化することによって、細胞集団のサイズによってその拍動は安定していくことがオンチップ培養システムを利用することで定量

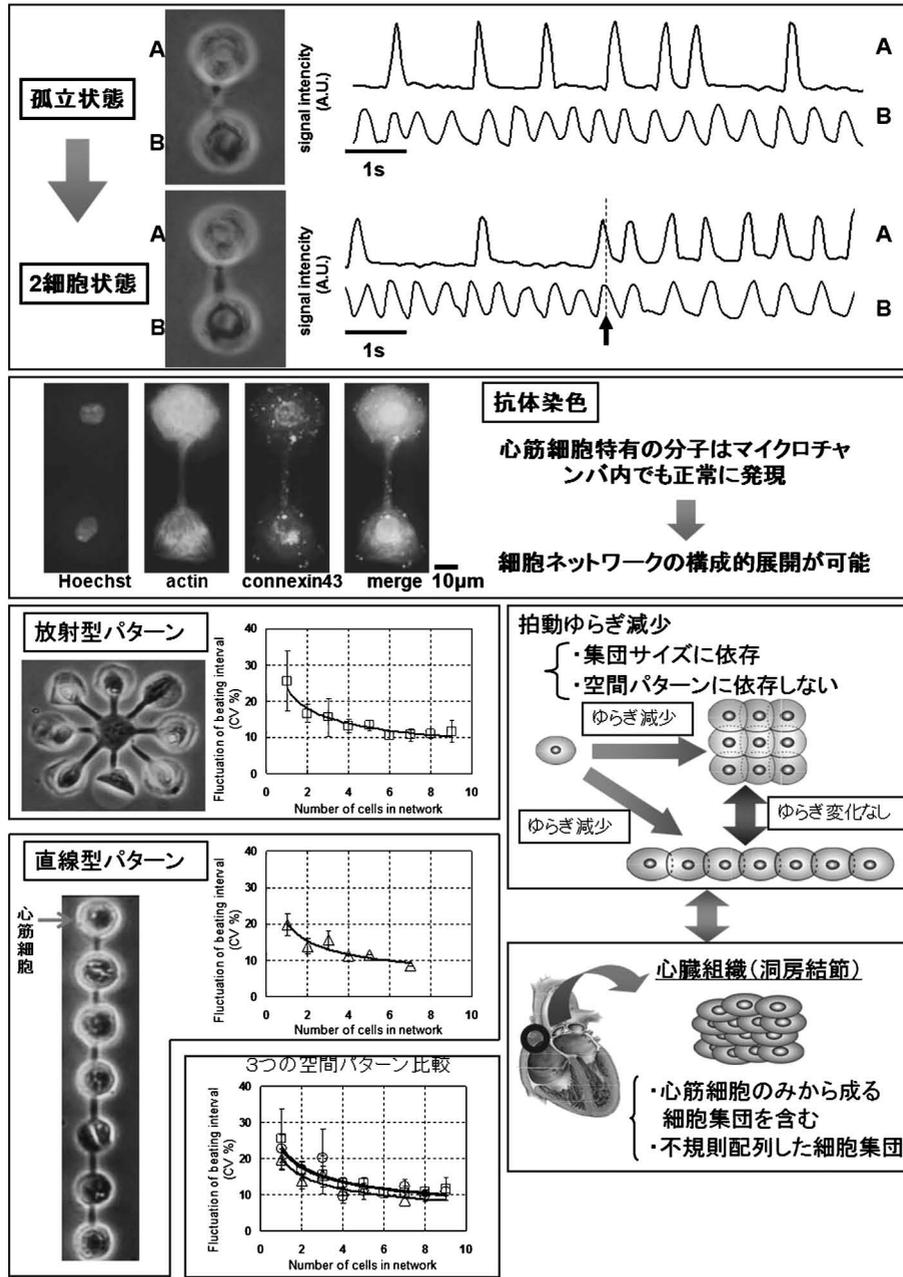


Fig. 10. Community Effect of Cardiomyocyte Cell Network

的に明らかになった (Fig. 10). 孤立化した心筋細胞は、たとえ同じ個体の心臓から採取したものであったとしても、その拍動パターンは異なっている。しかし、孤立化した細胞を接合させると、2つの細胞は新たに異なった拍動パターンを形成して同期拍動を開始する。さらに、孤立細胞に1細胞ずつ段階的に心筋細胞を結合させていくことで、細胞集団サイズの変化に対する同じ細胞の拍動の特性の変化が比較計測でき、その結果から、わずか6細胞程度の集団サイズで臓器(心臓)と同程度の拍動の安定性

(10%揺らぎ)程度まで落ち着くことがわかった。また、細胞集団のサイズだけでなく、細胞集団の空間配置の違いの影響についても明らかにすることができた。この結果は、細胞集団の同期化・安定化について、その空間配置の違いは大きな要因とはならず、あくまでも細胞数が重要であるというものであった。このことは実際の心臓のペースメーカー領域(洞房結節)の特徴(細胞数のみが重要で配列に規則性がない)を説明することができるものであった。

4-2. 神経ネットワークの機能解析^{9,10)} 神経

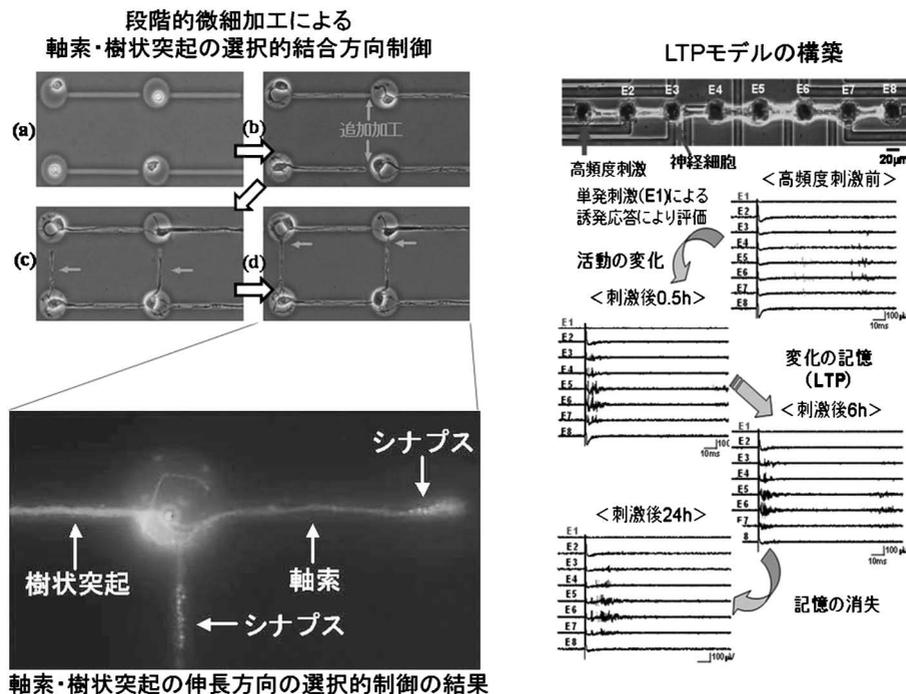


Fig. 11. On-chip Neuronal Network

細胞から伸長する神経突起にはルールがあり、最初に伸長する突起は軸索、2本目以降は樹状突起となることが知られている。そこで、われわれのアガロース微小加工技術を用いて、細胞から伸長する最初の神経突起（軸索）を、唯一空けておいたトンネルに誘導し、その後、段階的にトンネルを追加して他の神経突起（樹状突起）を別のトンネルに誘導することで、神経ネットワークを結合方向を完全に制御することに成功している（Fig. 11, left）。さらに、直列に結合した神経ネットワークにテタヌス刺激を与えると、テタヌス応答が30分後から計測することができ、さらに24時間後にその効果が消失することが計測された（Fig. 11, right）。この結果は、神経ネットワークが非常に単純な数個のネットワークレベルであっても記憶機能を持っていることを示している。

4.3. 創薬スクリーニングシステム 心筋細胞ネットワークを環状に配置すると、心臓臓器内での拍動の伝動機構を模した回路を構築することができる（Fig. 12）。ここでは、1細胞レベルでの電位変化から各イオンチャンネルのブロック状態を計測することができるだけでなく、光学計測による細胞の収縮状態から見積もった拍出量変化の見積もり、さらに、臓器を模した細胞ネットワークをチップ上に

構築することで、従来、細胞からの見積もりが困難であった致死性期外収縮の発生の推測までができるようになりつつある。特に細胞ネットワーク中の1細胞レベルでの電位計測技術は、そのまま既存のパッチクランプ計測との微分・積分の関係にあり、また、各1細胞電極のデータをコンピュータ内で重ね合わせたものは、そのまま心電図と同じ傾向を示すデータに変換することが可能である（Fig. 12, lower）。この技術は、今、ヒトES細胞／ヒトiPS細胞などのヒト細胞由来の心筋細胞を用いることができるようになったことから、これらの細胞を用いてヒトの応答を見積もることができる創薬スクリーニングシステムとして開発が進められている。

不整脈は心臓の突然死を引き起こす重大な疾患の1つであるが、心室性頻拍の一種であるトルサードポアンツ（Torsades de Pointes: TdP）は、心臓のポンプ機能を低下させ、突然死を招くことがある予後不良の頻脈性不整脈として知られている。不整脈の原因は主に①異所性自動中枢、②興奮旋回（リエントリー）、③誘発活動であると考えられているが、特に、電気的興奮が組織内を旋回し一回の興奮で何度も興奮を繰り返す現象である興奮旋回（リエントリー）が起こることがTdP発生の主要原因と考えられている。抗がん剤や抗菌薬など、元来、ヒトに毒

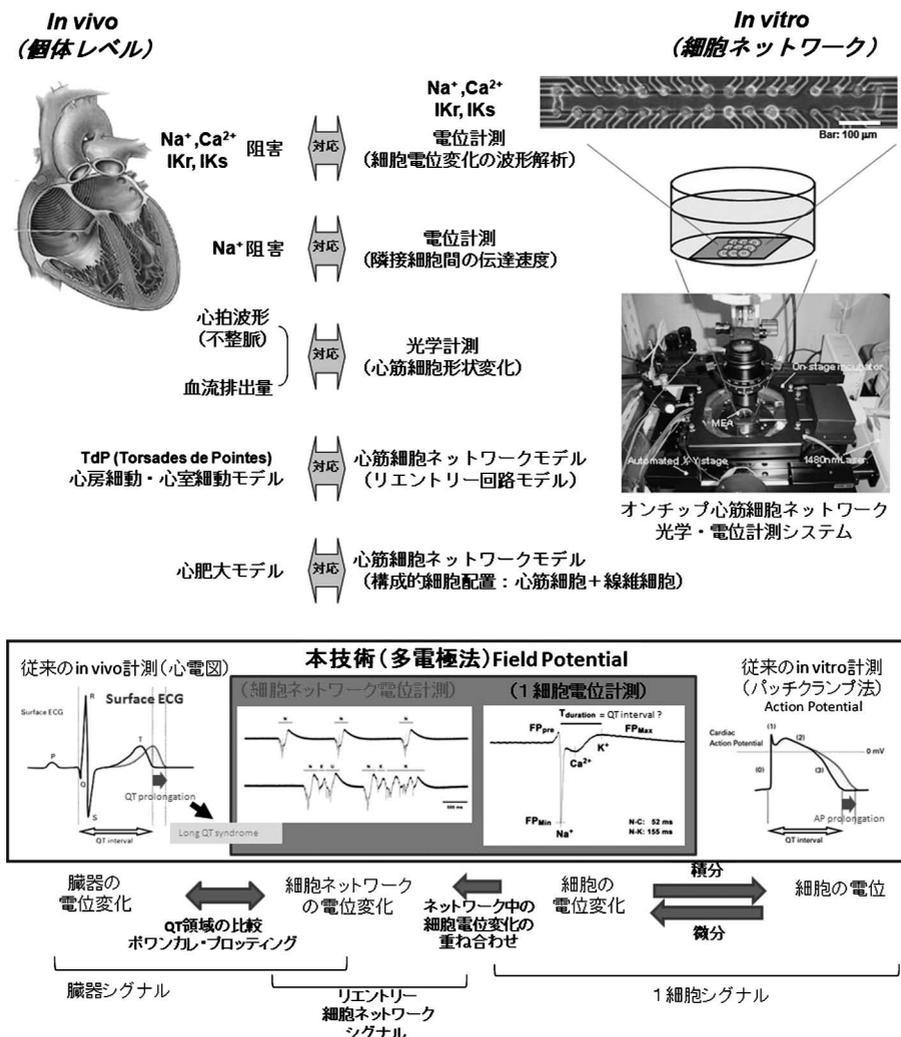


Fig. 12. On-chip Cardiomyocyte Network Model for Drug Screening

性がある物質が、心筋細胞のイオンチャンネルを塞ぐことで、一部の心筋細胞のイオンポンプ機能が低下すると細胞ネットワークでの興奮伝達が異常になり、信号が対消滅できずに旋回し始め TdP が発生することが薬剤毒性となる。問題はこのリエントリーの発生がヒト固有のイオンチャンネルの構成の問題から、動物実験だけでは判断できない大きなリスクを持っているということなのである。ところが近年、iPS 細胞などのヒト幹細胞由来心筋細胞が容易に供給できるようになったことから、このようなヒトへの薬剤の安全性を検査する技術の開発に大きな進展があった。すなわち、バイオチップ上に心臓のリエントリーモデルを構成的に構築することができれば、ヒト個体の不整脈発生のモデルとして利用することができる可能性が出てきたのである。実際に心筋細胞の環状ネットワークを利用すると、正常

な対消滅をする心筋細胞ネットワークの拍動パターンが、異常発生によって TdP 発生と同じ現象を起こすことが確認できるところまでになっている。現在、このシステムを改良して実用的な評価可能技術にするための検証実験が精力的に進められている。

5. まとめ

1 細胞から構成的に構築した細胞ネットワークを用いた計測技術「オンチップ・セロミクス計測」を実現するためには、「構成的配置」を可能にするナノバイオテクノロジーが不可欠である。細胞を 1 細胞単位で精製するセルソーターチップ、1 細胞単位で配置し計測する培養計測チップ、そして、本稿では割愛したが 1 細胞レベルで細胞内状態を計測することができるオンチップ・ゲノムプロテオーム計測技術などである。これら微細加工技術と計測技術が融合したナノバイオ技術によって、次世代の生命科

学の研究がさらに発展することを期待している。

謝辞 本研究を推進してくれた金子智行准教授、野村典正助教、鈴木郁郎助教はじめ安田研究室の全メンバー、協力者の皆様にこの場を借りて心より感謝申し上げます。本研究は、研究を推進してきた全メンバーのお互いの協力と不眠不休の努力の成果であることを記させていただきます。

REFERENCES

- 1) Yasuda K., "On-chip Single-cell Cultivation Systems, Lab-on-Chips for Cellomics," eds. by Andersson H., van den Berg A., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2004, pp. 225–256.
- 2) Takahashi K., Hattori A., Suzuki I., Ichiki T., Yasuda K., *J. Nanobiotechnol.*, **2**, 5 (2004).
- 3) Anzai Y., Terazono H., Yasuda K., *J. Biol. Phys. Chem.*, **7**, 83–86 (2007).
- 4) Moriguchi H., Wakamoto Y., Sugio Y., Takahashi K., Inoue I., Yasuda K., *Lab Chip*, **2**, 125–132 (2002).
- 5) Hattori A., Moriguchi H., Ishiwata S., Yasuda K., *Sens. Actuators, B.*, **100**, 455–462 (2004).
- 6) Suzuki I., Hattori A., Yasuda K., *Jpn. J. Appl. Phys.*, **46**, L1028–L1031 (2007).
- 7) Kojima K., Kaneko T., Yasuda K., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **351**, 209–215 (2006).
- 8) Kaneko T., Kojima K., Yasuda K., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **356**, 494–498 (2007).
- 9) Suzuki I., Sugio Y., Jimbo Y., Yasuda K., *Lab Chip*, **5**, 241–247 (2005).
- 10) Suzuki I., Yasuda K., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **356**, 470–475 (2007).