バイオセンサを利用したアレルギー病態解明と治療ターゲット探索

Real time monitoring of vascular endothelial cell reactions by biosensors

[1] 広大医、[2] 立命館理工、[3] 東北大工 ○柳瀬雄輝 [1]、宇野重康 [2]、宮本浩一郎 [3]、秀 道広 [1]

[1]Hiroshima Univ., [2]Ritsumeikan Univ., [3]Tohoku Univ.

Yuhki Yanase[1], Shigeyasu Uno[2], Koichiro Miyamoto[3], Michihiro Hide[1]

E-mail: yyanase@hiroshima-u.ac.jp

〔背景〕 生命の最小単位である生細胞の挙動を無標識・リアルタイムに検出可能なデバイスは、バイオ・医療分野で強く求められている。これまでに我々は、表面プラズモン共鳴イメージング（SPRI）センサやインピーダンスセンサを利用して、センサ上に培養した生細胞の状態・応答を非標識、かつリアルタイムに検出できることを見出した。インピーダンスセンサは、電極間に流れる電流が電極間に存在する物質により妨げられることをインピーダンス（電気抵抗）の上昇として検出できるバイオセンサである。そのため、電極間のタンパク質密度やイオン密度の変化が生じた場合にはインピーダンス変化として検出し得る。一方、電極上に細胞が結合すると溶液中の物質密度の変化に比べ、大きなインピーダンスの変化が生じる。また、そのインピーダンスの変化は電極上に付着する細胞数、付着面積に比例することが知られている。そのため、細胞刺激前後の細胞接着面積の変化をモニタリングするのに有用な手法である。本手法を用いれば、従来の蛍光観察法や Boyden chamber を利用した色素透過による評価法に比べ、より客観的、高感度で、さらにリアルタイムに血管透過性の動態をモニタリングすることができると考えられる。本研究では、インピーダンスセンサを利用した血管内皮細胞モニタリング法を、皮膚アレルギー病態の解明と治療ターゲット探索に応用した。

〔方法〕 インピーダンスセンサとして iCELLigenc（ACEA Bioscience 社製）を使用した。血管内皮細胞としてヒト臍帯血由来血管内皮細胞（Huvec）を使用した。血管内皮細胞を電極上に播種して、翌日、処理が必要な場合は前処理、2 日後に完全培地もしくは 2%BSA を含む基本培地内で、阻害薬・受容体拮抗薬等の存在下もしくは非存在下でヒスタミンや血漿成分に対する反応をモニタリングした。

〔結果〕 血管内皮細胞をヒスタミン、血漿成分で刺激すると、細胞間接着の減弱と付着面積の減少に伴うインピーダンスの低下が認められた。また、それぞれの刺激によるインピーダンスの低下は、刺激の伝達を特異的に抑制する阻害薬や受容体拮抗薬の処理によって抑制された。

〔考察〕 インピーダンスセンサ上に皮膚アレルギー病態において起こり得る環境を再現し、その際の血管内皮細胞接着状態の変化をモニタリングすることができた。さらに、それらの反応を制御する分子の探索にも応用可能であることを示した。今後、センサ上により生体に近い環境を構築することで、複雑な皮膚アレルギー病態の解明や治療ターゲットの探索に繋げる。また、今回確立した手法と、センサ上の屈折率分布をイメージング可能な SPRI センサ組み合わせることで、2 次元分解能をもつアレルギー病態モニタリングシステムを開発する。

© 2017年 応用物理学会