

C317

肝組織工学のための細胞包埋ゲル充填 scaffold 培養基材の開発

(九大院工) ○(正)井嶋 博之*・(学)久保 孝文・(九大工) 白木川 奈菜・
(九大院工) 侯 詠徳・(正)武井 孝行・(正)境 慎司・(正)川上 幸衛

【緒言】 我々は代謝の中心である肝臓の組織工学的手法による再構築を目指し、優れた肝機能発現とスケールアップの両立を目論んだ細胞包埋ゲル充填 scaffold (CGS) 培養技術 (Fig.1) を提案した。そこで今回は、ヒドロゲルに機能性分子を固定化することによる CGS 培養技術の高度化について検討した。

【実験方法】 コラゲナーゼ灌流法により取得した初代肝細胞を用い、トランスグルタミナーゼ (TG) 含有ゼラチンを 37°C にてインキュベーションすることにより細胞包埋ヒドロゲルを作製した。さらに、上記ゲル作製時に肝細胞増殖因子 (HGF) を添加することにより、HGF 含有 TG-ゼラチンゲルも作製した。一方、肝細胞培養のための HGF 固定化に対してヘパリンが有効であることが知られている [1]。そこで、ヘパリンの還元末端のアルデヒド基とゼラチン側鎖のアミノ基との反応を利用した部位特異的ヘパリン固定化ゼラチンを作製した。

【結果および考察】 初代肝細胞の機能発現は単層培養およびスフェロイド培養において培地中への HGF 添加により向上する [2]。一方、細胞外マトリックス由来ヒドロゲル培養では、肝細胞は分散状態でさえも良好な機能発現が可能である [3]。そこで、肝細胞包埋 TG-ゼラチンゲル培養を行ったところ、肝細胞のゲル内分散培養においても、HGF 添加培地の使用により肝細胞のアルブミン合成活性が向上することが示された (Fig.1)。さらに、HGF 含有 TG-ゼラチンゲルを用いた肝細胞分散培養を行ったところ、HGF 不含培地を用いた培養においてさえも肝細胞のアルブミン合成活性は向上した (Fig.1)。しかも、その活性レベルは培養 9 日目においても HGF 添加培地を用いた場合と同等の高い水準を維持していた (Fig.1)。

一方、部位特異的ヘパリン固定化ゼラチンは TG によるゲル化が可能であった。本培養基材と TG を用いた初代ラット肝細胞のゲル内分散培養実験の結果、細胞障害性が無いことが示された。本培養基材は増殖因子を混ぜるだけで増殖因子の機能性を保持した状態でのゲル内固定化が期待できる。今後、本培養基材と CGS 培養技術を組み合わせることにより、肝組織工学構築技術の高度化を目指

していく必要がある。

【結言】

- 肝細胞包埋 TG-ゼラチンゲル培養においてゲル内に HGF を含有させることで、HGF 不含培地中에서도アルブミン合成活性が向上し、培養 9 日目においてもその効果が確認できた。
- 部位特異的ヘパリン固定化ゼラチンを作製し、肝細胞のための機能性培養基材としての可能性を示唆することが出来た。

【参考文献】

- [1] H. Ijima, T. Kubo, *et al.*, *Biochem. Eng. J.*, **46**, 227-233, 2009
- [2] H. Ijima, *et al.*, *Biochem. Eng. J.*, **47**, 19-26, 2009
- [3] H. Ijima, *et al.*, *Biochem. Eng. J.*, **45**, 226-231, 2009

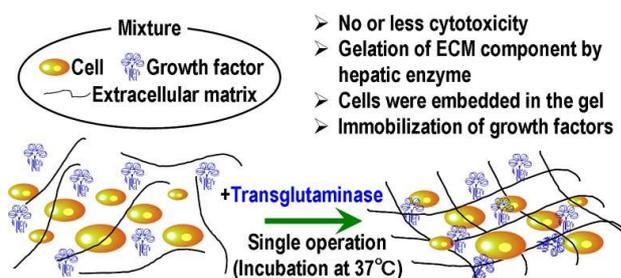


Fig.1 細胞包埋ゲル充填 scaffold 培養技術

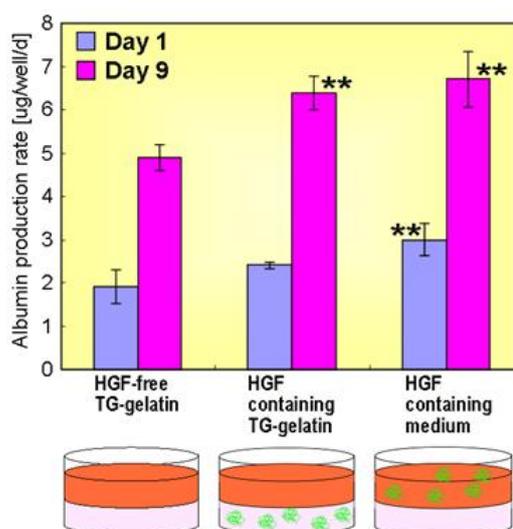


Fig.2 初代ラット肝細胞のアルブミン合成活性発現に対する HGF 含有培地および HGF 含有 TG-ゼラチンゲルの効果

* E-mail: ijima@chem-eng.kyushu-u.ac.jp