

## C318

中空糸/オルガノイド培養法による ES 細胞の肝分化と  
人工肝臓モジュールへの応用

(九大院工)○(正)水本博・(学)池田馨・(学)稲森雅和・(学)網本直記  
(北九大環境工)(正)中澤浩二・(九大院工)(正)井嶋博之・(正)船津和守・(正)梶原稔尚\*

## 【緒言】

我々はこれまでに血漿分離用中空糸内部において培養肝細胞が細胞組織体（オルガノイド）を形成する中空糸/オルガノイド培養法を開発し、この培養法を利用した体外設置型のハイブリッド型人工肝臓の開発に取り組んできた。一方、人工肝臓開発における現在の大きな問題点の一つは臨床適用時の細胞源の確保である。ヒト由来でかつ安全な細胞を確保する手段として、近年では胚性幹細胞（ES 細胞）や人工多能性幹細胞（iPS 細胞）といった多能性幹細胞の利用が大いに注目されている。我々はこれまでにマウス ES 細胞に対し中空糸/オルガノイド培養を適用することにより、オルガノイドを構成する細胞の一部が肝機能を有する細胞へ分化することを見出している。そこで本研究では、本手法を利用した人工肝臓モジュールを開発し、その性能評価を行った。

## 【実験方法】

作製した人工肝臓モジュールを Fig. 1 に示す。オルガノイド形成容器である中空糸をモジュール内に規則的に配置するために、長さ 7cm、130 本のセルローストリアセテート製中空糸（孔径：0.2  $\mu\text{m}$ 、東洋紡績）から成る編織シートを作製した。作製した編織シート 1 層をモジュール（容積：2.97  $\text{cm}^3$ ）に充填し、編織シートを構成する中空糸内部に  $6.2 \times 10^6$  cells のマウス ES 細胞を固定化後、灌流培養を行った。肝細胞への分化誘導のために、培養 9 日目より酪酸ナトリウムを、また、15 日目以降は肝細胞の成熟化に効果があるデキサメタゾン、オンコスタチン M、インスリン、トランスフェリン、セレンウムを添加し培養を行った。

動物実験による性能評価として、Fig. 2 に示す体外循環ラインを用いて肝不全ラットへの適用を行った。まず、ラット（7 週齢、オス）に対して 70% の部分肝切除と門脈、肝動脈の 10 分間虚血を組み合わせることにより実験的に肝不全状態を誘導した。その後、あらかじめ ES 細胞を固定化し、前培養の期間において肝分化誘導を行った人工肝臓モジュールを組み込んだ体外循環システムと接続し、1 時間の適用実験を行った。

## 【実験結果および考察】

中空糸内部に充填された ES 細胞は、オルガノイドを形成した。細胞の増殖とともにオルガノイドは中空糸

の軸方向に伸張し、最終的には中空糸内部全ての空間を占め、高密度培養を達成した。肝細胞への分化の指標として、アンモニア除去能とアルブミン分泌能の評価を行った結果、いずれの機能も培養 2 週間目以降に発現が認められた。人工肝臓モジュールとしての性能の指標として、モジュール単位体積あたりのそれぞれの機能を初代マウス肝細胞の場合と比較した結果、アンモニア除去能で 3 割程度、アルブミン分泌能で 8 割程度の機能発現が達成された。動物実験については、現在 ES 細胞を充填したモジュールと初代マウス肝細胞を充填したモジュールを用いた治療効果の比較を行っている。

## 【結言】

ES 細胞を細胞源とした人工肝臓モジュール開発を行った結果、肝機能の発現が認められた。確認された機能が治療効果に反映するかどうかについて現在肝不全動物への適用実験を進めている。

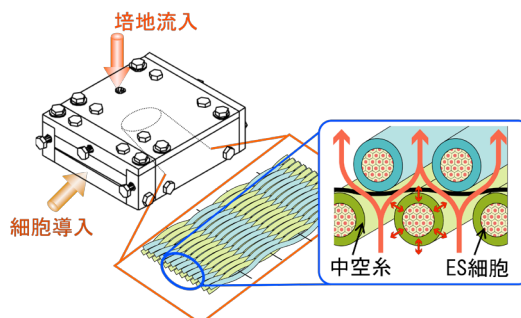


Fig. 1 人工肝臓モジュール

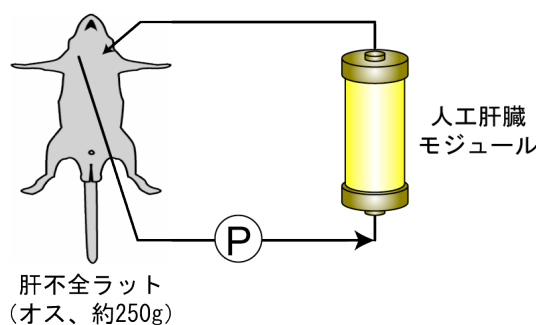


Fig. 2 体外循環システム

\*TEL: 092-802-2746 FAX: 092-802-2796  
E-mail: kajiwara@chem-eng.kyushu-u.ac.jp