

B219

中空糸内部でのES細胞の肝分化誘導プロセスを利用した人工肝臓装置の開発

(九大工) ○ (学) 池田 馨・青木 健太朗・(正) 水本 博
(北九大環境工) (正) 中澤 浩二・(九大工) (正) 井嶋 博之・(正) 船津 和守・(正) 梶原 稔尚*

【緒言】

肝不全患者をサポートする新しい治療法として肝機能を有する細胞と人工材料を組み合わせたハイブリット型人工肝臓が注目されている。現在、この開発においては用いる細胞源の確保が重要課題である。我々は細胞源の候補として、胚性幹細胞(ES細胞)に注目し、血漿分離用中空糸内部でES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用いた肝細胞への分化誘導に取り組んできた。その結果、オルガノイド形成と肝分化誘導因子による刺激との組み合わせによりES細胞から肝機能を発現する細胞への分化を確認している。本研究では、この分化誘導プロセスを利用した人工肝臓装置を開発し、その性能評価を行った。

【実験方法】

オルガノイド形成容器である中空糸を規則的に装置内に固定するために、中空糸固定用の糸で編んだ編織層形態とした。長さ7cm、130本のセルローストリヤセテート製中空糸(孔径:0.2μm、東洋紡績)を手織機を用いてFig. 1のような編織シートを作製した。そして編織シート1層を充填した人工肝臓装置(容積2.97cm³)を作製した。装置内に6.2×10⁶cellsのマウスES細胞を遠心播種し、30日間灌流培養を行った。肝細胞への分化誘導のために、培養9日目より1mMの酪酸ナトリウムを添加した培地を使用した。さらに、15日目以後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、トランスクレーファリン、セレニウムを添加した培地に切り替えて培養を行った。

【実験結果および考察】

装置内での酸素消費量は培養9日目まで増加し、その後30日目までほぼ一定の値が維持された。この結果、培養9日目まで細胞が増殖し、それ以後は装置内の細胞数はほぼ一定であったと予想される。

Fig. 2に肝臓の解毒能の指標として装置単位体積あたりのアンモニア除去速度の経時変化を示す。この結果、培養15日目頃から機能発現が確認された。また、初代マウス肝細胞を充填した装置と比較した結果、3割程度の機能発現を達成した。

Fig. 3に肝臓のタンパク合成能の指標として装置単位体積あたりのアルブミン分泌速度の経時変化を示す。この結果、培養12日目頃から機能発現が確認された。また、初代マウス肝細胞を充填した装置と比較した結果、8割程度の機能発現を達成した。

【結言】

ES細胞用に編織層構造を有する人工肝臓装置を開発した。その結果、現状でも初代肝細胞を充填した場合と比較して約3倍の装置体積を準備することにより

同等の治療効果が期待できる。そこで、今後は機能発現レベルの向上を目指すとともに、実際の治療効果を評価するために動物実験による本装置の性能評価を行う予定である。

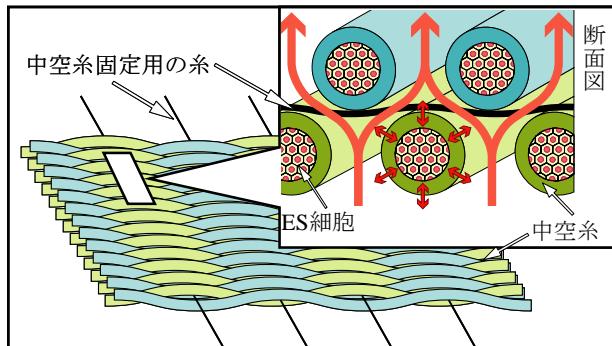


Fig. 1 編織層構造を有する人工肝臓装置内の模式図

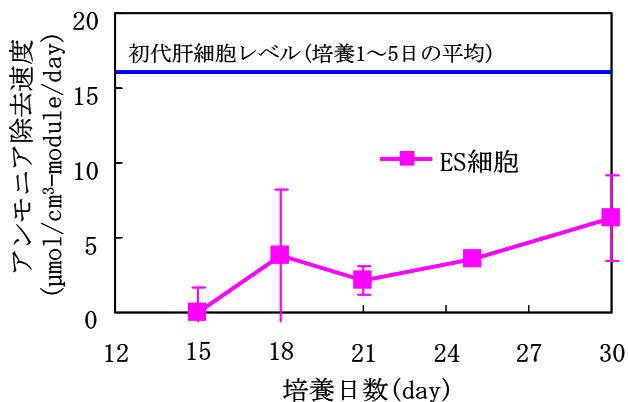


Fig. 2 装置単位体積あたりのアンモニア除去能の評価

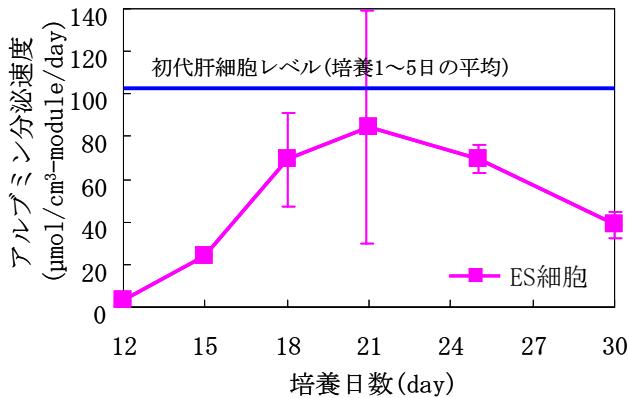


Fig. 3 装置単位体積あたりのアルブミン分泌能の評価