

バイオ人工肝臓へのTissue Engineering



粕谷淳一 田母神龍 小林哲也 小松那也 隅井干城 益田源太



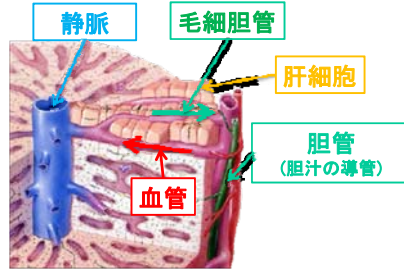
Tanishita Laboratory

研究背景

Tissue engineered liverとは...

末期の肝疾患である肝臓がんや肝硬変に対する現在有効な治療法は生体外肝移植のみですが、ドナーの不足や移植後の免疫拒絶反応等の問題があります。

そこで、組織工学により構築された肝臓 (Tissue engineered liver) による治療が期待されています。



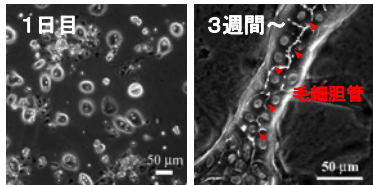
肝臓の微小環境模式図

Tissue engineered liverの実現にむけて...

- 栄養・酸素を供給する血管の肝組織への導入
- 生体内のような3次元肝組織を構築するための細胞が接着する足場の最適な設計
- 胆汁排出機構を有する肝組織の構築
- 異種細胞が秩序だった構造を有する組織の構築
- 細胞周囲の力学環境と形成される組織の関係等々の課題があります。

これまでの研究成果

小型肝細胞による毛細胆管の形成(札幌医科大学との共同研究)



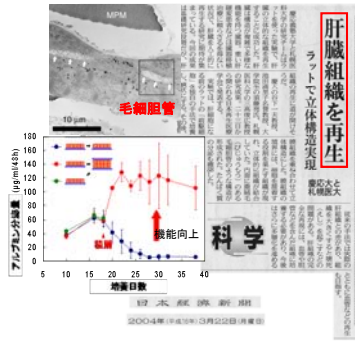
ラットの肝臓から小型肝細胞という前駆細胞を培養すると、生体外で肝臓に似た組織を再生させることが出来ます。特に、毛細胆管という構造が再生され、生体内と同様の機能を持つことが分かりました。(Sudo et al., J Cell Physiol, 2004)

ポリカーボネート膜(PCMB)を用いた小型肝細胞の積層培養



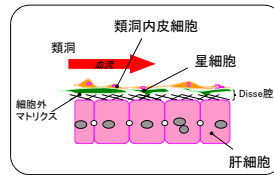
さらに、肝臓の3次元構造を形成させるために、多孔性膜の上で培養した細胞を積み重ねることで3次元構造を構築しました。その結果、上下の細胞間に毛細胆管が形成され、肝細胞の機能を向上させることに成功しました。

(Sudo et al., FASEB J., 2005)

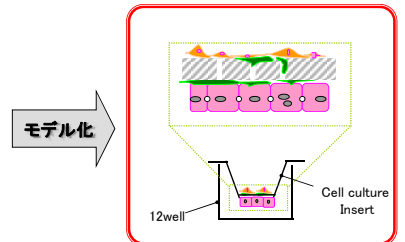


Theme II 肝細胞と血管内皮細胞の共培養

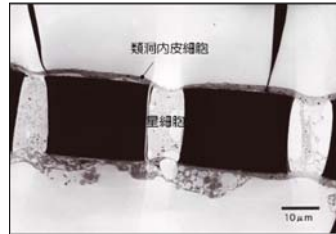
血管を有する肝組織構築を目指す



生体内肝臓微小環境



Cell culture Insertを用いた共培養を提案



肝臓では肝実質細胞は多くの肝非実質細胞と活発な相互作用のもと、秩序立った3次元構造を構築しています。特に血管構成細胞との相互作用は多くの役割を担っており、発達した3次元肝組織の再構築に必須です。

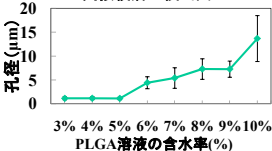
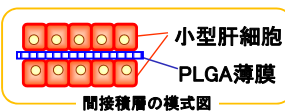
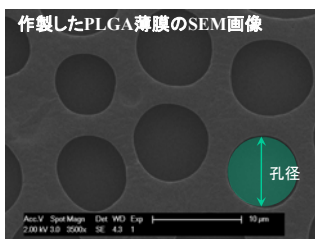
血管を有する3次元肝組織の構築を目指し、共培養モデルの確立を目指しています。

Theme I 生体吸収性薄膜を用いた肝細胞の積層培養

肝細胞の三次元組織の再構築を目指す

SudoらはPCMBにより肝細胞素を模倣した積層培養を提案しましたが、足場(PCMB)が非分解性であるため三層以上の積層が難しいこと、体内に移植した際に異物混入となるという課題がありました。

そこで、生体適合性、生体吸収性であるPLGA(ポリ乳酸-グリコール酸共重合体)を用いて肝細胞の積層培養に適した薄膜を作製し、その薄膜を細胞間に介在させた際の間接的な積層培養を行っています。



PLGA薄膜の孔径や空隙率を制御して作製し、間接積層培養下での経時的な膜の分解と上下の細胞間が接着していく様子进行评估することで多層の積層培養モデルの確立を目指します。

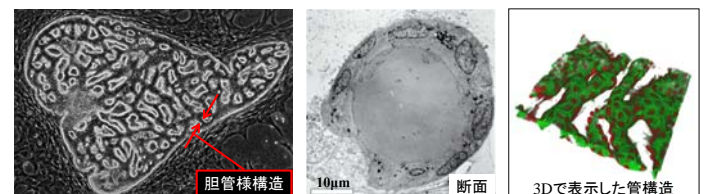
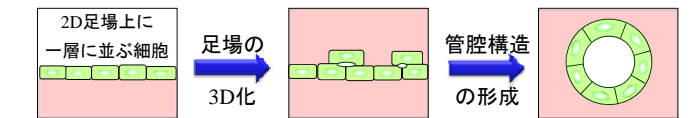
Theme III 胆管上皮細胞による胆管組織の再生

胆汁排出機構を有する肝組織の再構築を目指す

胆管は肝細胞で作られた胆汁を小腸まで輸送する導管です。胆汁排出経路をもつ肝組織を再生させるためには胆管の再生が必須です。この胆管を構成する胆管上皮細胞を分離・培養して組織化させます。3次元足場と細胞の分化誘導の結果、下図のような胆管様構造の構築に成功しました。

(Hashimoto et al., Am J Pathol., 2008)

管腔構造形成プロセスの模式図



今後は、管腔構造形成における細胞とその周囲の力学環境に着目し、毛細胆管と胆管の接続を目的とした共培養系の確立を目指しています。