

# 主 論 文 要 旨

|   |       |   |     |      |
|---|-------|---|-----|------|
| 報告番号  | ① 乙 第 | 号 | 氏 名 | 須藤 亮 |
| 主 論 文 題 目：<br>Reconstruction of hepatic organoids with functional bile canaliculi using rat small hepatocytes<br>(ラット小型肝細胞を用いた機能的な毛細胆管を伴う肝臓類似組織の再構築)  |       |   |     |      |
| (内容の要旨)   |       |   |     |      |
| <p>将来的な肝臓病治療のためにバイオ人工肝臓の開発が進められている。肝細胞は生体内で再生能力を持つにも関わらず、生体外でその機能を維持することは難しい。しかし、最近の研究の成果により前駆細胞あるいは幹細胞と呼ばれる一部の細胞は生体外においても組織を再生する能力を持つことが分かってきた。本研究では、肝前駆細胞である小型肝細胞を用いて生体外で肝臓に類似した組織を再構築することを目的とした。小型肝細胞を含む肝臓構成細胞は、成熟ラットの肝臓から分離して実験に用いた。肝組織を再構築するためにはばらばらの細胞が互いに統合し、多細胞組織を構築していく必要がある。小型肝細胞は生体外で増殖し10日程度で細胞集団を形成すると、一部の小型肝細胞は他の肝臓構成細胞である星細胞や肝上皮様細胞との相互作用によって成熟化し、細胞間に生体内の肝細胞で見られるような毛細胆管様の構造を形成する。毛細胆管の形成は細胞間で生じる構造物であることを考えると、隣接する細胞が統合される点で組織再構築の第一段階である。そこで、この毛細胆管様の構造が生体内の毛細胆管と同様の機能を有するかどうか検討した。再構築された毛細胆管の極性や代謝・排出機能を検討した結果、生体内の毛細胆管と同様の機能を持つことが分かった。次の段階として、この毛細胆管の輸送機能について検討した。生体内の毛細胆管は肝細胞から分泌された胆汁の通り道であり、胆汁は毛細胆管の中を通過して胆管へ運ばれる。したがって、毛細胆管が組織として機能するためには、隣接する肝細胞が互いに協調することによって毛細胆管を同調して収縮させ、ポンプとしての機能を果たす必要がある。まず、タイムラプス顕微鏡撮影により毛細胆管運動を観察したところ、毛細胆管は自発的な収縮と拡張を繰り返していることが分かった。さらに、この運動は細胞集団全体で協調していることが分かった。すなわち、毛細胆管を形成している小型細胞は個々の細胞として振る舞うのではなく、まとまった集団として協調した振る舞いを行うことで高次機能を獲得することが分かった。このような小型肝細胞の組織を三次元に拡張させるために、二次元で培養した小型肝細胞を積層させることで立体的な組織を再構築する培養法を考案し、この方法によって積層された小型肝細胞が組織化するかどうか検討した。その結果、積層された上下の細胞は互いに接着し、細胞間には毛細胆管が形成されることが明らかになった。さらに、この三次元積層組織内の小型肝細胞は、肝細胞分化マーカーの mRNA を発現しており、肝細胞機能の指標となるアルブミン分泌量も高いレベルを維持していた。これらの結果は、小型肝細胞の三次元積層培養によって肝臓に類似した三次元組織が再構築されうることを示している。以上の結果をまとめると、肝前駆細胞である小型肝細胞と三次元積層培養の組み合わせは組織工学における肝臓の再生に役立つと考えられる。</p> |       |   |     |      |