

## 30-0536

ラット初代肝細胞の培養担体に細胞外マトリックス成分のゲル薄膜を活用した薬効評価系の創出

○中沢 有紀子<sup>1,2</sup>, 上野 光一<sup>2</sup>, 竹澤 俊明<sup>1</sup> (<sup>1</sup>農業生物資源研・動物細胞,<sup>2</sup>千葉大院薬)

【目的】初代肝細胞の機能は、一般に単層培養では数日間しか維持できないがスフェロイド等の三次元培養では比較的長時間にわたり維持できる。しかし、従来の三次元培養は操作が煩雑で薬効評価系としては普及していない。竹澤らは、支持体を内包するコラーゲンゲルを培養皿内で作製した後に熱変性タンパク質のガラス化技術を応用して、優れた強度とタンパク質透過性を有する「コラーゲンゲル薄膜」培養担体を開発した。細胞を培養した担体を培養皿の底面からピンセットで剥離できるので、細胞底面側からの栄養供給、担体裏面への細胞培養あるいは担体を介した薬物透過の解析等が容易になる。本研究では、種々の細胞外マトリックス成分よりゲル薄膜を作製し薬効評価に有用な肝細胞培養系の創出を試みた。

【方法】コラゲナーゼ灌流法で調製したラット初代肝実質細胞を各種細胞外マトリックス成分 (I型コラーゲン、IV型コラーゲン、マトリゲル) のゲル薄膜上に播種して、経時的に位相差顕微鏡による形態観察、蛍光染色による生死判定、およびアルブミン分泌量測定を行った。また、アセトアミノフェン添加による肝毒性を評価した。

【結果および考察】肝細胞は、I型コラーゲンおよびマトリゲルのゲル薄膜上では4日目以降にそれぞれ非実質細胞の増殖あるいは球状細胞の凝集が進行して肝実質細胞の生存率が低下したが、IV型コラーゲンゲル薄膜上では培養9日目までコロニーとして成長し続け肝実質細胞の良好な形態が維持された。また、プラスチック製培養皿と比較するとIV型コラーゲンゲル薄膜上の肝細胞はアルブミン分泌量が有意に高く、10 mM以下のアセトアミノフェンでは肝細胞障害性も低く抑えられ、生体内を模倣できることが示唆された。