

# in vitro複合培養系を用いた臓器間相互作用の解明 と遺伝子から生体システムまでの階層縦断数理モデルの構築

著者	西川 昌樹
発行年	2006
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2261/7721">http://hdl.handle.net/2261/7721</a>

平成19年2月28日

氏名 西川 昌輝 (印)

## 21世紀COEプログラム

拠点：大学院工学系研究科  
応用化学専攻、化学システム工学専攻、  
化学生命工学専攻、マテリアル工学専攻

“化学を基盤とするヒューマンマテリアル創成”

平成18年度リサーチ・アシスタント報告書

ふりがな 氏名	にしかわ まさき	生 年 月 日
	西川 昌輝	
所属機関名	東京大学大学院 工学系研究科 化学システム工学専攻	
所在地	目黒区駒場 4-6-1 東京大学生産技術研究所	
申請時点での 学 年	博士課程 1年	
研究題目	『 <i>in vitro</i> 複合培養系を用いた臓器間相互作用の解明と 遺伝子から生体システムまでの階層縦断数理モデルの構築 』	
指導教員の所属・氏名	東京大学生産技術研究所, 東京大学大学院医学系研究科疾患生 命工学センター・酒井康行	

I 研究の成果 (1000字程度)

近年、日周リズム(概日リズム)について、生体レベル、遺伝子・タンパク質ネットワークレベルの解明が進んでいる。肝臓では、副腎皮質ホルモンが同調刺激となり、リズムのリセットと同調が起こると考えられている。さらに、多くの肝特異的転写因子群とともに多様な肝機能も概日リズムを刻んでいることが分かってきた。しかし、*in vitro* において肝機能の動的変動に着目した研究は極めて少ない。そこで本研究では、肝細胞の概日リズム維持システムを構成する生体の主要な要素を抽出し、生体外で再構築することによって、多様な肝機能を時間軸に沿って動的に制御することを最終目的とした。

まず、肝細胞と他細胞の共培養系の自由度を下げる主要因である酸素供給不足を解消した上で、肝非実質細胞との高密度な共培養や副腎との複合培養を試みた。酸素供給には高酸素透過

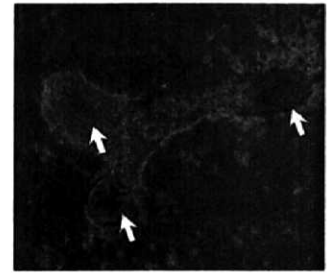


Fig. 1 肝細胞の接着性スフェロイド

性材料であるポリジメチルシロキサン(PDMS)を用い、PDMS 表面にコラーゲン(CN)を共有結合で固定化(PDMS-UV-CN) することで、ラット初代肝細胞の剥離を防ぎ、接着性のヘミスフェロイドへ組織化させることに成功した (Fig. 1)。十分な酸素供給と表面改質によって、肝機能の高度長期維持に成功した (Fig. 2)。

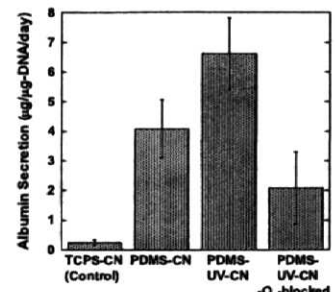


Fig. 2 培養 13 日目のアルブミン分泌量 (DNA 量で規格化)

さらに、表面改質 PDMS を用いた十分な酸素供給下で、ラット初代肝細胞 (Hep)と繊維芽細胞 (NIH/3T3 (3T3))を共培養することにより、完全な二層共培養に成功し (Fig. 3)、肝機能の著しい向上と維持を達成した (Fig. 4)。

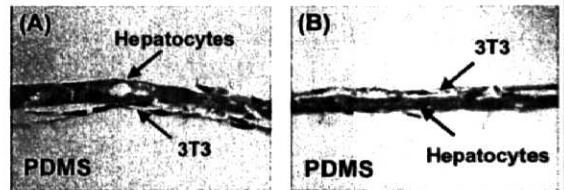


Fig. 3 共培養系の H-E 組織染色 (培養 13 日目) (A), Hep/3T3; (B), 3T3/Hep

最後に、副腎との複合培養によって発振した肝細胞における概日リズムを示した (Fig. 5)。

今後は、確立した肝細胞培養系を用いて、肝細胞と副腎の複合培養を行い、肝細胞における概日リズムの同調と発振、及び肝機能の動的制御に着目して研究を進める予定である。

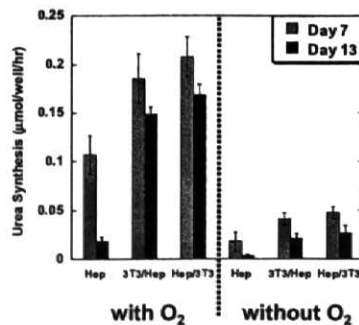


Fig. 4 各種共培養系の尿素合成能

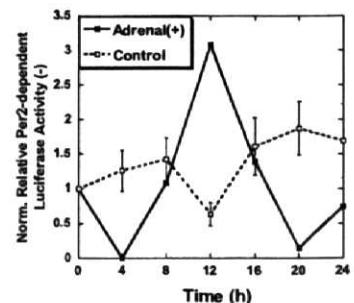


Fig. 5 副腎との複合培養による肝細胞の概日リズム発振

氏 名 西川 昌輝

II (1) 学術雑誌等に発表した論文A (掲載を決定されたものを含む.)

共著の場合、申請者の役割を記載すること.

(著者、題名、掲載誌名、年月、巻号、頁を記入)

1. Choi, S. H.; Nishikawa, M.; Sakoda, A.; Sakai, Y., Feasibility of a simple double-layered coculture system incorporating metabolic processes of the intestine and liver tissue: application to the analysis of benzo[a]pyrene toxicity. *Toxicol In Vitro* 2004, 18, 393-402.

実験の一部を担当

2. Nishikawa, M.; Yamamoto, T.; Kojima, N.; Komori, K.; Fujii, T.; Sakai, Y., Stable immobilization of rat hepatocytes as hemispheroids onto collagen-conjugated poly-dimethylsiloxane (PDMS) surfaces: Importance of direct oxygenation through PDMS both for the formation and functions. In preparation.

3. Nishikawa, M.; Kojima, N.; Komori, K.; Yamamoto, T.; Fujii, T.; Sakai, Y., Growth and functional enhancement of rat hepatocytes induced by combination of on-site oxygenation and co-culture with fibroblasts. In preparation.

氏 名 西川 昌輝

II (2) 学会において申請者が口頭発表もしくはポスター発表した論文

(共同研究者 (全員の氏名)、題名、発表した学会名、場所、年月を記載)

(口頭発表)

M. Nishikawa, N. Kojima, E. Kitagawa, H. Iwahashi, T. Yamamoto, T. Fujii, Y. Sakai

**Enhanced responses to chemical exposures in a simple in vitro cytotoxicity test based on coculture of liver and small intestinal cells**

APBioChEC'05, Jeju Island, Korea, 05/05/15-19

Masaki Nishikawa, Nobuhiko Kojima, Emiko Kitagawa, Hitoshi Iwahashi, Takatoki Yamamoto, Teruo Fujii, Yasuyuki Sakai

**Gene Expression Analysis of Responses to Xenobiotics of Primary Rat Hepatocytes in Double-layered Coculture Systems with Small Intestinal Cells**

5th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences,

Berlin, Germany, 05/08/21-25

西川昌輝、小島伸彦、山本貴富喜、藤井輝夫、酒井康行

高酸素透過性材料の表面改質によるラット初代肝細胞の高機能安定培養

化学工学会, 京都, 2007年3月

(ポスター発表)

西川昌輝、小島伸彦、北河恵美子、岩橋均、山本貴富喜、藤井輝夫、酒井康行

小腸・肝複合培養系における化学物質への遺伝子応答解析

動物実験代替法学会, 伊勢原, 2005年12月

西川昌輝、小島伸彦、山本貴富喜、藤井輝夫、酒井康行

ラット正常肝細胞培養のための新規 PDMS 表面改質

動物実験代替法学会, 東京, 2006年12月