


平成18年 2月28日

氏名 花田 三四郎 

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17年度リサーチ・アシスタント報告書

ふりがな 氏名	はなだ さんしろう	生 年 月 日
	花田 三四郎	
所属機関名	東京大学工学系研究科 化学システム工学専攻 東京大学生産技術研究所	
所在地	東京都目黒区駒場4-6-1	
申請時点での 学 年	博士課程2年	
研究題目	新規移植型肝組織の <i>in vitro</i> 再構築	
指導教員の所属・氏名	東京大学生産技術研究所 酒井 康行	

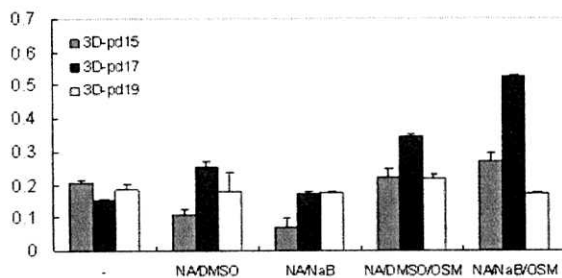
I 研究の成果 (1000字程度)

(図表も含めて分かりやすく記入のこと)

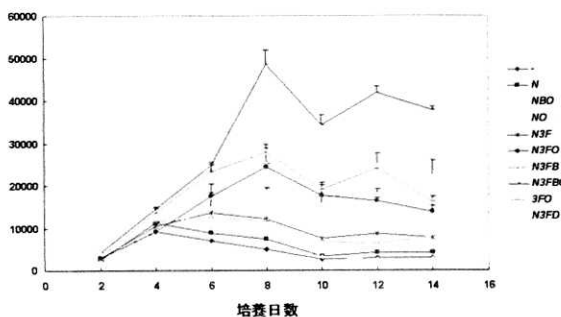
緒言および方法

胎児肝は、その高い増殖能および分化能により、肝組織工学の細胞源としての有力な候補である。本研究では、ラットの胎児肝細胞を用い、その肝分化能の最適化を目的として、1)胎生日数、2)可溶性因子による分化誘導を行った。1)に関しては、十分な細胞回収を前提とし、その増殖能を評価するため、胎生後期(胎生 15,17,19 日)に関する検討を行った。2)に関しては、肝発生に寄与することが知られている、3GF(肝細胞成長因子(HGF)、繊維芽細胞成長因子(FGF-1, FGF-4)、オンコスタチン M (OSM)、および分化誘導ケミカルとして知られている酪酸ナトリウム(B)、ニコチンアミド(NA)などについてその効果を検討した。また、組織工学を目指した場合組織の三次元化が必須であるため、全ての培養システムは、ポリ乳酸の多孔質担体を用いた三次元の旋回振とう培養であった。肝分化の判定は、ラット血清アルブミンの分泌量およびチトクロム P450(CYP)1A1/2 酵素活性を測定することでおこなった。

実験結果



細胞の増殖能は、一般に、胎生日数が低いほど高いが、グルコース消費能の結果から、三次元培養系において、胎生 15 日より 17 日のほうが有効であることが示唆された。以上より本培養系では、細胞ソースとして胎生 17 日を用いた。



胎生 17 日について各種液性因子の効果を検討した。3GF と B、O の共存により、従来の培養条件と比較して、著しく高いアルブミン分泌能が得られることが示された。また、通常の培養系と比較して、三次元培養により高い肝機能が得られた。

まとめと展望

液性因子の共存効果と胎生日数の選定、三次元培養により著しく高い肝機能を有する培養系が確立された。今後、実際に移植を行うことで、その細胞組織の定着と更なる組織化が実現されることが期待されるが、実際に *in vitro* での成熟化の組織工学における有用性について検討していく必要がある。

氏 名 菅田 三郎

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) Enhanced in vitro maturation of subcultivated fetal human hepatocytes in three-dimensional culture using poly-L-lactic acid scaffolds in the presence of oncostatin M: S. Hanada, H. Kayano, J. Jiang, N. Kojima, A. Miyajima, A. Sakoda and Y. Sakai, International Journal of Artificial Organs. 26(10), 943-951 (2003).

- 2) A novel poly-L-lactic acid scaffold that possesses a macroporous structure and a branching/joining three-dimensional flow channel network: Its fabrication and application to perfusion culture of human hepatoma Hep G2 cells: Y. Sakai, M. Otsuka, S. Hanada, Y. Nishiyama, Y. Konishi, A. Yamashita, Material Science and Engineering C. 24(3), 379-386 (2004). (灌流実験を一部担当)

氏

名

花田三四郎

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)

- (1) 花田三四郎(大学院生)、萱野寛美(研究実習生)、小島伸彦(神奈川科学技術アカデミー 研究員)、宮島篤(東京大学 分子細胞生物学研究所 教授)、迫田章義(東京大学 生産技術研究所 教授)、酒井康行(東京大学生産技術研究所 助教授)

「ポリ乳酸多孔質担体を用いた継代ヒト胎児肝細胞の三次元培養」

第2回日本再生医療学会総会 神戸ポートピアホテル/神戸国際会議場 2003年3月 (ポスター発表)

- (2) 花田三四郎(大学院生)、萱野寛美(研究実習生)、小島伸彦(神奈川科学技術アカデミー 研究員)、宮島篤(東京大学 分子細胞生物学研究所 教授)、迫田章義(東京大学 生産技術研究所 教授)、酒井康行(東京大学生産技術研究所 助教授)

「生体吸収性多孔質担体を用いた三次元灌流培養によるヒト胎児肝細胞の分化誘導」

化学工学会 群馬大会 水上温泉ホテル聚楽 2003年7月 (ポスター発表 関東支部長賞・銅賞)

- (3) 花田三四郎(大学院生)、迫田章義(東京大学 生産技術研究所 教授)、酒井康行(東京大学 疾患生命工学センター/生産技術研究所 助教授)

「ポリ乳酸三次元多孔質体を用いたヒト胎児肝細胞の灌流培養」

第41回日本人工臓器学会 仙台市民会館 2003年10月 (口頭発表)

- (4) 花田三四郎(大学院生)、小島伸彦(東京大学 生産技術研究所 助手)、迫田章義(東京大学 生産技術研究所 教授)、酒井康行(東京大学 疾患生命工学センター/生産技術研究所 助教授)

「ラジアルフロー型リアクター灌流培養による高密度肝組織の *in vitro* 形成」

第3回日本再生医療学会総会 幕張メッセ 2004年3月 (口頭発表)

- (5) 花田三四郎(大学院生)、小島伸彦(東京大学 生産技術研究所 助手)、迫田章義(東京大学 生産技術研究所 教授)、酒井康行(東京大学 疾患生命工学センター/生産技術研究所 助教授)

「ポリ乳酸マイクロキャリア充填リアクター灌流培養によるヒト胎児肝細胞の分化誘導」

化学工学会第69年会 大阪府立大学 2004年4月 (口頭発表)

- (6) S. Hanada, N. Kojima, Y. Sakai

“Enhanced *in vitro* maturation of fetal rat liver cells in the late pregnancy with oncostatin M, dimethylsulfoxide and nicotinamide”

APBioChEC'05 : Jeju Island, Korea : 2005年5月15~19日