

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	① 乙 第	号	氏 名	宇 田 川 大 輔
主 論 文 題 名				
A Novel Approach to Orthotopic Hepatocyte Transplantation Engineered With Liver Hydrogel for Fibrotic Livers, Enhancing Cell-Cell Interaction and Angiogenesis (細胞間相互作用および血管新生を促進させる肝臓ゲルを用いた肝細胞移植の新規アプローチ)				
(内 容 の 要 旨)				
肝細胞移植 (Hepatocyte transplantation: HCT) は、肝移植までの橋渡し療法または代替療法として期待されている治療法である。肝細胞移植は従来、門脈からsingle-cell の肝細胞を注入することで行われてきた。しかしこの方法では、細胞の生着と肝細胞の機能発現低下などの問題があり、新規の移植法が模索されている。 本研究では、4型コラーゲンやラミニンなどの細胞外マトリックス (Extracellular matrix: ECM) 成分が豊富に含まれる脱細胞化骨格をハイドロゲル化 (肝臓由来細胞外マトリックスゲル (Liver extracellular matrix hydrogel: L-ECM-gel) して、その肝細胞の生着の足場としての有用性を、ヒト肝細胞を用いた同所性肝細胞移植モデルで明らかにし、臨床的課題を解決する一つのツールになり得るか、その有用性について検討した。 まず家畜ブタの肝臓を全摘し、界面活性剤を用いて脱細胞化を行い、中和・凍結乾燥を経てゲル化させた。タンパク解析を行うと、元々の肝臓と比べても90%以上のECM構成成分であるMatrisome が保持されていた。さらに粘弾性の解析を行うことで、培養系およびin vivo におけるハンドリングに関するゲルの固さを評価し、最適化を行なった。 <i>In vitro</i> では、最適化した粘弾性に調整したL-ECM-gel を用いて、成熟ヒト肝細胞と L-ECM -gelとの親和性を確認した。まず、成熟ヒト肝細胞をハイドロゲル溶液に封入し、そのゲル溶液を 37℃ のインキュベーター内で直ちにゲル化させた。成熟ヒト肝細胞は、肝細胞培地での3日間の培養中に細胞間相互作用によって細胞凝集体を形成した。定量分析により、培養上清中のヒトアルブミン産生を確認した。 <i>In vivo</i>では、成熟ヒト肝細胞を L-ECM-gelに封入し、正常なラットの肝葉間に移植した。病理学的解析において、L-ECM-gel は移植部位に局在し、L-ECM-gel 内に成熟ヒト肝細胞を保持していた。さらにチオアセトアミドの8週間皮下投与を行って誘導された肝線維化モデルラットを作成し、そのモデルラットを用いて、移植後の肝細胞の生存と肝機能マーカーの発現を検証した。コラーゲンゲルに肝細胞を封入して移植した群と比較して、細胞間相互作用の発現と血管新生がL-ECM-gelで有意に促進されていた。 これらの結果から、L-ECM-gel が移植肝細胞の生着をサポートし、細胞移植の足場として移植肝細胞が肝機能を発現できたということを示している。				