

バイオ 3D プリンティング技術による機能的ヒト 3D 肝臓組織構築とその応用可能性

長尾映里、張光元、木澤秀樹

株式会社サイフューズアプリケーション研究部

【目的】製薬会社では前臨床段階での候補化合物のヒト毒性試験や代謝物の評価は主にヒト初代培養肝細胞の 2D 培養系を用いて行っている。しかしながら、その薬物代謝機能は短期間しか維持できないため、この方法では長期間の化合物暴露により生じる有害な代謝物の検出は困難である。もし長期間高い薬物代謝機能の維持が可能な *in vitro* のヒト肝臓モデルがあれば前臨床段階において臨床試験での有害事象を予見することが可能になると考えられる。しかし現状では、既存のヒト 2D および 3D 肝臓モデルで高い薬物代謝機能を長期間持続できている例は知られていない。そこで、我々は、独自のバイオ 3D プリンター「レジェノバ」を用いてヒト 3D 肝臓構造体を作製し、その機能性を評価した。

【方法】市販の非接着性 96-well plate を用いてヒト初代培養肝細胞を含むスフェロイドを作製し、27 個のスフェロイドを 9×9 剣山上に立方体の形状になるように積層した。このように作製したスフェロイド積層物を剣山に刺したままの状態に 4 日間培養した後、剣山から抜去してさらに培養を継続した。このようにして得られた肝臓構造体を用いて以下の実験を行った。

【成績】本構造体では主要な薬物代謝酵素遺伝子である CYP3A4 の発現が 2 ヶ月以上持続し、その発現レベルは最高で融解直後 (Day 0) の凍結肝細胞と同等であった。また、既存薬物の長期間暴露により初めて起こる肝毒性を検出することができた。さらにマイクロアレイ解析により、糖、脂質、コレステロール、胆汁酸および薬物の代謝に関連する代表的な遺伝子の Day 30 での発現が Day 0 肝細胞と比べて同等もしくはより高い値を示した。以上の結果から、本構造体は肝機能を長期間持続可能であることが示唆された。

【考察】本構造体は前臨床での創薬候補化合物の肝毒性や代謝物の評価系として有用であると共に、将来的には NASH や肝繊維化等の *in vitro* 病態モデルとしての創薬での応用や重篤な肝疾患患者を対象とした再生医療での応用も期待できると考えられた。現在、ヒト NAFLD/NASH 肝臓構造体モデルの構築にも取り組んでいる。

【結語】独自のバイオ 3D プリンター「レジェノバ」を用いて作製した機能的ヒト 3D 肝臓構造体は創薬ツールと再生医療の両方での応用可能性を秘めており、新たな肝疾患治療法の開発に貢献できる可能性がある。