

補助事業番号 2023M-325

補助事業名 2023年度 生体組織を模倣した新規の三次元細胞培養システム 補助事業

補助事業者名 北海道大学 大学院先端生命科学研究院 石原誠一郎

1 研究の概要

本研究では生体内に近い三次元培養環境下で細胞を培養し、有効成分をスクリーニングするためのシステム開発を目指した。これまでに細胞を三次元環境下かつ高生存率で培養する独自の方法を確立しており、この方法を発展させてスクリーニングシステムを確立することを目標とした。本システムは肝臓をはじめとして、膵臓・腎臓・神経など臓器・組織に対して有効成分をスクリーニングするためのユニバーサルなプラットフォームとなりえる。

2 研究の目的と背景

生体外で細胞を培養し利用することは再生医療、薬剤開発等の医療応用にとどまらず、健康食品等の有効成分を発見するうえで重要である。生体において特に肝臓は解毒作用や栄養貯蔵等多岐にわたる機能をもち、その機能破綻は生命に致命的な状態をもたらす。そのため肝臓の細胞(肝細胞)に有効な成分をスクリーニングし、薬剤・健康食品に活かすことは国民の健康維持に重要である。しかし、肝細胞を培養しそれに有効な成分をスクリーニングするための適切なシステムは存在していない。

3 研究内容

(1)肝臓モデル細胞・膵臓モデル細胞の培養法の開発

三次元足場(コラーゲンゲル)に肝臓モデル細胞・膵臓モデル細胞を埋め込み、独自の灌流培養法で培養液を流しながら培養することを目指した。そのために最適なパラメーターの同定を行った。肝細胞については、すでに肝臓モデル細胞株として知られるHepG2細胞を用いた培養系の確立を完了している(Ishihara-Ishida *et al.*, *Sci. Rep.*, 2022)。そこでマウス由来の膵臓β細胞モデル細胞株であるMIN6細胞を本方法にて培養することを目指した。まずは操作しやすい24ウェルプレートスケールにて実験を行った。

MIN6細胞を灌流培養条件下および非灌流培養条件下において三次元培養を行い、生存率を蛍光染色法により測定した。その結果、非灌流培養条件下では生存率は15%程度であったが、灌流培養条件下では40%程度に上昇することが明らかになった(図1)。この結果は、我々の灌流培養法がMIN6の三次元培養に有用であることを示している。

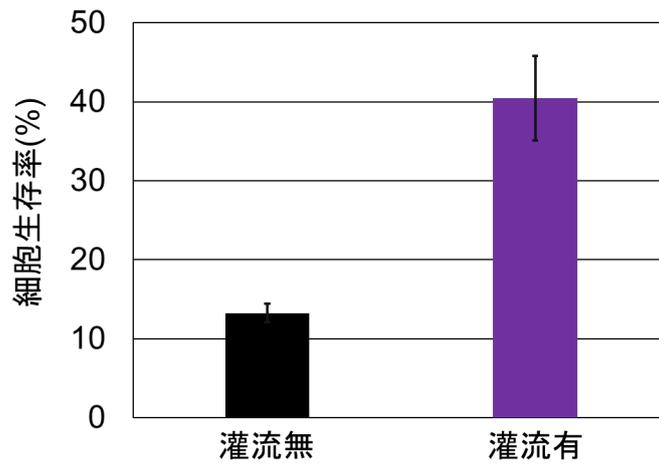


図1: 灌流によるMIN6細胞の生存率の上昇

(2) 膵臓モデル細胞の機能評価

上記の通り、膵臓β細胞モデル細胞株であるMIN6細胞を灌流培養法で培養することに成功した。そこでβ細胞の特徴の一つであるインスリンの発現をqPCR法で測定した。その結果、コラーゲンをういた培養法（コラーゲンゲル上培養、三次元灌流培養）と通常のプラスチック上での培養法ではインスリンのmRNA量はほとんど変わらないことが明らかになった。一方で、ELISAによりインスリンの分泌を調べたところ、水位差灌流によりインスリンの分泌量が増加する傾向がみられた（図2）。またMIN6細胞はマトリゲル細胞外基質と親和性が高いことを示唆するデータが得られた。

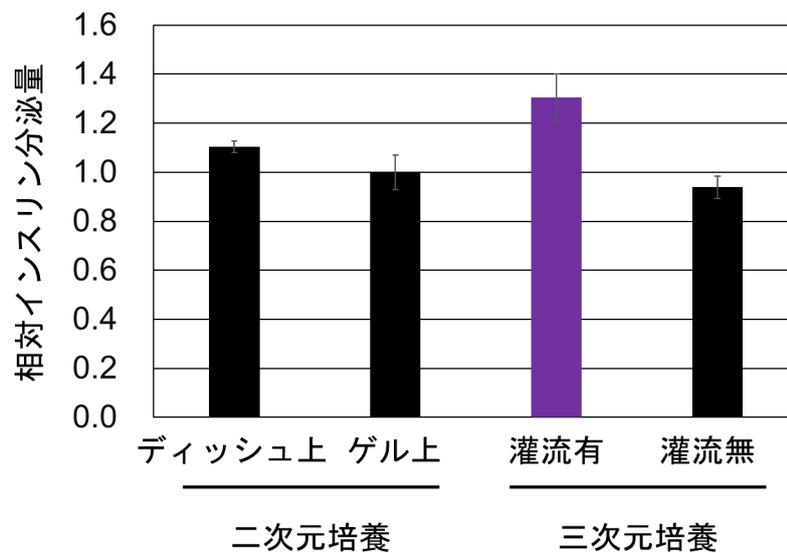


図2: 灌流によるMIN6細胞のインスリン分泌量変化

4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

本研究の成果をもとにスクリーニングシステムを確立することにより、肝臓への有効成分を発見することができれば、肝臓の病気(肝硬変、アルコール性肝障害、肝がん等)を予防することができる。またこれらを罹患した人に対しては、その病気に対する有効な治療薬を提供する。さらに本システムは肝臓だけではなく、膵臓など他の臓器・組織に対して有効成分をスクリーニングするためのユニバーサルなプラットフォームとなりえる。本システムは、肝疾患・膵臓疾患をもつ患者を守り、健康・長寿社会の実現に貢献する。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

これまでに我々は肝細胞を三次元水位差灌流培養法により高生存率で培養することに成功しており(Ishihara-Ishida *et al.*, Sci Rep, 2022)、この方法を発展させて本研究を進めた。スクリーニングに用いることができる程度の小スケール(底面積0.3平方センチメートル程度)で実現を目指したが、こちらは実現まで届かなかった。さらに、肝細胞以外の細胞についても培養システムを開発した。膵臓モデル細胞を三次元環境下で高生存率を保った状態で培養できるシステムを確立することに成功し、その機能を評価した。今後はこれらを発展させ、我々の確立した培養システムを用いたスクリーニングシステムの確立を目指す。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

該当無し

7 補助事業に係る成果物

該当無し

(2)(1)以外で当事業において作成したもの

該当無し

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名: 北海道大学(ホッカイドウダイガク)

住 所: 〒060-0810

北海道札幌市北区北10条西8丁目

担 当 者: 助教 石原 誠一郎(イシハラセイイチロウ)

担 当 部 署: 大学院先端生命科学研究院(ダイガクインセンタンセイメイカガクケンキュウイン)

E - m a i l: sishihara@sci.hokudai.ac.jp

U R L: https://altair.sci.hokudai.ac.jp/g3/member/ishihara_seiichiro/