◆トピックス◆

合成ポリマーを用いた肝細胞表面修飾技術

辰巳 公平*

辰巳公平

The cell surface modification of isolated hepatocytes with synthetic polymers

Kohei TATSUMI*

Key words: hepatocyte, cell surface modification, lipid, PEG, cell therapy

1. はじめに

肝細胞を用いた細胞治療は近年、肝不全や先天性代謝疾患に対する新規治療法として着目されている。治療法としては、新鮮分離肝細胞、凍結肝細胞、培養肝細胞等を経門脈的に注入する“肝細胞移植”が臨床的には主流である一方、肝細胞を肝臓以外の部位に機能的に生着せしめる“肝組織工学”の治療的有効性も疾患モデル動物にて証明されている^{1)・3)}。“肝細胞移植”においては、移植肝細胞が注入直後から門脈血流に晒されることによって細胞周囲に生じる *Instant Blood-mediated Inflammatory Reactions (IBMR)* と呼ばれる凝固・免疫反応により、移植肝細胞が肝実質に生着するまでにその大部分がロスされることが問題視されている⁴⁾。この問題を回避する解決法の一つとして、移植肝細胞の表面に移植前に何らかの修飾を施す方法が挙げられる。近年、生体に投与される化学化合物の生体適合性を向上させ、かつ血中での半減期を延長せしめる方法として、ポリエチレングリコール (PEG) と合成脂質からなる複合体 (PEG-脂質) にてその化合物を修飾する技術が広く使用されている⁵⁾。Iwata

2001 年 奈良県立医科大学医学部 卒業
2001~2002 年 奈良県立医科大学付属病院
臨床研修医 (小児科)
2002~2004 年 市立柏原病院 医員 (小児科)
2004~2005 年 奈良県立奈良病院 医員 (新生児集中治療室)
2009 年 奈良県立医科大学大学院医学研究科 卒業
2009 年~現在 東京女子医科大学 特任助教 (先端生命医科学研究所)

【受賞歴】

2008 年 奈良県医師会学術奨励賞
2011 年 Young Investigator Award (XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis)

2011 年 日本臓器保存生物医学会 会長賞

【研究テーマ】

組織工学・再生医療 (肝疾患、血液凝固異常症)

らは、本修飾技術が細胞表面への適用も可能であることを見出し、その PEG-脂質の外側に任意のタンパクを結合せしめる技術を開発した。その実例として、脾臓細胞に対してこの合成ポリマーによる超薄膜コーティングを行うことにより脾臓移植時の移植脾臓の生着率向上に成功している^{6)・7)}。本研究では、PEG に対して異なる 3 種の合成脂質を結合させた合成ポリマーを作成し、初代マウス肝細胞の細胞表面への修飾を試みた。表面修飾過程自体が与える細胞毒性の有無を各種 *in vitro* assay にて評価し、生体への細胞生着効率に与える影響を *in vivo* 移植実験にて評価した。

2. PEG-脂質を用いた肝細胞への細胞表面修飾

合成脂質である 1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycerol-3-

*東京女子医科大学先端生命医科学研究所特任助教 [〒162-8666 新宿区河田町 8-1]

Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science, Tokyo Women's Medical University
[8-1, Kawata-cho, Shinjuku, Tokyo, 162-8666, Japan]

Tel: 03-5367-9945 Fax: 03-3359-6046 e-mail: ktatsumi31@gmail.com

図2 細胞表面修飾肝細胞を用いた移植実験

(A) 実線は腎被膜下移植，破線は経門脈の移植を示し，Filled symbols は細胞表面修飾肝細胞，Open symbols は非修飾肝細胞を移植した際の血中 hAAT 値を示す。(B) 経門脈的移植時の各細胞群での血中 hAAT 値の推移。(C) 腎被膜下移植時の各細胞群での血中 hAAT 値の推移。(D-G) 移植後 10 日目のレシビエントマウス肝臓 (D, E) および腎臓 (F, G) を用いた hAAT 免疫染色像。(D, F) は非修飾肝細胞，(E, G) は細胞表面修飾肝細胞を示す。(赤；hAAT 陽性ドナー肝細胞)

が示唆された (図 2)。

5. 結論

PEG-DMPE を用いて，肝細胞表面を非侵襲的に薄層コーティングできることを明らかにした。今回は，マーカータンパクとして FITC を用いたが，PEG 先端には任意のタンパクを結合させることが可能である。抗凝固物質や抗炎症物質を賦与させることにより，IBMIR の回避や細胞生着率向上が期待できることから，本技術は，細胞治療の発展に有用な要素技術となりうるものと考えられる⁸⁾。

Disclosure of Conflict of Interests

The author indicated no potential conflict of interest.

文 献

1) Fisher RA, Strom SC : Human hepatocyte transplantation :

worldwide results. *Transplantation* **82** : 441-449, 2006.

- 2) Tatsumi K, Ohashi K, Shima M, Nakajima Y, Okano T, Yoshioka A : Therapeutic effects of hepatocyte transplantation on hemophilia B. *Transplantation* **86** : 167-170, 2008.
- 3) Ohashi K, Tatsumi K, Utoh R, Takagi S, Shima M, Okano T : Engineering liver tissues under the kidney capsule site provides therapeutic effects to hemophilia B mice. *Cell Transplant* **19** : 807-813, 2010.
- 4) Stephenne X, Vosters O, Najimi M, Beuneu C, Dung KN, Wijns W, Goldman M, Sokal EM : Tissue factor-dependent procoagulant activity of isolated human hepatocytes : relevance to liver cell transplantation. *Liver Transpl* **13** : 599-606, 2007.
- 5) Zalipsky S : Functionalized poly (ethylene glycol) for preparation of biologically relevant conjugates. *Bioconjug Chem* **6** : 150-165, 1995.
- 6) Teramura Y, Iwata H : Islet encapsulation with living cells for improvement of biocompatibility. *Biomaterials* **30** : 2270-2275, 2009.
- 7) Teramura Y, Iwata H : Improvement of graft survival by surface modification with poly (ethylene glycol)-lipid and urokinase in intraportal islet transplantation. *Transplantation* **91** : 271-278, 2011.
- 8) Tatsumi K, Ohashi K, Teramura Y, Utoh R, Kanegae K, Watanabe N, Mukobata S, Nakayama M, Iwata H, Okano T : The non-invasive cell surface modification of hepatocytes with PEG-lipid derivatives. *Biomaterials* **33** : 821-828, 2012.