

創薬スクリーニング用途を目指した新規培養基材の開発

DEVELOPMENT OF A NOVEL CELL CULTURE PLATE AIMED FOR DRUG DISCOVERY SCREENING

江尻洋子^{1,2}, 細田雅也¹, 福田始弘¹, 中村和昭², 村山典恵³, 山崎浩史³, 田上昭人²,

¹株式会社クラレ つくば研究センター, ²国立成育医療センター研究所 薬剤治療研究部, ³昭和薬科大学 薬物動態学研究室

¹Tsukuba Research Center, Kuraray Co., LTD, 41, Miyukigaoka, Tsukuba, Ibaraki 305-0841, Tokyo 100-8115, and

²Department of Pharmacology, National Research Institute for Child Health and Development, 2-10-1 Okura, Setagaya-ku, Tokyo 157-8535, Japan

³Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Showa Pharmaceutical University, 3-3165, Higashi-tamagawa Gakuen, Machida, Tokyo 194-8543, Japan

Abstract body

近年、医薬品開発において、ヒト肝細胞を用いた *in vitro* での薬物動態・毒性等の試験が多く行われるようになってきた。それに伴い、細胞間相互作用や、細胞周囲に存在するコラーゲンなどの細胞外マトリクスとを *in vitro* で模倣した、新たな培養方法が提案されるようになってきた。例えば、ゲル上もしくはゲル内部で、スフェロイド状の細胞塊を形成させる三次元培養法が挙げられる。この方法は、細胞機能が保持できるという点では優れているが、ゲル化させる工程が必要となり、操作が複雑となる。そこで、株式会社クラレでは、このような複雑な工程なしで、三次元培養が可能な新しい培養プレートを開発することとした。

我々は、生体内における細胞個々の形態、または、個々の細胞が集積した組織構造に着目し、*in vitro* でそれが再現できれば、細胞の機能が保持または向上すると考えた。そこで、細胞1個～細胞集合体の大きさを考慮し、約20～200 μm の空間（以下「マイクロ空間」と表記）が培養底面に配置されている培養プレートを作製した。この空間を区切る壁の高さは、隣り合う空間への細胞の移動を防ぎ、細胞の積層を可能にするため、約20～150 μm に設計した。本フォーラムでは、この培養プレートを用いた肝細胞への適用例について報告する。

我々は、細胞塊中心部の細胞死が起こらないと考えられる直径200 μm 以下の細胞塊が形成されるか否か検討した。そのために、幅100 μm の正方形で、壁の高さが50 μm の（以下「□100」と表記）、または、幅200 μm の正方形で、壁の高さが50 μm の（以下「□200」と表記）のマイクロ空間が培養底面に規則的に配置されている、2種類の培養プレートを作製した。この培養プレートを用いて、ヒト肝キメラマウスから分離した肝細胞（株式会社フェニックスバイオ）またはヒト新鮮肝細胞（国立成育医療センター）の培養を行った。

その結果、□100、□200共に、培養3～5日で直径200 μm 以下の細胞塊が形成されることが確認された。一方コラーゲンコートした培養プレート（以下「平板」と表記）は、平坦な敷石状の形態であった。形成された細胞塊の直径は、□100の場合は50～80 μm であり、□200の場合は100～150 μm 、マイクロ空間の幅を変えることで、細胞塊の大きさを制御できる可能性が示唆された。次に、主要なCYPのmRNA発現量を平板と比較したところ、当社培養プレート（□200、□100）で培養した場合の方が、高いmRNA発現量を示した。□200と□100では、ほぼ同等の遺伝子発現量となった。

このことから、本培養プレートにより細胞塊の形成が可能であること、その直径は、マイクロ空間の幅を変えることで制御でき、□200と□100で培養した場合の細胞機能はほぼ同等であること、平板と比較して、高機能な肝細胞を得ることができる可能性が示唆された。今後は、本培養プレートを用いた培養条件（培地・表面コート等）の最適化を行うと共に、トランスポータを介した薬物の吸収・排泄やPhase II酵素による薬物代謝能についても解析していく予定である。

略歴

2000年 大阪府立大学大学院 工学研究科 修士課程卒業

2000年 株式会社クラレ 入社

現在に至る

