

せん断応力と一酸化窒素が肝細胞アンモニア代謝機能に及ぼす影響

隅井, 干城

<https://doi.org/10.15017/1807019>

出版情報：九州大学, 2016, 博士（工学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

氏 名 : 隅井 干城

論 文 名 : せん断応力と一酸化窒素が肝細胞アンモニア代謝機能に及ぼす影響

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

肝細胞は肝臓の機能を司る細胞であり、解毒機能であるアンモニア代謝や生体内で必要なタンパク質であるアルブミン産生など重要な役割を担っている。また、肝細胞を生体外へ取り出すと、これらの機能が大幅に低下することが知られている。そのため再生医療工学の観点などから、生体外で肝細胞機能を維持向上させることは重要な意義を持つ。生体内の肝臓は肝細胞・星細胞・内皮細胞の3種類の細胞が Fig. 1 に示すような構造を形成し、血管の最も内側に存在する内皮細胞は血流によるせん断応力の影響を常に受けている。また、生体内で産生される一酸化窒素 (NO) は各種臓器の機能を向上させることが知られている。一方で生体内肝臓構造を模擬した3種細胞培養モデルを用いて、力学刺激であるせん断応力や化学刺激である NO が肝細胞機能に及ぼす影響を調べた研究は現在まで報告されていない。そこで本研究では、Fig. 1 に示すような生体内の肝臓構造を模擬した培養モデルを作製し、せん断応力と NO が肝細胞アンモニア代謝機能に及ぼす影響について検討を行った。

第1章は序論であり、本研究の背景と目的について述べた。

第2章は、本研究に必要な基礎事項と肝細胞機能向上に関する従来研究について述べた。肝臓の血管周辺構造は、Fig. 1 で示されるように最も内側には内皮細胞が存在し、その外側に星細胞、その更に外側に肝細胞が存在する3次元構造を形成している。また肝組織は血流などの力学刺激および各種生化学刺激下に常に晒されている。そこで本章では、肝細胞機能に関して他細胞との共培養の影響、力学刺激であるせん断応力の影響、化学刺激である NO の影響を調べた従来研究をまとめた。

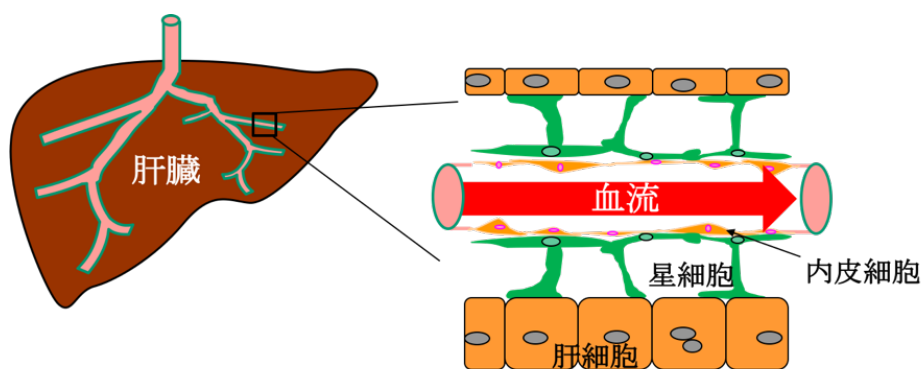


Fig. 1 肝臓の血管周辺構造

第3章は、力学及び化学刺激下における肝細胞アンモニア代謝機能を調べるために、Fig. 1の肝臓構造を模擬して肝細胞・星細胞・内皮細胞の3種細胞培養モデルを作製した。また、肝細胞単一培養モデル、肝細胞と星細胞、肝細胞と内皮細胞の2種細胞培養モデルを作製し、3種細胞培養モデルと比較検討を行った。各培養モデルに0.6 Paのせん断応力を24時間負荷することで、力学刺激による影響を検討した。その結果、0.6 Paせん断応力により3種細胞培養モデルのアンモニア代謝量が最も増加することが明らかとなった。また、各モデルの細胞から産生されたNO量を計測したところ、肝細胞と内皮細胞の2種細胞培養モデルおよび3種細胞培養モデルのNO産生量が多いことが明らかとなった。そこで、細胞のNO産生を阻害したところ、内皮細胞によるNO産生がアンモニア代謝機能を向上させること、および星細胞の存在がアンモニア代謝機能を向上させることが推測された。そのため、次章では肝細胞単一培養モデルを用いて、肝細胞アンモニア代謝機能向上とNO濃度の関係について検討した。

第4章は、肝細胞単一培養モデルにおいてアンモニア代謝機能向上とNO濃度の関連性を検討した。ガス透過性が高いdimethylpolysiloxane (PDMS)膜を用い、NO負荷装置を作製することで、肝細胞にNOを直接負荷した(Fig. 2)。本研究ではNO濃度として、0.5, 5, 25 ppmを使用した。NO負荷なし条件(0 ppm)と比較して、全てのNO濃度負荷条件においてアンモニア代謝量が増加することが明らかとなった。また、負荷濃度によって代謝量に違いが見られ、0.5 ppm NO負荷において最もアンモニア代謝量が増加した。一方、5 ppm NO負荷で代謝量は減少し、25 ppm NO負荷では更に代謝量の減少が確認された。これらの結果から、肝細胞アンモニア代謝機能とNO濃度に関連性があることが明らかとなった。

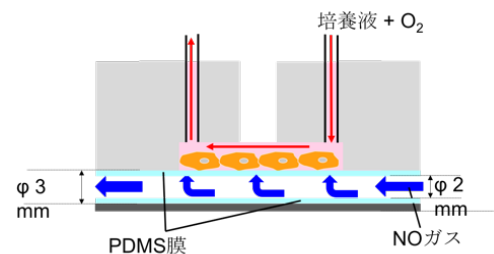


Fig. 2 NO 負荷装置

第5章は、第3章において星細胞の存在が肝細胞アンモニア代謝機能向上に関与することが示唆されたため、肝細胞と星細胞の2種細胞培養モデルにおけるアンモニア代謝機能とNO濃度との関連性に関して検討した。NO負荷なし条件では、2種細胞培養モデルが肝細胞単一培養モデルより高いアンモニア代謝量を示した。一方で、NO負荷条件では、2種細胞培養モデルと肝細胞単一培養モデルにおけるアンモニア代謝量が同じであった。このことは、NOが星細胞によるアンモニア代謝機能向上を抑制したためであると推測された。そこで、星細胞が産生し、かつアンモニア代謝機能向上を誘導する肝細胞増殖因子の濃度を測定した。その結果、NO負荷時において肝細胞増殖因子の産生量が減少することが明らかとなった。以上のことから、肝細胞と星細胞の2種細胞培養モデルにおいては、NOは肝細胞アンモニア代謝機能を向上させると同時に、星細胞によるアンモニア代謝機能向上を抑制する働きを持つことが明らかとなった。

第6章は総括であり、生体内の肝臓構造においてせん断応力とNOが及ぼす肝細胞アンモニア代謝機能向上のメカニズムについて検討した。さらに、この機能向上メカニズムに基づいた肝臓再生方法と人工肝臓装置に関する新規提案を行った。