

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	Ex vivo 肝障害モデルを用いた肝線維化治療薬のスクリーニング系の確立				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	山口 桃生
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	石川 智久
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	山口 桃生

講演題目	Ex vivo 肝障害モデルを用いた肝線維化治療薬のスクリーニング系の確立
------	---------------------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望

【目的】肝線維化には未だに有効な治療法はない。肝線維化の治療法開発を目指した研究のために必要不可欠である肝線維化モデル動物の作製には、多くの費用と時間が必要である。そこで現在、肝線維化治療薬の創薬スクリーニングとして、肝線維化の責任細胞である肝星細胞 (HSC) を用いた *in vitro* 検討が用いられている。HSC は肝傷害時に活性化され、コラーゲンを産生・分泌する筋線維芽細胞様の形態を示す。現状、進行した肝線維化の治療は難しいとされるが、静止型 HSC がコラーゲンなどの細胞外基質を分解する matrix metalloproteinase を分泌することから、活性型 HSC を静止型へと脱活性化できれば、肝線維化も治療可能であると考えられる。しかし、肝臓内における HSC のポピュレーションは非常に小さいため、HSC に対して脱活性化作用を示す薬物が、肝線維化モデルを用いた *in vivo* 検討においても必ず抗線維化効果を示すとは限らない。そこで本研究では、肝臓組織より肝生切片を作製し、*in vitro* と *in vivo* の架け橋になるような *ex vivo* 肝障害モデルを用いた肝線維化治療薬の創薬スクリーニング系を確立することを目的とした。

【成果・今後の展望】イソフルラン吸入麻酔下でC57BL/6J雄性マウスから摘出した肝臓を、ビブラトームを用いて厚さ250 μmの肝生切片を作製し、5% CO₂インキュベーターにてRPMI培地にて培養した。肝生切片作製当日をday 0とし、肝傷害刺激としてEt-OH (50, 100 mM) を処置し、day 0, 1, 3, 5, 7のサンプルのATP量を測定し生存確認を行った。さらに、肝疾患治療薬候補のスクリーニングとして、肝生切片作製当日にEt-OH (0, 50, 100 mM) と、申請者らによって *in vitro* および *in vivo* にて肝線維化抑制作用が確認されている低分子化合物DIF-1 (0, 50, 100 μM) を処置し5日間培養後、qPCR法にて肝線維化の指標となるα-SMAならびにcoll1a1のmRNAの発現を解析した。対照群およびEt-OH処置群の両群において、day 0と比較し、day 1ではATP量は減少したものの、day 5 までday 1と同程度のATP量が確認された。すなわち、本研究で作製した正常 *ex vivo* モデルと肝障害 *ex vivo* モデルにおいて、day 5までの生存が確認された。また、Et-OH (50, 100 mM) 処置により、*ex vivo* モデルにおけるα-SMAおよびcoll1a1のmRNA発現の増大が確認され、肝障害 *ex vivo* モデルとして使用できる可能性が示された。さらに、Et-OH処置により誘発されたα-SMAおよびcoll1a1のmRNA発現の増大は、DIF-1 (50, 100 μM) 処置により有意に抑制された。以上のことから、肝生切片を用いた肝障害 *ex vivo* モデルは、肝疾患治療薬スクリーニングとして有用であることが示唆された。今後は、この系を用いて肝疾患治療候補薬物の探索を行う。