



従来の2D単層培養の条件下では、初代ヒト肝細胞 (PHH) は肝細胞の表現型をすぐに失い、数日間で機能も失っていきます。3D肝細胞スフェロイド培養では、PHHはバイアビリティと機能を数週間維持することが示されています (Bell, et al., 2016 と Lauschke, et al., 2016)。薬物性肝障害 (DILI) は、医薬品開発の失敗や市販後撤退の主な原因となっています。3D PHH スフェロイドは、2D PHH 単層培養、HepaRG や幹細胞由来の肝細胞のような肝細胞系細胞株のスフェロイド培養に比較して、*in vitro* 肝毒性アッセイの反応性が改善(2-3倍)されることが示されています (Proctor, et al., 2017 と Bell, et al., 2017)。

創薬と開発研究における3D肝細胞スフェロイドモデルの活用をサポートするために、コーニングでは Corning スフェロイドマイクロプレート (カタログ番号: 4514 と 4520) で培養する3Dスフェロイド用ヒト初代肝細胞 (カタログ番号: 454552) をご提供します。

特長

- ▶ 最適化したスフェロイド培養プロトコール
- ▶ 6~7日でPHHスフェロイドを形成; 安定した形状、バイアビリティと肝機能を長期間維持
- ▶ 3D肝毒性アッセイでの反応性の改善
- ▶ 他の肝臓由来細胞 (例、クッパー細胞) と共培養が可能

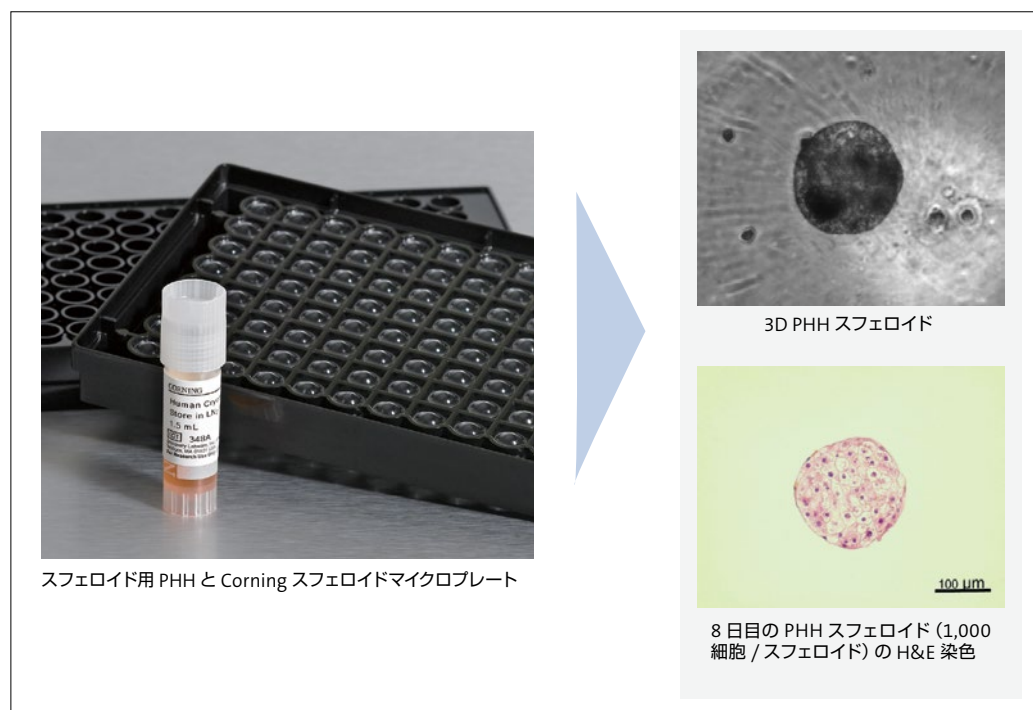


Figure 1. コーニングテクノロジーで構築する3Dスフェロイドモデル 8日目のPHHスフェロイドの明視野像とヘマトキシリン・エオジン (H&E) 染色を示した。

PHH スフェロイドのサイズと形状

3D スフェロイド用初代ヒト肝細胞を使用した最適なプロトコールを開発しました (Corning® **3D Spheroid-qualified Primary Human Hepatocytes Instructions for Use Guide** が必要な場合はサイエンティフィックサポート (ScientificSupportJP@corning.com) までご連絡ください)。小さな細胞の塊からなる PHH が集合し、大きな細胞塊となり、6~7日でスフェロイドを形成します (Figure 2)。PHH スフェロイドが形成されると、形態とサイズは4週間以上安定しています。

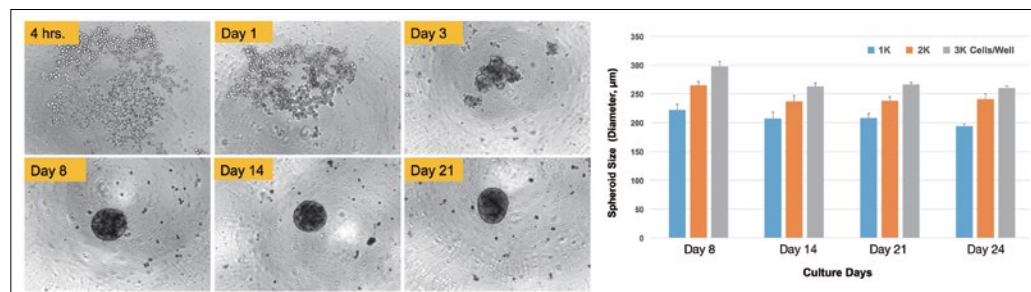


Figure 2. PHH スフェロイドのサイズと形態は長期培養で安定した状態を維持 スフェロイド培養の経時変化 (左: 1,000 細胞 / ウェルで播種) は、細胞の集合とスフェロイドの形成を示している。最初に 1,000、2,000、3,000 細胞 / ウェルで播種し、スフェロイドのサイズは、4 週間以上測定した (n=12)。スフェロイドのサイズは最初に播種した細胞数に相関していた (右)。

長期培養での PHH スフェロイドの ATP レベルとアルブミン分泌

3D スフェロイド用 PHH を用いると、長期培養において、均一で安定した形態のスフェロイドが観察できます。バイアビリティ (ATP 測定) と PHH スフェロイドからのアルブミン分泌も、4 週間以上安定しています (Figure 3)。

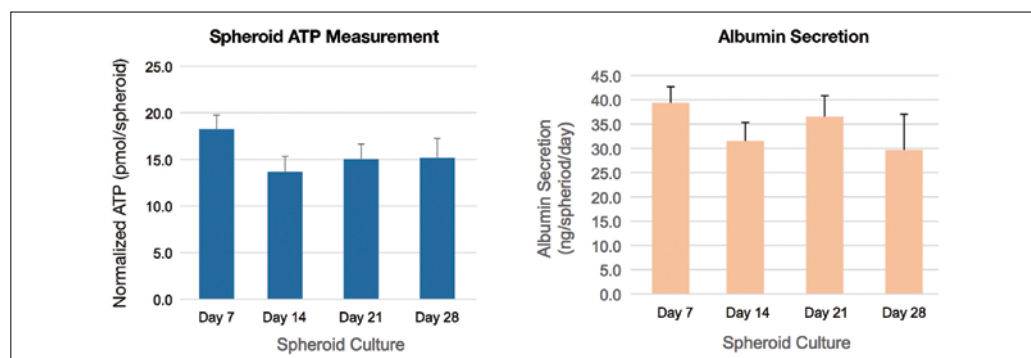


Figure 3. 4 週間以上の培養における PHH スフェロイドのバイアビリティとアルブミン分泌 スフェロイド培養の経時変化 (1,000 細胞 / ウェルを播種) を、生物発光 ATP アッセイを用いて各スフェロイドの ATP レベルで示した。アルブミン分泌は、培養上清を ELISA アッセイで測定した。

3D PHH スフェロイドを使用したハイコンテンツイメージングベースの毒性アッセイ

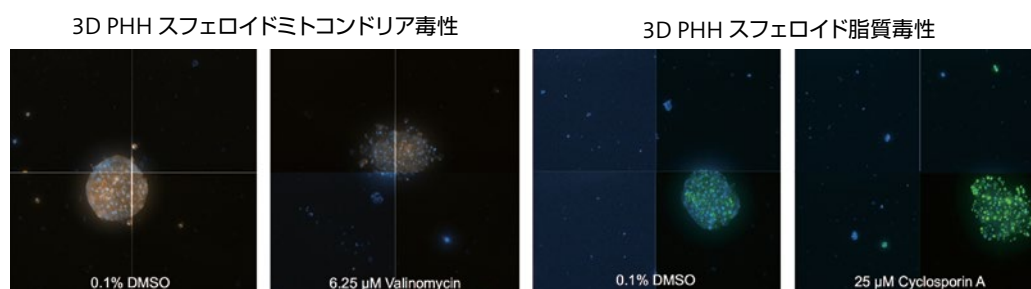


Figure 4. PHH スフェロイドはハイコンテンツベースのミトコンドリア毒性と脂質毒性アッセイで使用可能 6.25 µM Valinomycin に暴露させた PHH スフェロイドは、MitoTrackr®Orange 染色のシグナル減退を示し、25 µM Cyclosporin A に暴露した PHH スフェロイドは、HSC LipidTOX™ Green 染色により脂質の蓄積を示した。

PHH スフェロイドによる肝毒性スクリーニングの感度改善

同一ロットの PHH スフェロイドを ATP 測定する肝毒性のアッセイで使用したところ、3D PHH スフェロイドは、2D 単層培養に比較して薬物性肝障害化合物への感度が上昇しました (2-3 倍) (Figure 5)。100 の薬物性肝障害化合物とコントロール化合物を用いた包括的な肝毒性研究の詳細な 3D 肝毒性アッセイプロトコールは、コーニングのアプリケーションノート、*3D Liver Spheroids Demonstrate increased Sensitivity to Drug-induced liver injury in Comparison to 2D PHH Monolayer Culture* (CLS-AN-514) で確認ができます。

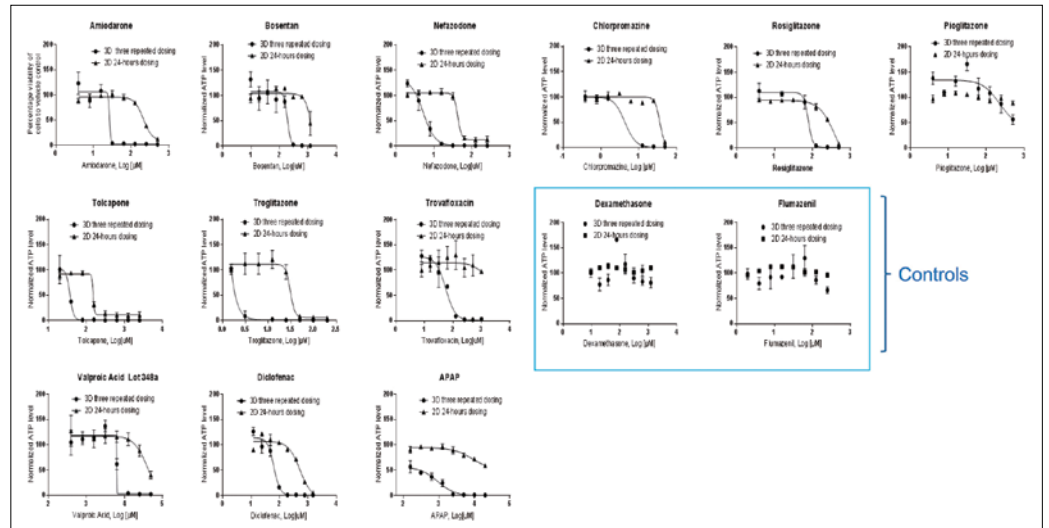


Figure 5. PHH スフェロイドによる肝細胞毒性スクリーニングの感度改善

3D スフェロイド用 PHH とクッパー細胞との共培養肝スフェロイド

3D スフェロイド用 PHH はクッパー細胞との共培養肝スフェロイド作成が可能で、*in vitro* の肝炎症反応を模倣できました。共培養肝スフェロイドを細菌内毒性リポ多糖 (LPS) で処理すると IL6 分泌が観察できました (Figure 6)。免疫介在性肝毒性のモデル化合物であるトロバフロキサシンと LPS あり / なしの条件で PHH スフェロイドと共培養スフェロイドを処理しました。共培養肝スフェロイドは、PHH スフェロイドに比較して感度が上昇しました。

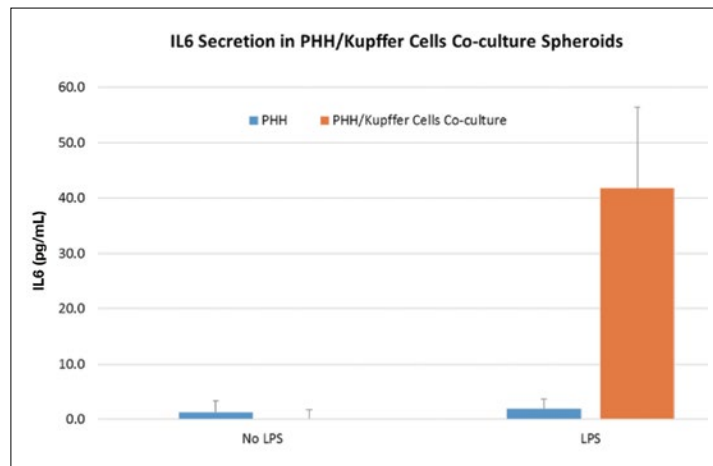


Figure 6. 7日目の PHH スフェロイド、または共培養スフェロイドを 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS で 48 時間処理し、上清を回収後 IL6 ELISA アッセイを行った。

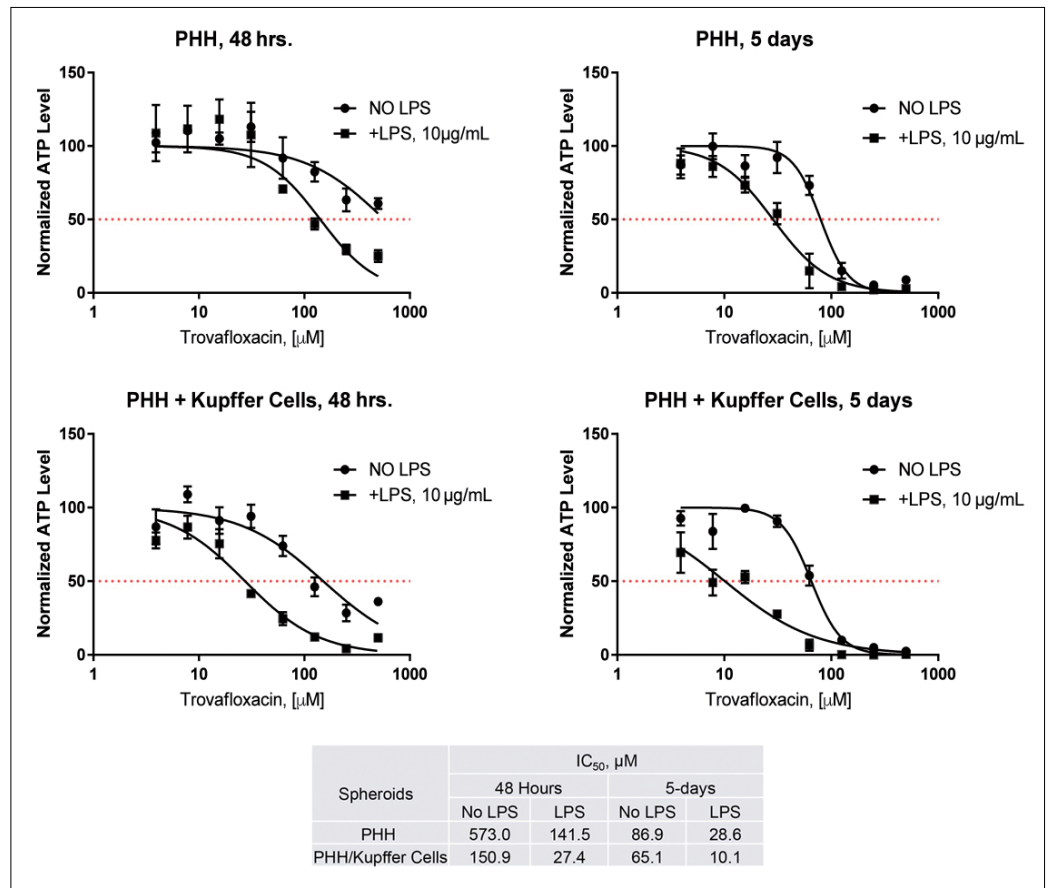


Figure 7. Corning® 3D スフェロイド用 PHH とクッパー細胞から作成した共培養肝スフェロイドは、トロバフロキサシンと LPS の処理により免疫介在性肝毒性が起こることを示した。

製品情報

Corning 3D スフェロイド用初代ヒト肝細胞 (PHH)

カタログ番号	製品名	細胞数	メーカー希望小売価格 (円)
454552*	3D スフェロイド用初代ヒト肝細胞	≧ 2,000,000 細胞 / バイアル	168,000

* 特別注文品です。ご注文いただいたからお届けするまでにお時間がかかります。あらかじめご了承ください。

Corning スフェロイドマイクロプレート

カタログ番号	製品名	包装	1 ケース	メーカー希望小売価格 (円)	
				単価	ケース価格
4515	96 ウェルスフェロイドプレート 黒クリア丸底ボトム	個別包装	5 枚	2,900	14,500
4520	96 ウェルスフェロイドプレート 黒クリア丸底ボトム	10 枚 / 包	50 枚	2,772	138,600

- ・ 価格は 2022 年 4 月現在のものです。価格は税抜き価格で記載しております。
- ・ 商品の外観・仕様は予告無しに変更することがあります。予めご了承ください。
- ・ For a listing of trademarks, visit us at www.corning.com/lifesciences/trademarks
- ・ All other trademarks are the property of their respective owners.
- ・ 保証・免責事項：特に記載がない限り、記載中の製品は研究用機材および試薬です。診断、または治療用途には使用しないでください。また人体には使用しないでください。コーニングライフサイエンスは本製品の臨床または診断用途でのいかなるパフォーマンスについても保証しません。

CORNING

総販売元

コーニングインターナショナル株式会社
ライフサイエンス事業部

〒107-0052 東京都港区赤坂 1-11-44 赤坂インターシティ7階
Tel : 03-3586-1996 Fax : 03-3586-1291
www.corning.com/lifesciences
CLSJP@corning.com

技術サポートへのお問い合わせは
Tel : 03-3586-1268
ScientificSupportJP@corning.com