

**【目的】** 皮下は低侵襲性と高い安全性を両立した移植部位であるが、肝細胞の生着や立体組織化は困難を極めている。これらの課題を打開するため、肝小葉構造に基づいた細胞の立体配置を制御することができれば効率的な酸素供給等が可能となり、立体組織化が達成できると着想した。本研究では、マイクロステンシル法と皮下性肝組織作製技術を融合した二次元細胞配列／三次元培養技術を確立し、立体ヒト肝組織を作製することを目的とした。

**【方法】** 肝小葉のサイズを踏まえて設計した鋳型（マイクロ流路）でポリジメチルシロキサン（PDMS）を重合し、多数の貫通孔を持つPDMS ステンシルを作製した。I型コラーゲンをコーティングした温度応答性培養皿にPDMS ステンシルを貼り付け、ヒト初代肝細胞を播種した。培養3日目にPDMS ステンシルを除去した後、ヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）を播種した。さらに、培養6日目にヒト脂肪由来幹細胞（hADSC）を播種し、培養8日目に温度を20℃に低下させて細胞組織体を回収した。

**【結果】** マイクロ流路を用いることにより、ライン状の貫通孔を多数有するPDMS ステンシルを作製できた。ヒト初代肝細胞は密に凝集し、パターン化し得た。HUVEC と共培養することによって、ヒト初代肝細胞－内皮細胞索状パターンニングを作製することができた。hADSC は、HUVEC の管腔様構造の形成を支持した。ヒト肝細胞－内皮細胞索状組織を回収することができ、移植可能な組織体であることが示唆された。

二次元細胞配列／三次元培養による立体ヒト肝組織作製の概念図

