

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 酒 井 香 苗

本論文は「上皮細胞の二方向観察可能な多孔膜を有するガラスチップ」と題し、5章から構成される。

上皮細胞層の構造異常とバリア機能の低下はガンや感染症といった種々の疾患の原因となることが知られている。上皮細胞を対象とした疾患メカニズムの解明や薬剤評価のためには、形態観察と透過性試験が重要である。しかしながら、これまでの上皮細胞層の解析法は、トランズウェルを用いたものが主流で、形態観察は垂直方向からの一視野のみであり、透過性試験には煩雑なサンプリングが必要とされ、効率的な評価を行うことは難しかった。そこで、本論文は、上皮細胞層を垂直方向と水平方向の二方向から形態観察可能で、物質透過性評価をサンプリング無しに実施できるデバイスを実現することを目的としている。

第1章「序論」では、本研究の目的と意義、背景、従来研究について述べている。本論文の手法として、二つのコの字型ガラス流路（ガラスチャネル）で多孔膜を挟む構造を有するガラスチップを提案し、作製方針について述べている。

第2章「多孔膜を有するガラスチップの作製」では、ガラスチップの材料と作製手法の検討について述べている。ダイシングソーを用いてガラスキャピラリーを両断し、その間に0.4 μm の孔を有するPET膜（多孔膜）を挟み込み、ガラスチャネルを作製する。チャネル両端にはテフロンチューブを設置して、培養液が灌流可能なガラスチップを得ている。

第3章「ガラスチップの評価」では、まず、作製したガラスチップのPET膜がミスアライメントなく導入され、PET膜導入後も拡散機能を有するかどうかを確認している。次いで、ガラスチップ内部に導入された内液の蒸発や送液による漏れ出しについて評価を行っている。ガラスチャネルの接合部を紫外線硬化接着剤でシーリングすることにより、ガラスチップの内液蒸発と送液による漏れ出しを低減できることを示している。

第 4 章「ガラスチップを用いた細胞観察・透過性評価とその応用」では、上皮細胞層の水平・垂直の二方向での形態観察と透過性試験についての検討がなされている。ガラスチップ内でヒト胎盤バリアのモデルに使用される胎盤絨毛上皮細胞 (BeWo 細胞) を培養して細胞層を形成させ、水平方向と垂直方向の二方向観察が可能であることを示している。また、従来法で実施されている、細胞層の水平方向画像を多数枚積層し再構築した三次元画像から取得した、細胞層の垂直方向の画像と、本チップを用いて細胞層の垂直方向を一回のスキャンで獲得した画像を比較し、解像度が従来法よりも向上していることを示している。さらに、蛍光マーカー分子を用いた、その場観察による透過率測定を実施し、上皮細胞層の透過性評価への応用可能性を示している。

第 5 章「結論」では、本研究によって得られた結果に基づいて結論を述べるとともに、多孔膜を有するガラスチップについて今後の展望を述べている。

以上を要するに、本論文では、上皮細胞の二方向観察可能な多孔膜を有するガラスチップを作製する方法を確立し、作製したガラスチップが上皮細胞層の形態観察と透過性試験に応用可能であることを示した。ここで得られた結果は、上皮細胞層の解析だけに限らず、多種細胞の形態学的評価や透過性評価への応用も可能であると考えられ、生物工学の発展に貢献するところが少なくない。よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。