

審査の結果の要旨

氏名 山下 忠紘

本論文は、マイクロスケールの組織を構築して回収する組織工学の新しいツールの創成と微細血管組織構築への応用に関する研究結果をまとめたものである。近年組織工学では臓器を体外で構築する研究が進められている。従来、臓器などの大きな組織では酸素・栄養を拡散のみで供給するのは困難であり、管径数百 μm スケールの微細血管組織の体外構築と埋め込みが不可欠であった。しかし、これまで実現されている血管組織構築法の適用範囲は、作製が容易な管径数 mm 以上のもの、あるいは細胞の自己組織化が可能な管径数十 μm 以下の組織に限られており、臓器構築に重要な管径数百 μm スケールの微細血管組織の体外構築は困難であった。そこで本研究では、数百 μm スケールの空間を持つマイクロ化学チップに着目して、マイクロ化学チップでは困難であった微細血管組織の構築と回収を可能とする革新的な組織工学のツールの創成を目的とし、以下の様な章の構成とした。

第1章 緒言

第2章 組織回収のための分離型マイクロ化学チップシステムの開発

第3章 マイクロ空間における多層血管組織構築法の設計

第4章 多層血管組織の構築と回収

第5章 結言

以下、各章について簡単に説明する。

第1章では、組織工学における管径数百 μm の血管の体外構築に関する要求を述べ、これまでのアプローチと課題を明らかにした。次に、この課題を解決する有望な手段として、マイクロ化学チップを挙げ、マイクロ化学チップに関する細胞培養技術の発展についてまとめた。さらに、マイクロ化学チップを血管組織の組織工学ツールへ展開するための課題として、(1) 培養組織の回収を可能とする新規マイクロ化学システムの開発、(2) マイクロ空間内における多層血管組織構築法の確立、(3) 多層血管組織の構築と回収の実現の3つを挙げ、本研究の目的を明らかにした。

第2章では、分離型マイクロ化学システムをはじめて開発して、マイクロ空間内の組織構築および回収の原理を実証した。重要な機能として(1)液漏れのない組織培養と(2)非侵襲的な組織の着脱を実現するため、表面化学によるアプローチに着目して、疎水性分子と温度応答性ポリマーとからなるパターンニング表面修飾法を新たに開発した。その結果、従来のマイクロ化学チップでは困難であったマイクロ流路内での組織の培養と回収をはじめて

実現した。このツールは、マイクロ空間の形状を鋳型として組織を構築する全く新しい組織工学手法を提供し、*in vitro*における様々な形状の組織構築に大きく貢献すると期待される。

第3章では、第2章で開発したツールを血管組織の構築と回収へ応用するため、血管組織を構成する平滑筋細胞の培養条件を明らかにして、多層血管組織構築のための新しいマイクロ化学チップの設計指針を提案した。従来マイクロ化学チップで培養されてきた非運動性の細胞と異なり、血管平滑筋細胞が強い伸縮性を持つ運動性の細胞であることに着目して、マイクロ空間への酸素や栄養の供給量と流路の断面形状が細胞の挙動に与える影響を検討した。その結果、血管平滑筋細胞の増殖が酸素不足と流路の曲面形状によって抑制されることを見出した。また、曲面上における血管平滑筋細胞の特異な挙動は細胞が持つ張力と周囲の曲率の力学相互作用に起因するという新しいバイオメカニクスの知見も得た。以上の知見にもとづき、運動性細胞の培養のためのマイクロ空間の設計指針を初めて明らかにした。

第4章では、第2章と第3章で得られた知見を元に、多層血管組織の構築と回収が可能なマイクロ化学システムを開発した。酸素と栄養分の供給が十分であり、かつ曲面を用いない矩形形状のマイクロ流路を有する分離型マイクロ化学システムを設計・構築した。その結果、血管平滑筋細胞と血管内皮細胞のマイクロ空間内共培養をはじめて実現した。また、平滑筋細胞を有することでハンドリングが可能な程十分な強度を有する微細血管組織の回収を初めて実証した。今後生体との直接吻合が可能な血管網の体外構築が可能になり組織工学における臓器構築に大きく貢献すると期待される。

第5章ではこれまでの研究をまとめた。今後の展望として、体外での臓器培養実現のための血管網構築ツールへの展開、熱やプラズマ耐性を問わず様々な機能部品をマイクロ空間へ封入可能な高集積化・高機能マイクロ化学チップへの展開について述べた。

以上、マイクロ化学チップを用いて組織工学のための新しい方法論を創成して、血管組織の構築と回収に応用した本論文は、再生医療やバイオメカニクスなどバイオエンジニアリングが関係する分野への大きな貢献が期待される。したがって、バイオエンジニアリング専攻の博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。