

審査の結果の要旨

氏名 厩 媛

本論文は、ヒトへの移植が可能な大型の肝組織を生体外にて構築するための工学的的方法論の確立を最終目的として、三次元造形された担体内に、微小細胞組織体をランダムに充填するという融合的方法を提案、微小細胞組織体の充填方法や生物学的・工学的特性の向上、三次元担体の設計・製作、灌流培養実験等を行い、その有効性を検証したもので、全6章からなる。

第1章は緒言であり、本研究の背景と目的とを述べている。まず、肝臓の機能と構造とを概説した後、肝組織構築に関する既往の研究を分類・整理し、その到達点と課題とを述べている。すなわち、既往の研究は細胞局所環境の最適化のみを目指したボトムアップ的なものと、内部の微細度に劣る大型の培養担体を用いる培養といったトップダウン的なものとに分類され、両者の融合を試みた例はないことを指摘している。これらの考察に基づき、三次元マクロ流路構造とマイクロチャンバーとを持つ三次元担体とマイクロチャンバーへの微小細胞組織体充填を組み合わせた融合的方法論を提案している。

第2章では、微小細胞組織体の一つとして球状細胞凝集体に着目し、まず、酸素透過性の材質を底面とするマイクロウェル構造を用い、ラット肝細胞と血管内皮細胞からなる共培養凝集体の高密度迅速形成が達成されることを報告している。また、長期灌流培養で起こる細胞凝集体同士の融合による流路閉塞を防ぐため、生体吸収性樹脂の繊維片と凝集体とのマイクロチャンバー内への同時充填法を提案、7日間の灌流培養にて凝集体の生存性やタンパク合成能の維持等からその有効性を述べている。

第3章では、細胞のみからなる凝集体の低い物理的強度・融合・収縮といった長期培養での不安定性の抜本的解決を目指し、生体吸収性樹脂からなる中空状の構造を持つ円筒形の多孔質担体に細胞を高密度で播種・増殖させる形式の微小細胞組織体を設計、増殖性のヒト肝がん細胞株を用いた14日間の浮遊懸濁培養により評価を行っている。中空状構造の有無および側面の貫通穴の有無の影響を調べ、最も物質交換性の良いと考えられる中空状構造と側面貫通穴の両者を持つ多孔質担体が、最も高い細胞生存率と細胞あたりの機能を与えることを

述べている.

第4章では、分岐を繰り返すマクロな三次元流路にて、微小細胞組織体が充填される多数のマイクロチャンバーへと培養液を均一に分配することが可能な、三次元担体の設計・製作について述べている. 培養液入口と出口とは生体肝と同様に同一方向に配置, 11.6 cm^3 スケールでは 0.27 cm^3 のマイクロチャンバーが3層に43個設けられ, 全てのマイクロチャンバーに至る圧力損失を同一とすることで, 均一な培養液の分配を実現している. また, この 11.6 cm^3 スケールの単位構造を, さらに3層・43個同様に配置することで, ヒト全肝の $1/3$ 体積に当たる 500 cm^3 スケールの組織へのスケールアップが可能であることを述べている. さらに, 11.6 cm^3 スケールのモデル担体を, ナイロン微粒子を使用する選択的レーザー焼結造形法にて製作している.

第5章では, 製作した 11.6 cm^3 スケールの担体内に, 肝がん細胞株と血管内皮細胞株とからなる細胞凝集体を生体吸収性樹脂の繊維片と共に固定化し, 灌流培養を行った結果を報告している. 現状ではその細胞充填密度は生体肝の $1/10$ 程度であったが, 高い生存性とタンパク合成能が10日間に渡って維持されたことを述べ, マイクロチャンバーと流路構造を持つ担体に微小細胞組織体を充填するという融合的方法論が有効であると指摘している.

第6章は総括であり, 本論文全体のまとめと到達点, 今後の展望について述べている.

以上, 本論文は, ヒトへの移植を目指した大型の肝組織構築において, ボトムアップもしくはトップダウンのいずれかのみを力点を置いた既存の研究に対して, 異なる構築手法をスケールに応じて融合的に組み合わせることで, 局所の物質交換性を確保しつつもスケールアップを可能とする新たな方法論を提案し実証している. この基本コンセプトは, 他の臓器の再構築においても広く適用可能であり, 生体組織工学・再生医療・バイオエンジニアリングの発展に大きく寄与するものと考えられる.

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.