

論文の内容の要旨

論文題目

薬物動態評価のための複合細胞培養マイクロ流体デバイスに関する研究

氏名 中山 秀謹

本論文は、酸素透過性ポリマーを基材として作製したマイクロ流体デバイス内にて異種臓器由来培養細胞を複合灌流培養することによって、静脈投与薬物の*In vivo*における体内動態を再現・評価することが可能な*In vitro*複合培養系を構築することを最終的な目的として、体内動態の中で特に、分布・代謝・毒性発現プロセスに着目してモデル薬物の体内動態評価を行ったものである。

第1章では、本研究の背景及び目的を述べている。冒頭で体内動態と人体システムについて概説するとともに、薬物や環境中化学物質などの個体レベルの体内動態評価の重要性に言及した。続いて、個体レベルの体内動態を評価・予測するための手法として*In vitro*複合培養系について、最新の知見を交えつつ既往の研究と問題点を述べた。特に、これまでに行われた大型複合培養系・マイクロ流体デバイスを利用した複合培養系における極めて煩雑な操作運転を必要とするといった実用上の課題を解決するための生理学的条件を満たす簡便な複合培養系の確立の重要性を指摘し、本研究の具体的な目的とアプローチを示した。

第2章では、複数異種臓器由来培養細胞の個別・完全灌流培養を可能とするマルチコンパートメントマイクロ複合細胞培養デバイスの作製を目指し、安価・微細造形性に優れる酸素透過性材料であるポリジメチルシロキサン (PDMS) のマイクロ複合細胞培養への適応を検討した成果を述べた。マイクロ細胞培養デバイスに酸素透過性材料を用いる手法は、培養液の酸化などの煩雑なプロセスが一切不要であるだけでなく、細胞が最も酸素を消費する初期接着時からの酸素供給が可能となるなど、各臓器由来培養細胞の高密度化を目指す上でも最も簡便かつ有用な手法である。本章では、ソフトリソグラフィ法を利用して作製したPDMSマイクロ複合細胞培養デバイスの基礎特性を明らかにし、灌流路上に配備したバルブの開閉による個別臓器ごと・複数臓器全体の完全灌流の2つの送液モードの選択が可能であることを示した。また、内部送液ポンプによる送液に伴うせん断応力が接着細胞の剥離を起こさず、複数異種臓器由来細胞の複合灌流培養が可能であることを示した。

第3章では、成熟脂肪細胞と肝モデル細胞の安定分散固定化および化学物質の分布プロセス評価に関する成果を述べた。脂肪細胞は疎水性化学物質の初期の分布に大きく関与するとされているが、比重が軽いために接着培養の実現が困難である。本章では、成熟脂肪細胞をデバイス内に高密度安定分散固定化するために3次元ポリ乳酸不織布担体を導入し、成

熟脂肪細胞の固定化を行った。さらに、脂肪細胞の有無による疎水性モデル毒物の分布動態を評価することを試み、脂肪組織の疎水性毒物の初期分布に及ぼす影響を蛍光イメージングにより経時的に非破壊評価する簡便な手法を提案した。さらに、マイクロ複合細胞培養デバイス内に固定化した脂肪細胞の初期体内分布に及ぼす影響を可視化し、*In vivo*における一般則の再現が可能であることを示した。

第4章では、静脈内投与毒物の生体外における体内動態の再現を目的として、肺モデル細胞および肝モデル細胞・脂肪モデル細胞をマイクロ複合細胞培養デバイス内に単層上に接着し、生体内で代謝活性化されるモデル毒物の分布・代謝・毒性発現プロセスの再現を行った。マイクロ複合細胞培養系では培養液量が極めて少量であることから、分布・代謝活性・毒性評価を全て蛍光イメージングにより非破壊評価する検討について述べた。代謝活性・毒性評価において、毒物非添加の系と比べて肝モデル細胞との複合培養系では代謝活性の顕著な亢進は確認されなかったが、最終的な標的臓器モデル細胞に対する毒性は低減され、本マイクロ複合細胞培養系において肝モデル細胞の毒性発現に対する*In vivo*の知見を定性的に再現することが可能であることを示した。しかしながら、分布評価においては、脂肪モデル細胞との複合培養においてもモデル毒物の特異的な蓄積は検出されず、単層培養においては分化誘導して用いた脂肪モデル細胞の毒性発現に対する寄与は明らかではない。本章では、*In vitro*複合細胞培養系を体内動態評価に適用し、生体外における分布・代謝・毒性発現プロセスの再現可能性と限界を明らかにした。また、マイクロ複合細胞培養系に特有の評価の困難性や課題について言及した。

第5章は総括であり、本論文全体のまとめとその意義を述べると共に、個体レベルの化学物質体内動態評価の*In vitro*予測を展望した場合に求められる*In vitro*複合細胞培養系の今後の研究課題についても述べた。

第6章は補章として、煩雑な細胞培養操作を最小化するアプローチとして、肝細胞や脂肪細胞を人工物で代替することを試みた結果について述べた。特に、細胞を代替する人工物として肝ミクロソーム固定化ビーズおよびミネラルオイル包括カプセルの作製と評価について述べた。

以上、本論文は、個体レベルの体内動態評価を目指した*In vitro*複合細胞培養系の実現に向けて、これまで*In vitro*において評価が特に困難であった体内動態の一部を再現することが可能なマイクロ複合細胞培養系を実現し、マイクロ複合細胞培養系特有の課題を解決することにより本複合培養系の有用性を示した。