

審査の結果の要旨

氏名 篠原 満利恵

本論文は、**Efficient formation of cellular aggregates and their uses as cultured-tissue models**（細胞凝集体の効率的形成と培養組織モデルとしての利用）と題し、生体と同等の生理学的応答を示す培養組織モデルの構築を最終目的として、三次元の球状細胞凝集体について、酸素透過性ハニカムマイクロウェルを利用した簡便で効率の良い形成法、代謝反応に着目した適切な組織化の重要性および共培養による極性輸送の付与可能性を示したもので、全5章からなる。

第1章は緒言であり、本研究の背景と目的を述べている。まず、薬物動態や毒性、広くは動物実験代替といった目的のための細胞アッセイにおける三次元細胞凝集体の位置付けと重要性を概説した後、細胞凝集体の従来の形成法や各種試験への利用に関する研究を分類・整理し、その到達点を示している。その上で、既往の研究では、凝集体形成時の酸素供給の確保や細胞アッセイへの利用時における生理学的応答の取得を目的とした適切な組織化、組織の極性再構築による代謝物の輸送現象の再現、に関する検討が不十分であり、当該分野における三次元組織の利用拡大に対して障害となっていることを指摘している。これらの考察に基づき、酸素供給を抜本的に改善した効率的形成法の確立、組織化と代謝機能の関係の系統的な把握、極性輸送能の付与といった本論文の目的を示している。

第2章では、効率的形成法の確立に対して臍島および肝細胞を対象とし、酸素透過性ハニカムマイクロウェルを利用して細胞に直接的に酸素を供給することで、従来の方法に比べて高密度で迅速な形成が可能となることを示している。特に、播種面密度を単層培養における飽和面密度の最大8倍に高めても、好氣的な条件下で細胞の自己組織化能をフルに利用可能であることを報告している。さらに、このような利点を持つ酸素透過性ハニカムマイクロウェルを用いた凝集体形成について、細胞の大きさや酸素消費量に基づき、任意の細胞に対して適用可能なマイクロウェルおよび播種条件の設計指針を提案している。

第3章では、細胞凝集体を培養組織モデルとして用いる際に、拡散の影響を最小限に抑えながら、外部から負荷された化学物質に対する生理学的妥当性の高い代謝応答を得るため、細胞凝集体の大きさと代謝応答との関連について系統的な検討を行い、凝集体中央部への酸素供給を指標とした場合と比較して、遥かに小さな凝集体が望ましいことを報告している。具体的には、第2章で確立した手法で形成した臍島様凝集体のグルコース刺激に対するインスリン分泌、肝細胞凝集体のアルブミン分泌能を計測し、いずれにおいても比較的小さな最適

直径領域が存在することを示している。また、肝細胞凝集体については解毒代謝酵素である複数種のシトクロム P450 について活性測定を行い、種類によって適切な直径領域が存在し、それらは比較的小さなものであったことを報告している。さらに、肝細胞凝集体を用いたメカニズムの異なる複数種の化学物質の毒性試験を行い、適切な直径領域の細胞凝集体の利用によって、薬物の解毒と代謝活性化の複雑なバランスによって生じる生理学的応答を模倣し得る可能性を示している。以上の検討を通じて、酸素供給のみでなく生理学的な代謝応答取得に着目した最小限かつ適切な細胞の凝集が重要であることを指摘している。

第4章では、肝に焦点を当て、肝組織を構成する非実質細胞との共培養によって、肝細胞凝集体に生体肝組織で見られる代謝物の極性輸送現象を部分的に再現できる可能性があることを報告している。すなわち、肝毛細血管である類洞の内皮細胞との共培養凝集体では血管側への輸送が、胆管上皮細胞との共培養凝集体では胆管側への輸送が、それぞれ亢進すること示している。

第5章は総括であり、本論文を通して得られた成果のまとめとその位置づけについて述べると共に、本論文の成果の応用分野での利用可能性やそれを実現するための研究課題についても述べている。

以上本論文は、細胞凝集体形成時における酸素供給の問題を解決することで効率的な新規形成法を確立すると共に、任意の細胞を対象とした場合の形成に対して指針を提案している。また、異なる大きさの細胞凝集体の代謝反応について系統的に解析、生理学的妥当性の高い応答の取得のためには最適な直径領域が存在し、それは酸素供給のみに着目して決定される最大直径よりも遥かに小さなものであることを示している。提案された凝集体形成法は、他の細胞種へも広く応用が可能であり、また最小限の適切な組織化の重要性を指摘する実験的知見は、三次元細胞凝集体の利用促進に対して重要な示唆を与えるものであり、バイオエンジニアリング・生体組織工学・創薬における細胞アッセイ分野の発展に大きく貢献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。