

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 12314 号
------	---------------

氏 名 劉 澤陽

論文題目

Three-Dimensional Fabrication of Hepatic Lobule Model Using
Electrodeposition Technology
(エレクトロデポジション技術による三次元肝小葉モデルの作製)

論文審査担当者

主査	名古屋大学	教授	長谷川 泰久
委員	名古屋大学	准教授	関山 浩介
委員	名古屋大学	准教授	清水 一憲
委員	名城大学	教授	福田 敏男
委員	名古屋大学	教授	新井 史人

論文審査の結果の要旨

劉澤陽君提出の論文「Three-Dimensional Fabrication of Hepatic Lobule Model Using Electrodeposition Technology(エレクトロデポジション技術による三次元肝小葉モデルの作製)」は、6章から成っており、マイクロファブリケーション技術の一つであるエレクトロデポジション技術を用いて3次元の肝臓組織を生体外で作製する新たな技術の開発及び評価について論じたものである。

第1章では、細胞組織を用いたマイクロファブリケーション技術及び細胞等のマイクロマニピュレーション技術について従来研究を調査し、これらの研究の再生医療への応用における重要性及び問題点、未解決課題について詳述している。これにより、本論文で取り組むべき課題及び必要性について明確化している。

第2章では、本論文で用いているエレクトロデポジション技術について記述している。まずエレクトロデポジション技術の原理について解説し、本論文の主要技術であるマイクロ電極のパターニング、アルギン酸-ポリリジン-アルギン酸 (APA) マイクロカプセル技術について、従来研究を引用しながら技術の原理や利点、課題点、応用について詳述している。

第3章では、APAマイクロカプセルの形状制御を実現することにより、高密度の細胞組織を目的の形状に作製可能とする新たな手法が提案されている。この手法では、Micro Electro Mechanical Systems (MEMS) 技術を用いて電極をマイクロパターニングし、電極形状と同じ形状のアルギン酸ハイドロゲルをエレクトロデポジション技術を用いて作製している。さらに、細胞を包埋したハイドロゲルをポリリジンでコーティングし、細胞を包埋したAPAマイクロカプセルの作製を実現した。本論文では、APAマイクロカプセル内のアルギン酸を融解させることでマイクロカプセル内において細胞が増殖可能な環境を整えている。これによりマイクロカプセルの形状に沿って細胞が高密度に詰まったマイクロ細胞構造体の作製を実現した。また、細胞構造体の形状についても球、立方体、リング、歯車など様々な形状の作製を実現し、本論文で提案している手法の独自性を示している。

第4章では、肝臓組織の構成単位である肝小葉に着目し、第3章で作製した高密度細胞構造体を用いた肝小葉組織の作製及びその機能評価について述べている。肝小葉形状を模した歯車形状の細胞構造体 (HLSM) と球形状の細胞構造体という形状が異なる2種類の細胞構造体を作製し、各々の構造体に対して肝臓機能の発現量を評価している。細胞構造体はラット肝臓細胞を用いて作製し、評価項目としては肝臓機能の代表的な指標であるアルブミン産生量及び尿素合成量を用いている。その結果、約2週間の細胞培養によってHLSMの方が球形状と比べアルブミン、尿素共に高い数値を示すことが明らかとなった。この結果から、細胞構造体の形状を制御することで細胞機能をより高く発現させることが可能であるとの知見を得られた。さらに、作製したHLSMを組み合わせ、より大きな肝臓組織を作製するための手法として、マイクロマニピュレーション技術を用いた組み立て手法を提案している。この手法では、マイクロピペットを用いてHLSMを一つずつ持ち上げ、マイクロピラーへと移すことで複数のHLSMを積層した構造体を作製している。この手法を用いて4層のHLSM積層構造を実現し、肝小葉構造体から肝臓組織を作り上げる手法について示している。

第5章では、エレクトロデポジション技術を用いた細胞シートの作製技術を提案している。肝小葉形状を模したパターニングを施したマイクロ電極を用い、ラット肝臓細胞を包埋した細胞シートを作製した。また、作製した細胞シート内の細胞生存率及び肝臓機能評価としてアルブミンの産生量の測定を行なった。その結果、細胞毎のアルブミン産生量においては、通常の2次元培養よりも細胞シートの方が産生量が多いことを明らかにした。さらに、作製した細胞シートを積層するためのモールドをポリジメチルシロキサン (PDMS) を用いて作製し、2枚の細胞シートを積層することで細胞シートの3次元形状への拡張が可能であることを示している。

第6章は結論であり、論文のまとめと今後の課題、展望について述べている。

以上、本論文で提案された技術及び得られた知見は、生体外において臓器機能を有する任意形状の細胞構造体の実現を示しており、マイクロファブリケーション技術及びその再生医療応用に寄与するところが大きく、論文提出者の劉澤陽君は博士(工学)の学位を受けるに十分な資格があるものと判定した。