

## 審査の結果の要旨

氏名 木村 啓志

本論文は、ヒト由来細胞の機能解析プラットフォームを実現するための細胞培養マイクロデバイスを扱ったものである。具体的には、灌流培養による安定した培養環境の実現と、物質の吸収や代謝など、培養細胞の活性をオンライン測定することを目的として、複数のコンパートメントを有し、灌流系や測定系を集積化したオンチップ灌流型細胞培養マイクロデバイスを開発し、その基本機能の確認と有用性の検証を試みたものである。

開発したデバイスは、半透膜によって仕切られた 2 つの独立したコンパートメント構造を有し、膜型臓器による物質輸送の測定や異種臓器細胞の共培養を行うことが可能である。それぞれのコンパートメントには、培養液を灌流するための磁気駆動式回転型マイクロポンプと蛍光検出が可能となる光ファイバの取り付け部が集積され、培養環境の恒常性と細胞動態のオンライン測定を同時に実現する構造となっている。

開発したデバイスの基本性能を確かめるため、オンチップ灌流培養系と既存の静置培養系の比較を行い、肝細胞のアルブミン分泌活性がオンチップ灌流培養下において向上するとともに、培養細胞が 3 次元的な構造（スフェロイド様構造）をとりうることが示された。また、デバイスに集積化された蛍光測定機能によって、半透膜上に形成した小腸膜の能動輸送能をオンライン計測することにも成功した。さらに当該デバイス上の 2 つのコンパートメント内に、それぞれ異なる臓器由来の細胞を導入し、共培養することも試みている。半透膜上側のコンパートメントでは小腸細胞を、下側では肝細胞を培養することにより、生体内での吸収と代謝の解析を行おうとするもので、体内での毒性影響モデルへの応用へと発展させている。具体的には、小腸による吸収率が異なる 2 つの毒性物質を用いて小腸細胞と肝細胞を共培養する場合と、肝細胞のみを単培養する場合とを比較し、肝細胞に現われる毒性の違いを観察した。実験の結果から小腸による吸収率が高い毒性物質については共培養と単培養において毒性の違いはみられなかったものの、吸収率が低い

毒性物質の場合には単培養にくらべ共培養における毒性の方が低くなることが明らかになった。このことはすなわち、デバイス内での共培養系を用いることにより、標的臓器細胞のみの毒性暴露では予測困難な現象の再現が可能であることを示している。

本論文の第 1 章では、動物実験の問題点と細胞機能解析の意義、既存の細胞機能解析方法における問題点、マイクロデバイスの細胞培養への応用の意義等、研究の背景を論じている。また、細胞培養や機能解析のためのマイクロデバイスについての既往の知見をまとめ、研究の目的が述べられている。

第 2 章では、細胞機能解析プラットフォームに求められる要件を整理し、その要件を満足するようなマイクロデバイスを提案している。微細加工技術を応用した当該デバイスの製法を示すとともに、製作したデバイスの基礎機能の検証を行っている。

第 3 章では、オンチップ灌流培養環境が細胞へ与える影響について検討するとともに、培養細胞の活性について既存の静置培養との比較を行い、少量の培養液をチップ上のみで灌流することが、培養細胞に良好な影響を与えることを確認している。

第 4 章では、デバイス内部の半透膜上に小腸モデルを構築し、デバイスに集積された検出機能を用いて、小腸モデル組織による物質の極性能動輸送を連続的に計測する方法とその結果を示している。

第 5 章では、異なる臓器由来の細胞からなる共培養系としての性能を検討すると共に、各臓器間の相互関係によって起こりうる毒性影響を再現する試みについて述べられている。これによって、単一の臓器由来細胞のみを用いた実験系では再現できない現象をとらえることに成功しており、異種臓器由来細胞を用いた毒性評価モデルの可能性を示している。

最後に第 6 章においては本論文のまとめと、今後の展開の一つとしてヒトを想定した吸収代謝シミュレータ実現への展望が述べられている。

以上のように、本論文は、いまだに未知の領域が多い臓器細胞の動的な挙動や、異種細胞間の相互作用を解明するためのプラットフォームとして 2-コンパートメントを有するオンチップ灌流型細胞培養マイクロデバイスを開発し、既存の培養系では困難であった生体内環境の模擬や細胞動態の評価、並びに細胞間相互作用の観測を可能とするような方法について論じたものである。本論文によってもたらされた知見や技術は、広く医学、創薬、生命科学の分野に寄与しうるような技術基盤を与えるものであり、工学に資するところがきわめて大きい。

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。