

審査の結果の要旨

氏名 花田三四郎

本論文は、「肝前駆細胞の三次元培養と血流導入移植に関する研究」と題し、組織工学的手法による肝組織構築とその臨床適用において重要となると考えられる培養・移植システムの確立を目的としてなされた研究であり、全5章より構成されている。

第1章は緒論であり、本研究の背景および目的を述べている。はじめに、重篤肝疾患治療に関する現状と新規治療を目指した研究例を述べ、ドナー不足という根本的問題を回避するためには、移植可能な肝組織構築を目指した肝組織工学の発展が必須であると主張している。また、現状の肝組織工学研究が要素技術の集積の段階であることを述べ、これらの要素技術を臨床適用まで展望した「培養・移植システム」として扱う必要があること、特に小動物においてそのようなシステムの実現可能性を理解することの重要性を指摘している。さらに、以上の考察を踏まえた上で、本論文の目的とアプローチを示している。具体的には、ラットをモデル動物とし、培養系による生体外肝組織構築に関しては肝前駆細胞を豊富に含む胎児肝細胞を細胞ソースとして用いた三次元培養による成熟化、移植系においては新規移植システムである血流導入型移植を、それぞれ特色とするアプローチである。

第2章では、免疫不全ラットへの移植を想定し、培養により肝機能が著しく低下している継代ヒト胎児肝細胞株について、生体内での肝組織成熟に重要とされている液性因子の添加および三次元培養によりその機能を回復かつ成熟化させることを試みている。検討の結果、成熟レベルの機能の達成は困難であったが、マウス胎児肝細胞の成熟化を促進するオンコスタチンMとポリ乳酸を材料とした多孔質担体を用いた三次元培養との相乗的な効果により、顕著な肝機能の亢進が見られることを報告している。この結果から、三次元培養下において細胞間相互作用および液性因子の局所的濃度の増大が、生体外における未熟肝細胞の成熟化に大きく寄与すると述べている。しかしながら、到達機能レベルが低いために、想定した免疫不全ラットへの移植実験には不適切な細胞であると結論付けている。

第3章では、ラットでの移植実験にて効果が期待できる細胞としてラット胎

児肝細胞に着目し、その生体外での成熟化を試みている。ここでは、増殖能と細胞収量の両観点から適切と考えられる胎生 17 日の胎児肝細胞を用いており、第 2 章で得られた知見に加えて、ES 細胞 (Embryonic Stem Cell、胚性幹細胞) の肝分化誘導に関する最新の知見に基づき新たな液性因子群 (繊維芽細胞増殖因子 1 および 4、肝細胞増殖因子、酪酸ナトリウム) の効果を検討している。これらの因子群は、ラット胎児肝細胞の成熟化においても同様に有効であり、特に、繊維芽細胞増殖因子 1 および 4、肝細胞増殖因子の組み合わせにより培養初期の増殖能が著しく高められ、酪酸ナトリウムはより高次の肝機能であるチトクローム P450 1A1/2 活性の顕著な亢進に寄与することを示している。さらに、これらの液性因子群は三次元培養と相乗的な効果を示し、成熟ラット肝細胞に匹敵する細胞当たりの肝機能発現および肝実質細胞と非実質細胞とが密に接触した高度な肝組織の形成が達成され、移植適用可能な肝組織の生体外構築に関する基礎培養条件の確立に成功したと述べている。

第 4 章では、構築した肝組織を生体内に埋め込む従来の移植モデルの問題点を指摘、物質交換の抜本的な改善を目指し、肝組織をデバイス化して血流を導入する新たな移植法について提示している。具体的に本論文では、頸動脈間に移植する新規血流導入型の移植系の実現可能性を検討している。第 3 章で最適化された培養条件を基に構築した生体外肝組織デバイスを血流導入移植したところ、移植時細胞密度を高くし血流との直接的な接触を多孔質膜により制限することで、肝組織の維持が顕著に高まることを見出している。このことは、流れの乏しい三次元担体内にて細胞と血球成分とが長時間接触することによる障害が高度な組織化を阻害していることを示唆しており、血流導入型移植組織の設計において極めて重要な知見であると述べている。

第 5 章は終章であり、本論文全体のまとめと得られた成果の意義を述べると共に、再構築形肝組織を用いた疾患治療を展望した場合における今後の研究課題についても述べている。

以上要するに本論文は、培養に関しては胎児由来の肝前駆細胞を適切な液性因子群の存在下における三次元培養にてラットにおいては成熟レベルの機能と高度な組織化を達成しえること、移植に関しては新規に開発した血流導入型デバイスのラットへの移植実験を通じて細胞と血球細胞との接触をある程度抑えつつ高密度な組織を予め構築しておくことが重要であること、を示している。これらの成果は、将来の再構築形肝組織の設計開発と臨床適用にとって極めて有用なものであり、生体組織工学・再生医学・医用工学および化学システム工学へ大きく貢献するものである。

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。