

## [課程－2]

### 審査結果の要旨

氏名 井上 雄介

本研究は再生医療と組織工学・組織工学材料において重要な、生体内において生体足場への血管新生を安定して、長期間観察するために、超小型の血管新生観察装置の開発を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 血管新生観察装置を開発するにあたって、安定して観察することを目的として **Scaffold** を観察装置に組み込むこととした。使用する **Scaffold** として、フェルト状シート構造のポリグリコール酸 (PGA) を用いることとしたが、最適な **Scaffold** の厚みが未解明であった。**Scaffold** 厚選定用観察装置を作製し、厚みの異なる 3 種類 (0.3、0.4、0.5mm) の **Scaffold** を同装置に入れてヤギの皮下に埋込み、一定期間後に摘出し、**Scaffold** に新生した血管の様子を評価した結果、本研究における **Scaffold** に求められる条件を満たす **Scaffold** の厚さは 0.3mm であることがわかった。
2. プローブ型血管新生観察装置 (Type I) を、CCD ユニット、**Scaffold**、光源ユニットから構成して作製した。動物実験を行って評価した結果、**Scaffold** 中に血管や組織が新生する様子を観察することができた。しかし、画像は不鮮明で、血管新生を観察するにあたって満足できる画質ではなかった。また、血管新生が誘導されるまでに要する時間が長かったという改善点が示された。
3. プローブ型血管新生観察装置の改善点を改良し、チャンバー型血管新生観察装置 (Type II) を、CMOS 素子を用いて作製した。Type II では、**Scaffold** チャンバーを設け、**Scaffold** を生体組織と水平に配置したことにより、血管新生が誘導されるまでに要する時間が長いという問題点を解決した。撮影画像の画質については、組織の新生により **Scaffold** が加水分解され始めると焦点深度が変化するため、画像の先鋭度と、コントラストが不十分であった。また、光源に起因する画像の不鮮明さも示され、さらなる改善が必要であることがわかった。
4. 長期動物実験用チャンバー型血管新生観察装置 (Type III) は、基本的なコンセプトは Type II を踏襲し、主に画質に関する問題の改善を図った。

高解像度の CMOS 素子を使用し、オートフォーカス機能を実装したことで、これまでよりも鮮明な画像が得られた。また光源の問題も改善した。その結果、より詳細な血管新生の経時的な変化を観察することが可能となった。デバイスサイズも  $37.4 \times 42.3 \times 19.7$  mm と、これまで作製した血管新生観察装置の中で最も小型になり、生体へ与える影響を小さくできた。外部コンピュータと接続することによって最大  $1280 \times 1024$  画素 (SVGA) の解像度が得られた。観察可能な視野範囲は  $11.9 \times 9.6$  mm で、これは 1 画素あたり  $9.3 \mu\text{m}$  の大きさを表しており、視野の広さと解像度の両者を改善できた。

5. 血管新生観察装置 Type III をヤギに埋め込み、PGA Scaffold 中における血管や組織の新生を観察した。埋め込み直後から画像の記録を開始し、3 週目から血管が観察されはじめ、6 週目まで Scaffold に血管が新生する様子が観察され、9 週間目に実験を終了した。実験終了後に、組織を光学顕微鏡で観察したところ、Scaffold に血管や組織が新生したことが確かめられ、最長で 355 日間画像を安定して取得することができた。
6. 開発した観察装置を用いて、細胞播種の有無が血管新生速度に与える影響を検討した。2 組の血管新生観察装置 (Type III) を用意し、A の実験群では Scaffold のみの埋め込みを用い、B の群では Scaffold に培養細胞を播種してから埋め込みを行った。画面内の新生面積率から血管新生速度を算出し、細胞の有無が血管新生に与える影響を比較した。どちらの群でも 3 週目から血管が観察され始めたが、9 週目まで観察すると細胞を播種した系ではより早く血管が新生する様子が観察された。この実験を 4 例行った。その結果、Scaffold に細胞を播種した系では、Scaffold のみの系に比べ、早く血管が新生するという結果を得た。

以上のように本研究では、麻酔や沈静薬剤を必要とせず、かつ厳しい拘束をすることなく長期間安定して、組織工学材料 (Scaffold) における血管新生を連続観察できる血管新生観察装置を開発した。本研究で開発した血管新生観察装置は、これまでに生体内で長期間安定に観察することができなかつた血管新生観察を可能にするデバイスであり、様々な研究に応用可能であり、その有用性が期待できると考えられるため、学位の授与に値するものであると考えられる。