

## 審査の結果の要旨

氏名 勝田 毅

組織工学的手法に基づいて構築した体内埋め込み型人工肝は、生体肝移植の代替療法となることが期待されているが、臨床応用への実現までには多くの課題が残されている。本論文は、これらの課題の中でも特に重要と考えられる二つの課題—「高密度組織の構築」と「肝臓特有の組織極性の再現」—の解決を目指して行われた研究成果についての論文であり、全部で5章から構成されている。

第1章は緒言であり、本論文の背景および目的について述べている。まず、肝疾患治療の現状を概観し、埋め込み型人工肝開発の必要性について述べている。続いて、埋め込み型人工肝開発における組織工学的なアプローチの重要性について述べるとともに、本論文の主要課題として取り上げる二つの課題—(1) 高密度な肝組織構築の困難性、(2) 肝臓特有の階層・極性構造の再現の困難性—を指摘すると共に、その解決に向けた本論文のアプローチを示している。

第2章では、課題(1)の解決に向け、高い増殖能を有する胎児肝細胞(fetal liver cell: FLC)と適切なスポンジ状担体の組み合わせについて、その有効性を移植実験にて検討した成果を報告している。ヒアルロン酸(HA)スポンジに正常ラット由来の FLC を播種し、銅代謝不全による肝不全を起こす疾患モデルラットの腸間膜に移植、3週間後に担体を取り出したところ、高密度な肝実質様の組織が構築されたとしている。また、対照群では肝不全の進行に伴う黄疸が見られたのに対し、FLC 移植群では正常な状態が維持されており、血液検査からも移植群で血中銅濃度の低下とそれに伴う肝疾患マーカーの改善が見られたとしている。以上の成果は、肝前駆細胞と適切な担体を用いて再構築した組織について、実際の疾患モデルの治療に利用可能であることを明確に示したものであるとしている。

第3章では、課題(1)の解決に向け、胚性幹細胞(embryonic stem cells: ES 細胞)を用いた肝前駆細胞の作製の高効率化をめざし、培養環境の重要な一因子である酸素分圧の制御の効果に関する成果を述べている。増殖因子カクテルの逐次的添加に基づいた肝分化誘導法において、初期にレチノイン酸刺激下でマウス ES 細胞を低酸素条件(5%)に暴露することで、通常の20%酸素分圧下で培養するよりも内胚葉系細胞への分化効率が高くなることを示している。以上の成果は、既存の分化誘導法の主流である増殖因子カクテルの最適化に加えて、発生

期の細胞を取り巻く様々な微小環境のダイナミックな制御の必要性を示すものであるとしている。

第4章では、課題(2)の解決に向け、胆管構造を持つ肝組織構築の可能性について検討した成果を報告している。FLCと成熟胆管上皮細胞(biliary epithelial cell: BEC)から、両細胞の混合比が異なるヘテロ細胞凝集体を形成し、胆管構造導入の可能性を検討したところ、胆管構造の構築はBECの存在比に依存することを示している。続いて、肝細胞で代謝され胆管に輸送される蛍光物質を用いて胆管構造の機能を評価したところ、BECの存在比が一定量以上の凝集体にて、蛍光物質の胆管構造への局在化がみられたとしている。以上の成果は、従来の培養下での胆管構築が専ら組織学的な評価に留まっていたのに対し、胆管構造の機能学的評価を行うことで、成熟BECの存在が必須であることを示している点に高い意義があるとしている。

第5章は総括であり、本論文全体のまとめとその意義について述べている。また、再構築型肝組織内に蓄積する胆汁をいかに排泄するかという課題について、その解決への展望を述べている。

以上、本論文は、埋め込み型人工肝の組織工学的手法に基づく構築を目指し、主要な2つの課題—「高密度な肝組織の構築」および「階層・極性構造の導入」について、それらの解決につながる重要な成果—肝前駆細胞と適切な担体の組み合わせの有効性・幹細胞からの肝分化におけるダイナミックな環境再現の重要性・極性再現における成熟胆管上皮細胞の重要性—を得ており、バイオエンジニアリング・組織工学・再生医療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。