

肝組織培養への応用を目指した酸素生成培養基材の調製と酸素生成能の定量解析

励, 騰暢

<https://hdl.handle.net/2324/7443279>

出版情報 : Kyushu University, 2025, 博士 (システム生命科学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :



氏 名： 励 騰暢

論文名：肝組織培養への応用を目指した酸素生成培養基材の調製と酸素生成能の定量解析

区 分： 甲

論 文 内 容 の 要 旨

肝臓は代謝・解毒・貯蔵機能に優れた生体内最大の臓器であり、その多様な機能を人工装置で完全に代替することは困難である。現在、重篤な肝不全に対する根本的治療は肝移植となるが、ドナー不足が深刻な課題である。近年、肝移植を代替・補助する治療法として、加工した細胞を用いた肝再生医療が注目されており、特にあらかじめ生体外で組織用構造物を構築する組織工学的手法は肝再生医療の実現化のための有望な手段である。一方、実用化に資する豊富な細胞量で厚みのある三次元的培養組織を構築する際には、組織内部での酸素供給不足による細胞死が問題となっている。この問題を解決するために、酸素生成培養基材の開発が注目されている。

本研究では、酸素生成培養基材として過酸化カルシウムを封入した酸素生成コラーゲングルを作製し、酸素放出特性を定量解析することにより、細胞酸素消費速度と酸素放出速度の動的バランスから、培養可能細胞密度の閾値を理論的に導出するとともにその実験的な検証を行った。一方、次に、酸素生成の初期バーストを抑制し、かつ酸素放出時間を制御する方法として、過酸化カルシウムをゼラチンでマイクロカプセル化した酸素生成ゼラチンマイクロスフェアを作製し、その酸素放出特性を明らかにした。さらにこの酸素生成ゼラチンマイクロスフェアを肝細胞スフェロイドベースの三次元培養肝組織に組み込み、低酸素環境下での細胞生存率と肝特異機能の長期維持を実証した。

第1章では、本研究の背景・目的・意義を詳細に述べた。組織工学的手法を用いた三次元培養組織作製における酸素拡散距離の限界を改善する新しい方法としての酸素生成材料の利用の利点、課題を示し、本研究の目的及び目的達成のための研究方針を示した。また、本研究のオリジナリティを示し、本研究の位置付けを明確にした。

第2章では、肝再生医療の基盤となる組織工学について概説するとともに、三次元培養組織構築における問題点を論じた。またその新しい解決策として酸素生成材料に着目し、酸素生成材料の開発状況を示し、課題を明確化した。

第3章では、過酸化カルシウムを酸素源とする酸素生成コラーゲングルを調製し、その酸素放出挙動を評価するとともに、培養環境に影響を与える因子として、中間反応物である過酸化水素濃度の経時変化を評価した。過酸化カルシウム濃度の増加により系内への酸素放出時間が延長される一方、初期バーストによる急激な酸素濃度上昇と過酸化水素の高濃度での蓄積が細胞培養の際には障害性を示すリスクとなりうることを示した。一方、カタラーゼの併用により過酸化水素の蓄積は抑制され、過酸化カルシウム含有コラーゲングルが適切な条件設定のもとで細胞培養に利用可能な酸素生成培養基材となり得ることを示した。

第4章では、第3章で作製した酸素生成コラーゲンゲルを用いて酸素放出速度の定量的評価を行い、その結果から酸素移動容量係数 k_La を算出した。この k_La を用いて本培養機材を用いた場合の理論上培養可能な細胞密度の閾値を導出した。次に理論値の妥当性を評価するために、初代ラット肝細胞を用いた評価系を構築し、低酸素環境下での培養実験を実施した。この結果、理論値による細胞密度の閾値は妥当であることを実験的に実証し、酸素生成培養機材を細胞培養に用いる際の基本的な設計指針を得ることができた。

第5章では、酸素生成材料からの酸素の初期バースト抑制と持続供給実現のため、W/O エマルション法を用いた過酸化カルシウム封入酸素生成ゼラチンマイクロスフェアを作製し、酸素放出特性並びに培養細胞を用いた有効性評価を行った。その結果、初期バーストを低減しつつ酸素放出時間をより長時間持続可能な時間制御型酸素源として機能することを明らかにした。さらに第4章と同様の手法により細胞への酸素供給能を定量的に解析し、肝細胞スフェロイドをコラーゲンゲルに高密度に包埋した三次元間組織モデルに対し適用することにより、低酸素下での生存率向上並びに管特異的機能の向上に貢献することを実証した。

第6章では、本論文の総括を行うとともに、本研究の成果を基に今後の課題と展望について述べた。