

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					
論文調査委員	主 査	九州大学	准教授	水本 博		
	副 査	九州大学	教授	工藤 奨		
	副 査	九州大学	教授	井嶋 博之 (工学府)		

論 文 審 査 の 結 果 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いる。特に個々の細胞から生体組織類似の構造と高い組織特異的機能を有する培養組織の構築を狙う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、培養組織内部での酸素供給不足による細胞死が問題となる。

本研究では、培養組織を移植した際、血管網侵入までの間、一時的に酸素供給が可能な酸素生成培養基材が問題解決になり得ると着想し、酸素生成材料の開発と、細胞培養に資する酸素生成能の定量評価法の確立を目的とした。酸素生成培養基材として過酸化カルシウムに着目し、過酸化カルシウム含有酸素生成コラーゲングルの調製と酸素放出特性の定量解析を行い、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理論的導出と細胞培養による実験的検証を行った。次に、酸素放出特性を制御する手法として過酸化カルシウムの封入化に着目し、ゼラチンを用いて過酸化カルシウム内包酸素生成ゼラチンマイクロスフェアを作製し、その酸素放出挙動を解析した。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、低酸素環境下での酸素生成ゼラチンマイクロスフェアの有効性の評価に取り組んだ。

まず、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示され、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。そこで、反応触媒としてカタラーゼの利用について検討した結果、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。

次に、作製した酸素生成コラーゲング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を算出した。算出された酸素移動容量係数より、理論上培養可能な細胞密度の閾値を導出した。得られた理論値の妥当性を評価するために、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、酸素生成培養基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。

一方、酸素生成材料からの酸素の初期バースト抑制とより長期に亘る持続的酸素供給実現のため、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、酸素放出特性の評価を行なった。この結果、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。細胞への酸素供給能の理論的解析を行い、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培養肝組織モデルに対し適用し、性能評価を行なった。その結果、低酸素下での肝細胞スフェロイドの生存率向上並びに肝特異的機能の向上に貢献することを実証した。

以上要するに、本研究は酸素生成培養基材の定量的評価および設計の基盤技術を確立するとともに、三次元肝組織培養への適用法を提案するものであり、生命工学の分野において価値ある業績と認められる。

よって、本論文は博士（システム生命科学）の学位を受ける資格があるものと認める。