

Title	Development of 3-Dimensional Tissue Constructs with Vessel-like Networks Using Enzymatically Cross-linked Hydrogel Templates
Author(s)	劉, 楊
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/50545
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 （ 劉 楊 ）	
論文題名	Development of 3-Dimensional Tissue Constructs with Vessel-like Networks Using Enzymatically Cross-linked Hydrogel Templates (酵素反応架橋ヒドロゲルの鋳型を用いた血管様ネットワークを含む3次元組織体構築法の開発)
論文内容の要旨 先天的な要因や病気や事故などにより十分に機能しなくなった組織や臓器の代替として、生体外で構築した組織体を移植して利用する新たな医療に大きな期待が集まっている。その一方で、厚みが数ミリメートルを超える組織体を、その中心部の細胞まで生存させた状態で作製することは未だに困難である。これは、組織体を構成する個々の細胞へ酸素や栄養分を送達するためのライフライン（生体の血管網に相当）として、培養液が流通可能なネットワーク構造を、組織体内部に構築することが難しいためである。 本論文は、細胞に穏和な条件下でさまざまな形に整形したヒドロゲルを作製することができる酵素反応架橋ヒドロゲル構造体を鋳型として、血管類似の管状組織体および血管様の流路が存在しなくても細胞の生存に問題が生じない大きさの球状組織体を作製し、それらを集積した後にヒドロゲル鋳型を分解・除去することで、培養液が流通可能なネットワーク構造を有する組織体の開発を行った。 第1章では、本研究の背景について概説し、酵素反応架橋ヒドロゲルを3次元組織構築の際の鋳型として適用する本研究の目的を明らかにした。また、既往の研究例について述べ、考慮すべき問題点や解決すべき問題点を明らかにし、本研究の方針を示した。 第2章では、動物細胞を含む直径約200μmの糸状、チューブ状のヒドロゲルファイバーを、西洋ワサビ由来ペルオキシダーゼ（HRP）の酵素反応を用いてアルギン酸の誘導体から作製する方法について検討を行った。また、このアルギン酸ゲル構造体に、任意のタイミングで分解可能な特性を維持したまま、細胞の接着性を付与するための方法を明らかにした。 第3章では、血管様のネットワークを介して酸素や栄養分を送達すべき組織本体を構成する直径約200μmの球状組織体を作製するための方法について検討を行った。そして、それらの組織体を集積する際に穏和かつ容易に除去可能なヒドロゲル材料として、アミロペクチン誘導体を開発した。また、任意のタイミングで球状組織体周囲から除去可能な組成のアルギン酸とゼラチン混合ゲルの組成比を明らかにした。さらに、表面に血管内皮細胞層を有する球状組織体を作製できることを示した。 第4章では、第2、第3章の検討により得られた管状および球状の組織をコラーゲンゲル内に集積し、その後、それぞれの組織の鋳型として機能したゲルを除去することで、培養液が流動可能な血管様の構造の周囲に球状の組織体が配置された構造体を作製した。また、血管内皮細胞の遊走および管腔形成を促すサイトカインを培養液に添加することで、管状組織とその周囲の球状組織の間に、自発的に直径10-50μmの管路がつながったネットワーク構造が形成できることを見出し、その内部に培養液を流通させることができることを実証した。 第5章では、本論文の総括及び今後の展望について述べた。 以上、本研究では物質の輸送を可能とする血管様ネットワークを有する3次元組織体を生体外で構築することに成功し、組織培養工学における新たな知見を与えるものである。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (劉 楊)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	田谷 正仁
	副 査	教 授	馬越 大
	副 査	教 授	三宅 淳
	副 査	准教授	境 慎司

論文審査の結果の要旨

本論文では、酵素反応により架橋するヒドロゲル構造体を鋳型として、球状組織体および血管類似の管状組織体を作製し、それらを集積した後にヒドロゲル鋳型を分解・除去することで、培養液が流通可能な血管様ネットワーク構造を有する3次元組織体を構築した。

まず初めに、ヒト培養細胞を含む直径約200 μm の糸状、チューブ状のヒドロゲルファイバーを、西洋ワサビ由来ペルオキシダーゼの酵素反応により、アルギン酸の誘導体から作製する方法について検討した。また、このアルギン酸ゲル構造体に、オンデマンドで分解可能な特性を維持したまま、細胞の接着性を付与するための方法と条件を明らかにした。次に、血管様のネットワークを介して酸素や栄養分を送達すべき組織本体を構成する直径約200 μm の球状組織体を作製した。そして、それらの組織体の鋳型として適したヒドロゲル材料として、アミロペクチン誘導体を開発した。また、任意のタイミングで、球状組織体周囲から除去可能なヒドロゲル膜とするため、アルギン酸とゼラチン混合ゲルの組成比を明らかにするとともに、これにより、表面が血管内皮細胞層でラッピングされた球状組織体を作製できることを示した。最後に、上記の検討により得られた管状および球状の組織をコラーゲンゲル内に集積し、その後、それぞれの組織の鋳型として機能したゲルを除去することで、培養液が流動可能な血管様の構造の周囲に球状の組織体が配置された構造体を作製した。また、血管内皮細胞の遊走および管腔形成を促すサイトカインを培養液に添加することで、管状組織とその周囲の球状組織の間に、自発的に直径10-50 μm の管路がつながったネットワーク構造が形成できることを明らかとし、その内部に培養液を流通させることができることを実証した。

以上、本論文は、組織培養工学における新たな知見を与えるものであり、博士（工学）の学位論文として価値のあるものと認める。