

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ガラクトースキトサンとヒアルロン酸のハイブリッドスポンジ足場を用いた肝組織モデルの構築
Title(English)	
著者(和文)	SHANGYI
Author(English)	Yi Shang
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9300号, 授与年月日:2013年9月25日, 学位の種別:課程博士, 審査員:田川 陽一,丸山 厚,近藤 科江,森 俊明,小畠 英理
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9300号, Conferred date:2013/9/25, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生体分子機能工学	専攻	申請学位 (専攻分野)： 博士 Academic Degree Requested Doctor of	(工学)
学籍番号： Student ID Number			指導教員 (主)： Academic Advisor(main)	田川 陽一
学生氏名： Student's Name	商 怡		指導教員 (副)： Academic Advisor(sub)	丸山 厚

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本論文は「ガラクトースキトサンとヒアルロン酸のハイブリッドスポンジ足場を用いた肝組織モデルの構築」と題し、以下の 6 章より構成される。

第 1 章「序論」では、本論文の背景および目的を記した。肝臓の構造と機能について概説するとともに、人工肝臓をはじめとした肝臓モデルについて、これまでの知見を述べた。生体の肝組織に類似した構造の再構築を目指し、肝細胞の組織工学的アプローチ、肝非実質細胞との共培養、足場材料など、特に生体における肝細胞環境に近づけるための重要性を指摘し、肝細胞と内皮細胞を認識できる足場を開発して、高い肝機能を有した肝組織モデル培養系を構築することを目的とした。

第 2 章「材料及び方法」では、使用した材料および実験方法を記述した。全ての動物実験は、東京工業大学生物理工学研究科に設置されている動物実験委員会の承認を得た上で、また遺伝子改変動物を用いた実験については、上記の委員会および東京工業大学遺伝子組換え実験等安全委員会の承認を得た後、本学動物実験等管理規則および遺伝子組換え実験等安全管理規則を遵守して実施した。

第 3 章「ガラクトースキトサン/ヒアルロン酸 (GCs/HA) ハイブリッドスポンジの作製」では、肝細胞と内皮細胞を認識できる GCs/HA ハイブリッド細胞足場の開発について検討した。GCs と HA の静電的作用を利用し会合させた後、凍結乾燥法を用いて GCs/HA ハイブリッドスポンジの作製をおこなった。SEM 観察により GCs/HA ハイブリッドスポンジの穴の大きさは均一であることを確認し、このハイブリッドスポンジを用いて、肝細胞と内皮細胞の共培養をおこなうことで肝組織構造の再構築が可能であることが期待できた。

第 4 章「初代肝細胞と内皮細胞の GCs/HA ハイブリッドスポンジにおける肝組織構築」では、第 3 章で作製した GCs/HA ハイブリッドスポンジを用いて、初代肝細胞と内皮細胞の *in vitro* 肝組織構築について検討した。細胞と材料の接着性の検討により、GCs/HA ハイブリッドスポンジは肝細胞のみでなく、内皮細胞にも特異的な認識性を有することを確認した。組織学的解析により、GCs/HA ハイブリッドスポンジ上で、肝細胞と内皮細胞が肝組織様の構造を再構築し、高密度で共培養が可能であった。肝細胞と内皮細胞との共培養にとって、GCs/HA ハイブリッドスポンジは有用であることが示せた。

第 5 章「肝前駆細胞と内皮細胞の GCs/HA ハイブリッドスポンジにおける肝組織構築」では、初代培養肝細胞は生体外では増殖しないことや肝機能活性が速やかに低下する問題点が挙げられる。そこで、初代肝細胞の代わりに、マウス門脈結紮由来肝臓から樹立された肝前駆細胞株を用いて、GCs/HA ハイブリッドスポンジ上で内皮細胞と培養した。肝特異的な遺伝子発現と尿素産生量の評価により、成熟肝細胞の特性が確認されたこと、肝機能が良好に維持されることを示すことができ、肝前駆細胞株の応用が期待できることがわかった。

第 6 章「総括及び今後の展望」では、本論文全体のまとめとその意義を述べると共に、この GCs/HA ハイブリッドスポンジを用いて構築した肝組織の研究課題について述べ、より生体肝臓に近い肝組織モデル構築に向けた展開について記述した。本研究によって得られた知見は、生体外肝臓システムやバイオ人工肝臓への応用の一助となり、薬理学や治療研究への応用が期待できる。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 2 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 2 copies of 800 Words (English).

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻：	生体分子機能工学	専攻
Department of		
学籍番号：		
Student ID Number		
学生氏名：	商 怡	
Student's Name		

申請学位(専攻分野)：	博士	(工学)
Academic Degree Requested	Doctor of	
指導教員(主)：	田川 陽一	
Academic Advisor(main)		
指導教員(副)：	丸山 厚	
Academic Advisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

[Introduction] Formation of cellular polarization mimicking the liver microenvironment should be necessary for preservation and maintenance of the long-term hepatic functions in an *in vitro* hepatocyte culture. In this study, we aim to construct a dense co-culture system in a new three-dimensional galactosylated-chitosan (GCs)/hyaluronic acid (HA) hybrid sponge to simulate the liver microenvironment. The GCs/HA hybrid sponge was expected to bind to both hepatocytes (through GCs) and endothelial cells (through HA), and be useful for the co-culture of hepatocytes and endothelial cells. This thesis is divided into 6 chapters as follows.

[Chapter 1: General introduction] This chapter mainly focused on the general background and the aims of this research.

[Chapter 2: Materials and methods] The experiments were conducted according to institutional ethical guidelines of Tokyo Institute of Technology for animal experiments and safety guidelines for recombinant DNA experiments.

[Chapter 3: Preparation and characterization of GCs/HA hybrid sponge] In this chapter, we synthesized GCs, and fabricated GCs/HA hybrid sponges by freeze-drying method. The interconnected open porous characterization of sponge was observed by SEM. It would be expected to apply for constructing the high-density of hepatocyte and endothelial cell co-culture system.

[Chapter 4: Construction of primary hepatocyte/endothelial cell co-culture system using GCs/HA hybrid sponge] In this chapter, primary hepatocytes, isolated from the liver of the DsRed transgenic mouse, and GH7, an EGFP gene-expressing EAhy926 cell line, were used. The specific interactions and biocompatibility between cells and materials were investigated. We succeeded in constructing the hepatocyte and GH7 co-culture system in terms of liver specific gene expression, urea production and testosterone metabolism.

[Chapter 5: Construction of hepatic progenitor cell/endothelial cell co-culture system using GCs/HA hybrid sponge] Primary hepatocytes exhibit high function, but face the problems such as difficult proliferation *in vitro* and function degrade dramatically. Therefore, in this chapter, hepatic progenitor cells (HPC), derived from portal branch-ligated liver, which exhibit spontaneous proliferation and the ability to differentiate into hepatocytes and biliary duct cells, was used. We cultured HPC and GH7 in the GCs/HA hybrid sponge and differentiated into mature hepatocytes. The HPC exhibited mature hepatocyte function such as liver specific gene expression and urea production.

[Chapter 6: General conclusions and prospection] In this chapter, we concluded this research and expected the high-density co-culture model might be employed in liver tissue engineering, and holds promise towards the development of a bioengineered artificial liver system.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 2 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 2 copies of 800 Words (English).