

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	マウス小腸組織内流れを計測するマイクロ流体デバイスの開発
Title(English)	
著者(和文)	栗生識
Author(English)	Satoru Kuriu
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11817号, 授与年月日:2022年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:石田 忠,小俣 透,柳田 保子,山本 直之,八木 透
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11817号, Conferred date:2022/3/26, 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

系・コース： Department of, Graduate major in	機械 ライフエンジニアリング	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	栗生 識		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	石田 忠	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本研究では、マウス小腸組織内流れを計測するマイクロ流体デバイスの開発を行った。その実現に必要な要素技術として、流路ごと生体組織をスライス可能なマイクロ流体デバイス、マウス小腸組織を流路化したデバイス、腸管運動模擬のための空圧アクチュエータを開発した。それらを組み合わせることで、目的のマイクロ流体デバイスを開発した。開発デバイスと腸内微生物の大きさを模擬した蛍光性マイクロビーズを用い、小腸組織を変形させた際の絨毛近傍における流れを観察した。以下に各章の概要を述べる。

第1章「序論」では、小腸組織が持つ免疫機能について述べた。小腸免疫は、絨毛表面に発現するM細胞が腸内微生物を取り込むことで起動する。一方、小腸組織内における流れにおいて、腸内微生物がM細胞へ到達する過程は未解明であった。そのため、腸内微生物の小腸組織内における流れ計測が重要となる。従来の動物実験手法では時空間的解像度の点で、小腸組織内における流れを微生物レベルで観察できないことを述べた。そこで、マイクロ流体デバイスを用いた先行研究を紹介し、絨毛を有する小腸組織に対し、腸管運動を模擬する小腸組織の変形、実験後の組織学解析に対応するマイクロ流体デバイスが実現されていないことを明らかにした。その上で、流路化したマウス小腸組織を変形することで腸管運動を模擬し、実験後、デバイスごとスライスすることで組織学解析を行うマイクロ流体デバイスの開発を本研究における目的とした。

第2章「流路ごと生体組織をスライス可能なマイクロ流体デバイス開発」として“エポキシ流路デバイス(ECD)”の開発について述べた。生体組織を配置するECDの流路は、生体組織を包埋しスライスするための樹脂の一種である“エポキシ”によって作製される。この流路に生体組織を配置することで、組織学解析に必要な化学固定・脱水・樹脂包埋までの生体組織の調製を行う。ECDの流路に配置した、細胞の三次元培養モデルであるスフェロイドを流路ごとスライス可能なことを実証した。直径280 μm のスフェロイド全体を厚さ18 μm で連続してスライスした。また、それよりさらに薄い厚さ10 μm でスライスしたスフェロイド断面に対し、抗体液を用いた蛍光染色を行い、タンパクの分布を観察した。

第3章「マウス小腸組織を流路化したデバイス開発」では、化学固定したマウス小腸組織をトンネル状に流路化したマイクロ流体デバイス(MIC)について述べた。マウス小腸組織の流路化を実現するため、小腸組織を配置する“コンテナ”、小腸組織両端を把持し、inlet/outletとして機能する“コネクタ”、デバイスを密閉する矩形流路“チャネル”を開発した。コンテナは、実験後コンテナごと小腸組織をスライスするため、エポキシで作製した。これら構成要素を用いMICを実現した。MICを用い、腸管運動を模擬しない場合での、常在微生物や外来微生物を想定した流れ観察実験を行った。常在微生物を想定した流れ観察実験では、絨毛に定着させたビーズが流れによって洗い流される様子を観察した。また、小腸組織をコンテナごとスライスして観察した結果、絨毛に付着したビーズの分布を評価できた。外来微生物を想定した流れ観察実験では、ビーズが絨毛に付着するまでの速度変化や付着した後の様子を評価した。

第4章「腸管運動模擬のための空圧アクチュエータ開発」では、小腸組織を変形するためのバルーン式空圧アクチュエータ(ABAs)について述べた。ABAsは、トンネル状に流路化した小腸組織上部に3つ配置し、空圧印加時のバルーン変形により小腸組織を変形する。本研究では、小腸組織を変形させるためのバルーン目標ストロークは1mmとした。作製したABAsのバルーンは、膜厚100 μm で空気を40kPaで印加時、目標の変形量1mmを達成した。また、3つのバルーンを周期的に駆動することもできた。

第5章「腸管運動模擬可能な小腸流路デバイスの開発」では、第2~4章で述べた要素技術を統合したデバイスについて述べた。作製したデバイスを用い、小腸組織を変形した際の絨毛近傍におけるビーズ流れを観察した。小腸組織を変形することで、絨毛近傍を流れるビーズの流速が5倍程度上昇することが観察され、小腸組織の変形周期によってビーズの速度や挙動が変化することを観察した。また、絨毛の間隙に存在するビーズの中には、小腸組織の変形と共に振動するような挙動を示し、その場に留まるものが存在した。さらに、小腸組織が窪んだ位置において、小腸組織が変形することで旋回するような流れが観察された。

第6章「結論」では、本論文をまとめると共に、今後の課題と展望を述べた。今後は、実験系をより実際の小腸組織内部に近づけた状態で、流れの評価を行う。例えば、絨毛表面における粘膜層の模擬や腸管運動(蠕動運動、振り子運動、分節運動)の模擬を行う。

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1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 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	機械 ライフエンジニアリング	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	栗生 識		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	石田 忠	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

The small intestinal immune system is activated by gut bacteria sampling process via M cells expressing on the villi. Although the immune mechanism after the sampling process has been studied biologically, the route of bacteria to M cells is still unknown. The bacterial behavior in the small intestine is complicated because of the fluidic circumstance caused by intestinal motility. However, the luminal flow observation is difficult by conventional method using X-ray or Endoscopic because they are insufficient of spatiotemporal resolution. Microfluidic device is the prospective solution for the luminal flow observation by microscope, and some devices were developed. However, either villi structure or intestinal motility were lack in those devices. Here, in this study, organotypic device which utilizes mouse small intestine as channel and mimics the intestinal motility is proposed. To evaluate the effect of luminal flow on the bacterial distribution formed around the villi, proposed device is designed as compatible with histological analysis.

At first, microfluidic device which is compatible with histological analysis was developed. The channel of the device was made of EPOX which is one of the tissue-embedded resin, and can be sliced. Spheroid on the channel was sliced and observed.

Second, microfluidic device using mouse small intestinal tissue was developed. With this device, fluidic behaviors of fluorescent microbeads, substitute of intestinal bacteria, around the villi were observed. And histological observation was demonstrated and beads distribution around the villi was evaluated.

Third, air-driven balloon type actuator was developed which can deform mouse small intestinal tissue rhythmically and dynamically.

Finally, proposed microfluidic device was achieved by combining developed three technical elements. With this device, observation of beads fluidic behaviors around the villi was achieved under the dynamic deformation of small intestinal tissue. In the future, more informative insight to the mechanisms of fluidic dynamics can be observed by mimicking the device setup to the real circumstance of small intestinal lumen.

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 1 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 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).