

審査の結果の要旨

氏名 金成 成

本論文は、Microfabricated device and technology to manipulate cells for regenerative medicine (再生医療のための細胞制御を目指したマイクロデバイス) と題し、マイクロパターニング技術による神経組織再生や、マイクロ流体デバイス技術を用いた細胞質移動による初期化の可能性を研究したもので、全4章からなる。

第1章は緒言であり、再生医療の中でも期待の大きな幹細胞を用いる神経組織再生に着目し、未だ完全な神経組織再生を達成した例はないこと、細胞ソースについては期待されている人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) では遺伝子の改変を伴うこと等の問題点を指摘している。続いて、幹細胞の増殖・分化・組織化における様々なマイクロ加工デバイスの利用例を概説した上で、上述の問題点の解決のためにはこれらの工学的技術の更なる利用が有望であると述べ、マイクロパターニング技術による神経組織構築の制御やマイクロ流体デバイス技術を用いた細胞質移動による初期化という本研究の目的とその達成のためのアプローチを述べている。

第2章では、光架橋性ゼラチンと神経成長因子 (NGF) を用いたマイクロパターニング法を用いた神経細胞の組織化制御に関する成果を述べている。まず、適切な量の NGF の固定化のためには一定濃度以上のゼラチンが必要であること、この条件下では、NGF の培養液中への遊離はほとんど見られず、長時間にわたりその活性が維持されることを確かめている。また、培養液添加の場合と異なり、固定化表面では細胞の NGF リセプターが表面側に局在することをも確かめている。次に、作成した表面上で神経由来細胞を培養し、高固定化量では培養液添加の場合と比較して神経細胞の神経突起伸張での効果は同等であるが、低固定化量では培養液添加の場合と比較してその効果が劣ることを観察している。しかしながら、固定化 NGF では、培養液の交換のたびに添加する必要がないことから、NGF の総使用量の観点からは極めて有利であると主張している。さらに、適切な幅と間隔・高さを持つ線状の NGF・ゼラチン上では、細胞増殖と神経突起の配向が一定方向に揃うことを見出し、制御された神経組織形成に対して極めて有効であると述べている。

第3章では、体細胞の初期化のための新たな手段として遺伝子改変の伴わない細胞質移動に着目、一組の細胞を近接させつつ捕捉する新たなマイクロ流体デバイスを提案し、その可能性検証に関する結果を報告している。すなわち、胚性幹細胞 (ES 細胞) の細胞質のみを体細胞に移動させることで、核の移動を伴うことなく体細胞の初期化を狙ったものである。まず、これに適した特殊なマイクロ流体デバイスの設計と製作についての成果を報告している。これは、2種の細胞の混合液を導入するのみで、細胞ペア

を効率的に形成するもので、2つの細胞は核の移動が起きず細胞質のみが移動できるような2マイクロメートルのスリットを介して2種の細胞が接触可能となるものである。次に、細胞周期を停止させる薬剤であるジメコルシンを用いたES細胞の細胞質増大を試み、ES細胞の未分化性を損なうことなく、細胞の直径および細胞質体積の増大を達成している。さらに、異なる色の蛍光タンパク質を発現するES細胞と線維芽細胞を対象として、ジメコルシン処理済みのES細胞を線維芽細胞と共にマイクロ流体デバイスに導入する検討を行い、高い確率で異種細胞ペアを形成させるための操作条件を決定している。最後に、センダイウィルスを用いて両細胞の細胞融合し、蛍光タンパクの移動を指標とした細胞質およびミトコンドリアの移動が起こること、その移動量は1時間で最大となり約4時間まで維持されることを観察している。

第4章は結論および展望であり、本論文全体の到達点を示すとともに、マイクロ加工デバイスを用いた神経組織構築や細胞ソースの問題点を解決する可能性のある新たな細胞初期化等に関する未解決の加太およびそれらの解決への展望を述べている。

以上、本論文は、増殖因子を微細パターン状に固定化する新たな技術を確立し、神経線維の配向性制御を通じた神経組織構築における有用性を示すと共に、細胞質移動のみによる細胞の初期化を達成するための新たなマイクロ流体デバイスを作成、核移動を伴わず細胞質のみの移動を達成可能であることを示している。このようなマイクロ加工技術の利用は、再生医療のためのより組織された細胞や組織の挙動制御にとって有効であり、バイオエンジニアリング・生物化学工学・生体組織工学・再生医療の発展に大きく寄与するものである。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。