

審査の結果の要旨

氏名 張 韌

留置カテーテルや生体モニタリングセンサーなどの高度な医療器具は新時代の医療技術に必須である。これらの医療器具は生体組織に直接挿入および結合できることが必要であり、これらを安全かつ効果的に作動させるためには、生体組織との結合部分での生体応答を抑制することが不可欠である。しかしながら汎用的な材料の転用では、生体軟組織との適合性の問題から医療器具の性能低下のみならず、生体組織の肥厚化や慢性炎症を誘引する。また結合が不完全な場合に発生する外部からの細菌侵入による感染は臨床現場において極めて重篤なインシデントである。本研究では、生体環境において自発的かつ可逆的に形成することを特徴とする生体親和性ポリマーハイドロゲルを組織マトリックスとして、生理活性分子の固定化および細胞を内包するバイオマテリアル技術を確立し、これを基盤技術としてゲル内における細胞の増殖、細胞外マトリックスの産生を誘引し、細胞間で生じる応答を観察している。さらに実際に医療器具に利用されている材料から傾斜的に機械的強度を生体軟組織に近づけるための材料設計指針を提案し、Layer-by-layer プロセスを実践した。これにより医療器具表面が生体軟組織に安定的に接着するための新しい方法の確立を目指している。

本学位請求論文は5章から構成されている。

第1章では、生体環境において自発的、可逆的に形成するポリマーハイドロゲルの分子設計概念や特徴に関して総括し、これに基づいて細胞をゲル内に内包した際の細胞応答に与えるハイドロゲルの機械的性質の影響に関して議論している。また、ゲル内の細胞の挙動に与える生理活性分子の効果を明確にし、人工細胞外マトリックスとしての有効性に関して述べている。細胞を内包したハイドロゲルを医療器具材料に接着し、細胞増殖、細胞外マトリックス産生とともに、機械的強度が生体軟組織に近接する界面制御法の創出に関して研究戦略を詳細に記述している。

第2章では、細胞を内包し、三次元で細胞培養ができるマトリックスの合成を行なっている。細胞親和性に優れた2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)ユニット及びジオール化合物と可逆的共有結合を形成する μ -ビニルフェニルボロン酸ユニットを有する水溶性ポリマー(PMBV)に、活性エステル基を介してサイトカインを固定化している。ジオール化合物としてポリビニルアルコール(PVA)を利用し、混合比率を変化させることによりPMBV/PVAハイドロゲルの弾性率の調節が可能であること。さらに、PMBVに導入した活性エステル基を利用して線維芽細胞増殖因子(b-FGF)を固定化してもハイドロゲルが形成できることを見出している。これにより任意の生理活性分子を固定化した人工細胞外マトリックスの可能性を議論している。

第 3 章では、b-FGF を固定化した PMBV/PVA ハイドロゲルに内包固定した細胞の増殖、分化誘導、細胞外マトリックスの産生を系統的に解析している。ポリマーに固定化した b-FGF は安定に存在し、その細胞増殖活性が維持されていることを、線維芽細胞(L-929 細胞)の増殖活性評価により確認した。ハイドロゲルの弾性率の効果に関してクリープ弾性率が 20-30 Pa、貯蔵弾性率が 150 Pa 程度で細胞増殖性が良好であることを明らかにしている。このハイドロゲル中での三次元細胞培養により細胞増殖時に細胞自身が細胞外マトリックスであるコラーゲンを産生することを見出し、合成したハイドロゲルと固定化細胞に由来する天然の細胞外マトリックスが複合化されたネットワーク構造の創出に成功している。さらに b-FGF とラミニンを共固定した PMBV/PVA ハイドロゲルで、細胞外マトリックスタンパク質の産生が増加することを明らかにしている。次いでマウス人工多能性幹細胞(miPS 細胞)をハイドロゲルマトリックス中で 3 次元培養することで、分化を抑制できることを遺伝子発現解析により確認している。従来の培養系では分化誘導阻害因子を添加することで分化を抑制しているが、ハイドロゲルの弾性率が 30Pa 程度で効果的に miPS 細胞の分化が抑制され、未分化状態で維持できることを見出している。

第 4 章では、実際に医療器具に利用されているポリエーテルエーテルケトン(PEEK)を基材として、この表面に弾性率の異なるハイドロゲルの多層構造を形成している。PEEK 主鎖のベンゾフェノン構造は光照射により効率よくラジカルを生成する。この反応を巧妙に利用することを計画し、PMBV を PEEK 表面に化学的に結合させて、結合した PMBV 表面を起点として数 mm の厚みを持つ多層ハイドロゲル層を作製している。この最外層に L929 細胞を内包させると、その場で細胞が増殖し細胞外マトリックス産生が生じることを見出している。

第 5 章は本研究の総括である。生体環境で自発的にゲル化するポリマー系を利用し、さらに任意のサイトカインを固定化して内包する細胞を 3 次元培養することができる新しいバイオマテリアル技術を開拓している。ハイドロゲルの弾性率は構成するポリマーの分子量や組成、ポリマー濃度、ならびに多価水酸基型ポリマーとの組み合わせを調節すること制御することが可能であり、培養細胞の基本的性能である細胞外マトリックスの産生のみならず、高次の細胞機能である iPS 細胞の分化能の調節といった細胞応答の制御に成功している。医療器具にこの表面を実装することで、生体組織に挿入した際に周囲の生体軟組織の特性に適合でき、その接着に寄与できる可能性を強く示している。このように本研究では生体親和性ハイドロゲルの分子設計から固定化細胞の細胞応答に至るまで系統的に研究を展開し、生体細胞の機能発現形態を自在に制御するバイオマテリアル技術を確立している。これは体内埋め込み型ハイブリッド人工臓器の創出や細胞を利用する治療法の開発など、未来型医療に波及するといえる。

以上のことより、本研究は細胞を一つの要素として扱うこれからのバイオマテリアル科学とバイオエンジニアリングの進歩に貢献すると判断できる。

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。