

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 小田 悠加

細胞工学を基盤とする組織再生医療の発展に伴い、細胞の素材としての重要性が高まっている。特に、幹細胞は任意の細胞へ分化させることが可能であるため、必要とされる機能性細胞を得るための素材として注目を集めている。この観点から、細胞を工学材料と同様に、その質を定量的に記述し、目的とする値へ調節する技術が必要となる。本研究はマテリアル工学の視点から細胞周辺環境を構築し、その物理的特性の制御を通じて細胞の質を定量性を持って担保する技術開発を目的とするものである。具体的には、ポリマー溶液の混和により自発的にゲル化する生体親和性ポリマーを利用し、幹細胞を懸濁することで3次元ネットワーク中に幹細胞を固定する。ポリマー組成や混和比を変化させることで細胞周辺環境の最適化を行い、内包された幹細胞の増殖や細胞周期、細胞分化を制御できることを示す。

本学位請求論文は5章から構成されている。

第1章では、細胞の外部環境認識機構および細胞機能変化に関わる物理化学シグナルとの相互作用を調節するためのマテリアル設計概念について記述している。細胞は生理活性物質のみならずその周辺環境の物理的性質に影響を受けることが知られている。中でも3次元細胞培養は、細胞間や細胞外マトリクスとの相互作用が生体系に近い状態となることから、細胞の機能維持や機能発現に不可欠な技術である。しかしながら、細胞機能と周囲の3次元環境との関係は限定的にしか解明されておらず、未だに一般化されてはいない。このような研究背景より、本研究では化学的な相互作用がなく、物性の制御が可能な3次元マトリクスの構築が必要としている。そこで生理的に不活性な 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (MPC) ポリマーにビニルフェニルボロン酸ユニットを導入したポリマー (PMBV) と、PMBV と可逆的な共有結合を生じるポリビニルアルコール (PVA) で構成される自発形成型 PMBV/PVA ハイドロゲルを3次元の細胞親和型マトリクスとして提案している。

第2章では、細胞親和型マトリクスを構築する水溶性 MPC ポリマーの合成とその物性について述べている。細胞を可逆的にマトリクスへと固定するために必要となるポリマー中のフェニルボロン酸基とジオール基との結合定数の評価を行い、この値を基準として最適なポリマー組成を決定している。また、この MPC ポリマーの細胞毒性がないことが示されている。

第3章は、細胞親和型マトリクスの物性について議論している。PMBV/PVA ハイドロゲルの物性として貯蔵弾性率および浸透圧係数を測定し、ポリマー鎖による3次元のネットワー

クにおいて貯蔵弾性率は架橋点を形成するフェニルボロン酸基の密度と正の相関があることが示されている。貯蔵弾性率は2種類のポリマー溶液の混和比やPMBVの化学組成のみならず、膨潤に用いる溶媒の量を変化させることにより制御することが可能であった。浸透圧係数については架橋点形成に関わらないMPCホモポリマーをネットワークに導入することで調節することが可能であること示している。さらに貯蔵弾性率の異なる3次元のネットワーク中でのタンパク質の拡散係数に有意差がないことから、細胞に与える影響がマトリクスの有する物理的性質のみであると考察している。

第4章は、PMBV/PVA ハイドロゲルの細胞親和型マトリクスとしての物性と内包された細胞機能について記述している。マウス間葉系幹細胞を内包すると、貯蔵弾性率の変化に伴って内包された細胞の増殖率が明確に変化することを明らかにしている。このとき、増殖の抑制された細胞の周期が休止期へと収束することも合わせて示された。膨潤により、貯蔵弾性率を低下させると細胞の増殖を再開させることができることを利用し、細胞周期特異的な幹細胞の骨分化誘導の効率が增加することを世界で初めて実現している。これより、多量の細胞を化学的な刺激無しに周期を同調させることの重要性を示している。さらにマウス間葉系幹細胞と線維芽細胞をマトリクスに内包させると、それぞれ異なる貯蔵弾性率範囲で増殖率を変化させることを明らかにしている。浸透圧係数を増加させると二種類の細胞とも増殖率が低下することから、貯蔵弾性率に細胞特異性があることを示唆している。これらは細胞の弾性率や物理的な力が加えられることによる細胞内反応の変化によるものであると考察している。

第5章は総括である。細胞親和性ポリマーからなる3次元のマトリクスを利用して、細胞周辺環境の物性を数値化し評価できることを示している。これを基盤に、細胞増殖や細胞周期という細胞機能が細胞周辺環境の貯蔵弾性率を変化させることで制御可能であることが示されている。

これら研究の成果より、細胞の活動を制御する手段として細胞周辺環境の物理特性が重要となることが明らかとなった。これは細胞の化学シグナル感受性に繋がるため、あらゆる3次元培養環境において必要な視点となる。本研究は、機能制御された細胞材料の利用が必須となる次世代の組織再生医療技術において、細胞培養環境の規格化、その制御に関して新たなマテリアル工学的アプローチを示している。

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。