

審査の結果の要旨

氏名 林 晓杰

細胞応答機構の理解とその制御は、細胞工学の発展を誘引するのみならず、細胞レベルから組織レベルへと高次元に機能を制御し、最終的に医療応用へ導くプロセスに不可欠である。現在、細胞応答機構を解明するため、細胞内外の環境や機能を制御するバイオマテリアルによるアプローチが実施されている。この場合、細胞の機能変化を惹起しない、複数のバイオ分子が共存する細胞環境下においても高精度に機能発現する、さらに細胞に対してシグナル伝達の送受信が可能なバイオマテリアルが要求される。本研究では、細胞親和性が高く、分子設計が容易なリン脂質ポリマーを基盤にして細胞内の化学情報の探索と細胞外からの情報の授受を実現するマテリアルデバイスを創製し、これらを用いた細胞応答機構の解明を実施している。

本学位請求論文は全体で5章から構成されている。

第1章では、本研究に必要な細胞親和型ポリマーバイオマテリアルについて、構造機能に着目して、その相関をまとめている。さらに細胞応答の機構を解明するための基盤として、細胞内外からの評価法の現状について、これらの有効性と問題点を詳細に記述している。また、細胞内へプローブとなる化学物質の送達に有効な細胞膜透過性ポリマーナノプローブの構造に注目し、特にポリマーベースの遺伝子送達デバイスの研究について整理している。細胞応答の機構解明を細胞内反応で生じる電子移動に着目して行うという観点から、人工細胞外マトリックスとなる生体親和型酸化還元ポリマーハイドロゲルの設計に注目し、効率の良い電子移動パスの構築について分子設計の概念を提示している。

第2章では、本研究で実施する細胞応答の機構解明に適用するマテリアル設計を具体的に述べている。ここでは二種類のリン脂質ポリマーの分子設計、合成過程と特徴について述べている。まず、水溶性を付与し、かつ高い細胞親和性を有するユニットとして 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) を選択している。さらに、生体環境下において容易にバイオ分子を結合できる反応性ユニットと、ポリマーの会合状態を制御するための疎水性ユニットからなる両親媒性リン脂質ポリマー Poly[MPC-*co*-*n*-butyl methacrylate (BMA)-*co*-*N*-succinimidyl oxycarbonyl tetra(ethylene glycol) methacrylate] (PMBS) を合成し、細胞内の特異的な核酸配列に結合する分子ビーコン(MB)との複合体デバイス (PMBS-MB) を実現している。一方、細胞を内包できる生体

親和型酸化還元ポリマーハイドロゲル構造を構築するために、芳香族ボロン酸化合物と多価水酸基化合物との可逆的複合体形成反応に着目し、さらに電子伝導性ユニットとしてフェロセン化合物を担持した酸化還元ポリマー Poly[MPC-*co*-BMA-*co*-*p*-vinylphenylboronic acid (VPBA)-*co*-vinyl ferrocene (VFc)] (PMBVF) を分子設計している。この PMBVF と、poly(vinyl alcohol) (PVA) を混合することで、細胞培養環境下においてもポリマーハイドロゲル (PMBVF/PVA) が生成することを見いだしている。

第3章では、PMBS-MB を用いて、細胞内に存在する核酸分子の検出について評価している。MB 単独では生体内に存在する酵素により容易に分解されるが、PMBS-MB は安定に存在し、細胞膜を透過できることを見いだしている。細胞内で PMBN-MB の機能を評価した結果、PMBS-MB は細胞内に存在する多くのバイオ分子の影響を受けることなく、特異的に標的となる核酸に結合することを明らかにしている。また、MB の構造を変化させることにより、核酸に対する特異性が変化するため、種々の標的核酸に対応できることから、細胞内分子反応プローブとしての PMBS-MB の有効性を結論している。

第4章では、PMBVF/PVA に細胞を内包し、ポリマーネットワークと細胞間での電子移動反応を通して細胞応答を評価している。電流生成菌として知られる *Shewanella* 菌とヒト子宮がん細胞である HeLa 細胞を PMBVF/PVA に内包し、外部から電気刺激を与えることで、細胞生存率、細胞増殖率および細胞周期に及ぼす効果を研究している。まず、PMBVF/PVA は細胞生存率に影響を与えないことを確認している。*Shewanella* 菌を内包した PMBVF/PVA に電気刺激を与えることで、単位時間における電気発生量が大幅に増加することを見いだしている。一方、HeLa 細胞を内包した PMBVF/PVA では、電気刺激と機械刺激を与えることで、癌細胞増殖周期が遅れる現象を見いだしている。これらのことから、細胞親和性と電子伝導性を有する PMBVF/PVA は、細胞外から電気信号で細胞応答を調整するために有効であると結論している。

第5章は本研究の総括である。細胞親和性ポリマーを基盤とするナノプローブ (PMBS-MB) とポリマーハイドロゲル (PMBVF/PVA) を創製し、これらの細胞応答の機構解明に対する有効性を確認した結果、細胞内の化学反応と物理応答に対応できることを証明している。これらの研究成果は、細胞工学の発展に欠かせない情報を提供できる。さらには、革新的医療と位置づけられる再生医療技術を向上させる新たなバイオマテリアルの設計アプローチを提示し、マテリアル工学分野の発展に大きく寄与すると期待される。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。