審 査 の 結 果 の 要 旨

氏　　名　　高　博韜（ガオ・ボタオ）

生体組織の再生機構の解明や生理活性物質の高精度な機能評価など、次世代の医療技術には用途に則して十分に細胞機能の評価系を実現することが必要である。現在までの細胞機能評価は生理活性物質を培養系に添加する分子生物学的方法が主流であった。その結果、定性的かつ平均的な細胞機能の評価しかできないために、次世代の医療技術の発展に歯止めをかけている。これに対し、本研究はマテリアル工学の視点から系統的に研究を展開し、生理活性物質による細胞機能の評価と制御を実践している。すなわち、細胞を内包できるポリマーマトリックスを、厚さを規定して積層することで、生理活性物質のマトリックス中での拡散現象を物理化学的に捉え、細胞機能の変化と相関させている。これにより細胞間での生理活性物質による機能調節や薬理活性を有する物質の細胞に与える効果などを定量的に解明することを目的としている。

本学位請求論文は６章から構成されている。

第１章は、研究の意義と細胞周囲に存在するマトリックスの物性や、細胞機能変化に関わる生物学的な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述べられている。細胞機能の変化は細胞周囲の環境、すなわち生理活性物質の受容、細胞-マトリックス間相互作用、細胞-細胞間相互作用およびマトリックスの物性変化に応答して引き起こされる。特に重要な物性としては、溶質拡散性が挙げられる。溶質拡散性は細胞周囲の生理活性物質の時空間分布に関わるため、細胞が生理活性物質を受容する頻度を決め、細胞の遊走や分裂の挙動に影響を及ぼす。生理活性物質により細胞機能変化が誘起できることを明確に示すには、細胞周囲の物理化学的因子や細胞間の距離などを一定とするマテリアルを創製することが求められる。そのために、細胞に対して影響の少ないポリマーマトリックスの特性などを考慮し、細胞親和性をもち、かつ生理的に不活性な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)で構成されるハイドロゲルを細胞内包マトリックスとして提案している。さらに、細胞間の距離、細胞への生理活性物質の拡散距離を規定するために、ポリマー積層を試み、その方法論について解説している。

第２章では、ポリマーゲル層を積層する条件を系統的に検討し、最適化している。細胞を含有する PMBV 溶液と、このポリマーに反応する PVA 溶液を交互に積層する際に、膜厚をマイクロメートルのレベルで均一にするために新たに回転数の高いスピンコーターを作製している。各ポリマー濃度、回転数、さらに積層する際の時間を制御し、各層 10-35μｍで、4 層積層することに成功している。また、得られた多重ゲル層が細胞培養環境において安定であることを明らかにしている。

第３章では、がん化細胞(HeLa 細胞)と正常ヒト血管内皮細胞(HUVEC 細胞)を、多重ハイ

ドロゲル膜に独立させて内包固定し、これら細胞間の応答に関して議論している。細胞間距離をゲルの厚さにより制御し、細胞の生存率の観察を実施している。このプロセスにおいて細胞生存率の顕著な低下が認められず、細胞固定化に与えるこのプロセスの有効性を確認している。

第４章では、多重ハイドロゲル層に固定化されたHeLa細胞の細胞周期を測定し、これに与える線維芽細胞(L929細胞)の影響を議論している。細胞間には生理活性物質の分泌による細胞反応が誘起され、他方の細胞の機能が変化すると仮定し、細胞周期の経時変化を追跡することでこれを明らかにしている。事実、L929細胞が存在することで、HeLa細胞の増殖周期が変化することを見出し、これが細胞間の距離に依存する現象であるとしている。このことは、生理活性物質の拡散に起因すると考察し、ゲル層の溶質拡散性を定量的に測定することで証明している。

第５章では、抗がん活性を有する低分子生理活性物質(PTX)が、HeLa 細胞に与える効果を検証している。ゲル層内の低分子物質の拡散性を抑制する目的で、新たに光反応で分子間架橋するポリマーを合成し、細胞内包多重ハイドロゲル層を作製している。共焦点レーザー顕微鏡による多重ゲル層の断面の観察により、蛍光標識されたPTXが拡散するとともに、細胞の生存率が減少すること、さらにこれがゲル層の厚さと架橋密度に規定される溶質拡散性に依存することを示している。これらのことは、細胞周囲の環境に対して、生理活性物質の拡散性を向上させる設計の重要性を示すと結論している。

第６章は総括である。

これら研究の成果は、細胞応答を規定する要素として細胞周囲に存在するマトリックスの物性が重要となることを示している。これは細胞間での生理活性物質による機能調節の解明や、細胞に効果的に作用する生理活性物質の設計につながるバイオマテリアルの重要な役割と、新たな医療技術を誘導するマテリアル工学的アプローチの有効性を示している。

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。