OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Development of hydrogels and cell aggregates driven by triple helix formation of collagen model peptides
Author(s)	吉田, 和暉
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/105417
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　吉田和暉　）	
論文題名	Development of hydrogels and cell aggregates driven by triple helix formation of collagen model peptides （コラーゲンモデルペプチドの三重らせん形成を駆動力としたハイドロゲルおよび細胞凝集体の創製）

論文内容の要旨

バイオファブリケーションとは細胞やタンパク質などの生体材料によって組織や臓器を作製する分野であり、複雑な構造と機能を再現した人工組織・臓器は移植や薬剤評価への応用が期待される。組織としての機能を発現するためには、個々の細胞が密接に相互作用して分化誘導することが重要であるが、生体組織の複雑な三次元構造を模倣した組織体の報告がほとんどである。このようなハイドロゲルを足場材料とした組織体は3Dプリント技術と組み合わせることで、生体組織に類似した構造を構築することが可能である。しかしながら、構造体の大部分をハイドロゲルが占めており、実際の生体組織とは大きくかけ離れた組織体となっていて、実際の組織としての機能を十分に再現した研究は未だ報告されていない。原因のひとつとして、ゲル足場によって細胞間相互作用が妨げられていることが挙げられる。

このような課題を解決するために、細胞凝集体を用いて逐次高次元の組織体を作製する手法が注目されている。特に細胞表面修飾法は、様々な生物医学的応用において細胞間相互作用や表現型を操作・制御できることから、大きな注目を集めている。生物学的に駆動される細胞表面修飾法として、遺伝子工学的手法や糖代謝を介して官能基を導入する代謝工学的手法が報告されているが、細胞タイプ依存性、免疫原性反応や腫瘍形成の誘発リスク、細胞代謝に依存した修飾効率といった課題がある。これに伴い、化学的に駆動される細胞修飾法も研究されている。中でも共有結合形成は簡便な手法と考えられるが、標的特異性の欠如や細胞毒性が課題である。一方、リン脂質・アルキル鎖・コレステロールを用いた細胞表面への疎水性挿入は細胞毒性が低いことが報告されている。

近年のいくつかの研究では、細胞凝集体を形成するためにDNA鎖を架橋部位として利用している。しかし、DNAの使用にはDNA分解や免疫反応の潜在的なリスクといった懸念がある。一方、コラーゲン様三重らせん構造は、コラーゲン特異的酵素を除くほとんどのプロテアーゼに対して耐性を持つことが知られており、コラーゲン様三重らせん構造の応用は有望視されている。しかしながら、CMPを細胞集合のモチーフとして用いた細胞集合法は未だ報告されていない。さらに、ホモ三重らせんとヘテロ三重らせん形成によるCMPハイドロゲルの解析に関する報告は少なく、ホモ三重らせんとヘテロ三重らせん形成を用いて追加のCMP鎖が及ぼす影響を明らかにした研究もほとんどない。

本研究では、CMPのホモ三重らせんとヘテロ三重らせん形成による材料特性の制御とその応用を目指して、CMPのホモ三重らせんとヘテロ三重らせん形成を介した集合特性を解析し、三重らせん形成に駆動される架橋特性を持つハイドロゲルと細胞集合法への応用を行った。第一章では$(Pro\text{-}Pro\text{-}Gly)_{10}$と$(Pro\text{-}Hyp\text{-}Gly)_{10}$の二種類の典型的なCMPのN末端にフルオレセインイソチオシアネートを修飾したFCMPを合成し、ホモおよびヘテロ三重らせん形成の特性評価を行った。第二章では、4分岐型ポリエチレングリコール (4-arm-PEG) 末端にCMPを修飾した4-arm-PEG-CMPを合成し、CMPのホモおよびヘテロ三重らせん形成による集積特性の解析とゾルーゲル転移の制御を行った。CMPのホモおよびヘテロ三重らせん形成、アミノ酸配列ならびにCMPの追加によりゲルの特性を制御できることが示唆された。第三章では4-arm-PEGにCMPと疎水性挿入部位のデオキシコール酸を修飾した細胞表面修飾分子を合成し、三重らせん形成を駆動力とした細胞集積法への応用を検討と評価を行った。本研究で見出した三重らせん形成を駆動力とするハイドロゲルや細胞凝集体作製法への応用は、新規な機能性生体材料として様々な応用が期待される。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名	（吉田　和暉）		
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主査	教授	松﨑　典弥
	副査	教授	平野　康次
	副査	教授	劒　隼人
	副査	教授	木田　敏之
	副査	教授	安田　誠
	副査	教授	正岡　重行
	副査	教授	鳶巣　守
	副査	教授	菊地　和也
	副査	教授	森　直
	副査	教授	藤塚　守
	副査	教授	家　裕隆

論文審査の結果の要旨

バイオファブリケーションとは細胞やタンパク質などの生体材料によって組織や臓器を作製する分野であり、複雑な構造と機能を再現した人工組織・臓器は移植や薬剤評価への応用が期待される。組織としての機能を発現するためには、個々の細胞が密接に相互作用して分化誘導することが重要であるが、生体組織の複雑な三次元構造を模倣した組織体の報告がほとんどである。このようなハイドロゲルを足場材料とした組織体は3Dプリント技術と組み合わせることで、生体組織に類似した構造を構築することが可能である。しかしながら、構造体の大部分をハイドロゲルが占めており、実際の生体組織とは大きくかけ離れた組織体となっていて、実際の組織としての機能を十分に再現した研究は未だ報告されていない。原因のひとつとして、ゲル足場によって細胞間相互作用が妨げられていることが挙げられる。

このような課題を解決するために、細胞凝集体を用いて逐次高次元の組織体を作製する手法が注目されている。特に細胞表面修飾法は、様々な生物医学的応用において細胞間相互作用や表現型を操作・制御できることから、大きな注目を集めている。生物学的に駆動される細胞表面修飾法として、遺伝子工学的手法や糖代謝を介して官能基を導入する代謝工学的手法が報告されているが、細胞タイプ依存性、免疫原性反応や腫瘍形成の誘発リスク、細胞代謝に依存した修飾効率といった課題がある。これに伴い、化学的に駆動される細胞修飾法も研究されている。中でも共有結合形成は簡便な手法と考えられるが、標的特異性の欠如や細胞毒性が課題である。一方、リン脂質・アルキル鎖・コレステロールを用いた細胞表面への疎水性挿入は細胞毒性が低いことが報告されている。

本研究では、CMPのホモ三重らせんとヘテロ三重らせん形成による材料特性の制御とその応用を目指して、CMPのホモ三重らせんとヘテロ三重らせん形成を介した集合特性を解析し、三重らせん形成に駆動される架橋特性を持つハイドロゲルと細胞集合法への応用を行った。第一章では$(Pro\text{-}Pro\text{-}Gly)_{10}$と$(Pro\text{-}Hyp\text{-}Gly)_{10}$の二種類の典型的なCMPのN末端にフルオレセインイソチオシアネートを修飾したFCMPを合成し、ホモおよびヘテロ三重らせん形成の特性評価を行った。第二章では、4分岐型ポリエチレングリコール (4-arm-PEG) 末端にCMPを修飾した4-arm-PEG-CMPを合成し、CMPのホモおよびヘテロ三重らせん形成による集積特性の解析とゾルーゲル転移の制御を行った。CMPのホモおよびヘテロ三重らせん形成、アミノ酸配列ならびにCMPの追加によりゲルの特性を制御できることが示唆された。第三章では4-arm-PEGにCMPと疎水性挿入部位のデオキシコール酸を修飾した細胞表面修飾分子を合成し、三重らせん形成を駆動力とした細胞集積法への応用を検討と評価を行った。本研究で見出した三重らせん形成を駆動力とするハイドロゲルや細胞凝集体作製法への応用は、新規な機能性生体材料として様々な応用が期待される。

以上のように、本論文は博士論文として価値あるものと認める。