

Title	細胞シートの力学的特性評価を目指した接着力及び引張力測定システムの開発
Author(s)	上杉, 薫
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34489
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨

氏 名 (上 杉 薫)	
論文題名	細胞シートの力学的特性評価を目指した接着力及び引張力測定システムの開発
論文内容の要旨	
<p>細胞同士の接着に関わる膜タンパク質や、細胞が基材表面との間に形成した接着性タンパク質を壊さず、一枚のシートとして回収したものを細胞シートという。近年、この細胞シートを再生医療や工学の分野に利用する試みが注目され、材料としての評価方法の確立が求められている。従来の評価方法として、形態学的手法と生化学的手法を用いた評価が主に行われてきたが、接着力及び、引張力の様な力学的特性による評価は確立されていない。力学的特性は、生体組織や単一細胞を評価する手段として一般的に用いられており、特に、医療分野において、生体組織表面、人工関節材料表面、インプラント材表面への細胞シートの接着力は非常に重要なパラメータである。また、引張力から得られる細胞の機械的特性は、細胞種、分化、病気、年齢、培養条件、薬剤応答により変化することが知られており、細胞シートの引張力を計測することで、新薬の開発や細胞生物学の発展につながる可能性がある。さらに、工学分野においては、バイオハイブリッドデバイスを設計する上で、細胞シートの機械部品に対する接着力や機械的特性は非常に重要なパラメータである。そこで、本研究では細胞シートの力学的特性である接着力と引張力の測定を目的とし、そのための測定システムを開発したので報告する。</p> <p>まず、第1章「緒言」では、接着力や引張力による細胞シートの力学的特性評価の提案と、その必要性及び本研究の目的について述べた。細胞シートは、機械的に非常に弱く、また化学物質の影響も受けやすいため、安定な測定を行うためには、応力集中の影響が無く、かつ化学物質の混入が無い把持方法を考える必要がある。そこで第2章「細胞シートの把持方法」では、応力を分散させる複数のフック構造を用いて細胞シートを機械的に固定する方法を提案した。次に、第3章「細胞シートの力学モデル」では、細胞シートの機械的特性を議論するための前準備として、単一細胞の引張試験で多く用いられている3要素粘弾性モデルについて議論し、等速引張試験におけるモデル式の説明も行った。第2章、第3章で細胞シートの力学的特性評価に必要な理論を得たので、第4章「細胞シートの接着力測定」では、接着力測定システムと第2章で提案した把持原理を用いた把持具 (Multi Hook type Fixture: MHF) を開発し、実際に細胞シートの接着力測定を行った。引張試験やせん断試験による接着力測定では細胞シートが破損してしまうため、本研究ではシート材の接着力測定の標準的な測定方法である90度はく離試験を適用した。その結果、ポリスチレン基材に対する細胞シートの接着力測定に成功し、細胞シート接着力測定に関する今後の課題を明らかにした。第5章「細胞シートの機械的特性測定」では引張力測定システムと引張試験専用のフック構造把持具 (Self-attachable fixture: SAF) を開発し、細胞シートの引張力測定を行った。細胞シートは培養面に接着しており、はく離後直ちに収縮するため、初期長さが一定の細胞シート試験片を取り出すことが難しい。そこで、第4章で用いた把持具のフック部分を固定式から非固定式に改良して、細胞シートにフックを小さな負荷で常に押し付けることができるようにし、さらに細胞シートがはく離するタイミングを温度で制御できる温度応答性培養表面を用いた。これにより、細胞シートをはく離と同時にフックで把持することが可能となり、収縮による初期長さのばらつきを軽減し引張試験を行うことに成功し、細胞シート引張試験に関する今後の課題を明らかにした。また、薬剤応答による影響の測定が可能か確認するために、細胞内骨格の重合を阻害するサイトカラシンDを投与したところ引張力が著しく低下し、本測定方法の有効性を確認することができた。以上の結果を踏まえて、第6章「結論」では本研究の総括を行い、細胞シートの力学的特性評価についての今後の展望や将来性について述べた。</p> <p>以上、本研究では、細胞シート専用の把持具と力学的特性測定システムを開発し、実際に細胞シートの接着力と引張力の測定を行った。細胞シートの力学的特性を用いた評価は、その困難さからこれまで報告されておらず、今回測定方法を開発し、実際に測定を行ったことは、再生医療、及び生物学や工学の分野において非常に大きな意義があると考えられる。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (上 杉 薫)			
		(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授	森島 圭祐
	副 査	教授	金子 真
	副 査	教授	箕島 弘二
	副 査	教授	渋谷 陽二
	副 査	教授	紀ノ岡 正博

論文審査の結果の要旨

近年、細胞シートを再生医療や工学の分野に利用する試みが注目され、材料としての評価方法の確立が求められている。従来の評価方法として、形態学的手法と生化学的手法を用いた評価が主に行われてきたが、力学的特性による評価は確立されていない。

本論文は以上の背景から、再生医療、及び生物学や工学への応用を目指した細胞シート評価方法として、細胞シートの力学的特性である接着力や引張力に注目し、これらの力学的パラメータの評価を可能とする測定システムの開発を行ったものである。主な成果を要約すると以下の通りである。

1. 細胞シートは機械的に非常に弱く、また化学物質の影響も受け易い。そのため、安定な測定を行うためには、応力集中の影響が無く、かつ化学物質の混入が無い把持方法を考える必要がある。そこで、本研究では応力を分散させる複数のフック構造を用いて細胞シートを機械的に固定する方法を提案した。
2. 接着力測定システムとフック構造による把持原理を用いた把持具 (Multi Hook type Fixture: MHF) を開発し、実際に細胞シートの接着力測定を行った。引張試験やせん断試験による接着力測定では細胞シートが破損してしまうため、本研究ではシート材の接着力測定の標準的な測定方法である 90 度はく離試験を適用した。その結果、ポリスチレン基材に対する細胞シートの接着力測定に成功し、細胞シート接着力測定に関する今後の課題を明らかにした。
3. 引張力測定システムと引張試験専用のフック構造把持具 (Self-attachable fixture: SAF) を開発し、細胞シートの引張力測定を行った。細胞シートは培養面に接着しており、はく離後直ちに収縮するため、初期長さが一定の細胞シート試験片を取り出すことが難しい。そこで、細胞シート接着力測定で用いた把持具のフック部分を固定式から非固定式に改良して、細胞シートにフックを小さな負荷で常に押し付けることができるようにし、さらに細胞シートがはく離するタイミングを温度で制御できる温度応答性培養表面を用いた。これにより、細胞シートをはく離と同時にフックで把持することが可能となり、収縮による初期長さのばらつきを軽減し引張試験を行うことに成功し、細胞シート引張試験に関する今後の課題を明らかにした。

以上のように、本研究では、細胞シート専用の把持具と力学的特性測定システムを開発し、実際に細胞シートの接着力と引張力の測定を行っている。細胞シートの力学的特性を用いた評価は、その難しさからこれまで報告されておらず、今回測定方法を開発し、実際に測定を行ったことは、再生医療、及び生物学や工学の分野において非常に大きな意義があると考えられる。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。