

Title	Culture Surface Design to Construct Human Tissues for Clinical Application
Author(s)	キム, ミーヘー
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48647
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	金 美 海
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 5 6 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 9 月 26 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学 位 論 文 名	Culture Surface Design to Construct Human Tissues for Clinical Application (医療応用を目的としたヒト組織形成のための培養面設計)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 田 谷 正 仁 (副査) 教 授 塩 谷 捨 明 准教授 大 政 健 史

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、移植を前提としたヒト細胞/組織の *ex vivo* 培養を対象として、その特性や機能の制御ならびに評価を可能とする培養面の設計と利用に関する一連の研究をまとめたものである。

第一章では、ナノスケールで表面の凹凸を制御できる D-グルコース提示型デンドリマー培養面を設計した。さらに、作成したデンドリマー培養面を原子間力顕微鏡により解析し、細胞応答特性を平均の面粗さで整理した。

第二章では、リガンドとしての D-および L-グルコースの提示量を変化させた培養面を作製した。培地中へのインスリン添加の有無により、ヒト乳腺上皮細胞表層でのグルコーストランスポータ発現量が変化することを利用して、D-グルコースとそのトランスポータの量的変化と細胞形態の関係を明らかにした。すなわち、D-グルコース提示量が低密度および高密度において細胞が円形となり、適度な D-グルコース密度では、伸展した形態となることを示した。また、細胞表層のトランスポータ密度を高くすると、その傾向が変化し、グルコーストランスポータと D-グルコース提示密度の量的変化が細胞形態を決定していることを、レセプターサチュレーションモデルにより説明した。このことは、細胞表層のトランスポータを抗体でブロックキング処理したところ、細胞形態は D-グルコースの提示比率に関係なく円形を示す結果と一致した。さらに、蛍光染色観察により、形態変化に伴う D-グルコースとグルコーストランスポータの接着程度や細胞骨格形成の変化を確認した。

第三章では、上記培養面の適用を軟骨細胞へと展開した。D-および L-グルコースの提示量を変化させることで軟骨細胞の形態を変化させ、円形状態を維持できることを示した。単層培養中の軟骨細胞はその形態により分化能が変化し、紡錘形態では脱分化を引き起こすことから、円形を維持できる培養面の開発は重要である。本培養面上では、円形の軟骨細胞のみが II 型コラーゲンを産生し、分化を維持していることが確認され、本培養面の有用性が示された。

第四章では、リガンドとしてのトランスポーター認識物質と刺激誘導物質 (EGF) を共提示する培養面の設計を行った。EGF と D-グルコースを提示した培養面では EGF/L-グルコース提示面での培養と比べ、細胞運動が促進され形態変化が顕著となることを見出した。これはグルコーストランスポータを介して細胞を培養面に密着させることで、効率よく EGF のシグナル伝達が誘引されたことが原因であると考察した。

以上のように、本論文は、新たな着想に基づいてヒト細胞/組織の培養面の設計指針を提案するとともに、設計した培養面が、細胞/組織の形態や機能の制御に有効であることを実証したものである。

論文審査の結果の要旨

本論文は、移植を前提としたヒト細胞/組織の *ex vivo* 培養を対象として、その特性や機能の制御ならびに評価を可能とする培養面の設計と利用に関する一連の研究をまとめたものである。

第一章では、ナノスケールで表面の凹凸を制御できる D-グルコース提示型デンドリマー培養面を設計した。さらに、作成したデンドリマー培養面を原子間力顕微鏡により解析し、細胞応答特性を平均の面粗さで整理した。

第二章では、リガンドとしての D-および L-グルコースの提示量を変化させた培養面を作製した。培地中へのインスリン添加の有無により、ヒト乳腺上皮細胞表層でのグルコーストランスポータ発現量が変化することを利用して、D-グルコースとそのトランスポータの量的変化と細胞形態の関係を明らかにした。すなわち、D-グルコース提示量が低密度および高密度において細胞が円形となり、適度な D-グルコース密度では、伸展した形態となることを示した。また、細胞表層のトランスポータ密度を高くすると、その傾向が変化し、グルコーストランスポータと D-グルコース提示密度の量的変化が細胞形態を決定していることを、レセプターサチュレーションモデルにより説明した。このことは、細胞表層のトランスポータを抗体でブロック処理したところ、細胞形態は D-グルコースの提示比率に関係なく円形を示す結果と一致した。さらに、蛍光染色観察により、形態変化に伴う D-グルコースとグルコーストランスポータの接着程度や細胞骨格形成の変化を確認した。

第三章では、上記培養面の適用を軟骨細胞へと展開した。D-および L-グルコースの提示量を変化させることで軟骨細胞の形態を変化させ、円形状態を維持できることを示した。単層培養中の軟骨細胞はその形態により分化能が変化し、紡錘形態では脱分化を引き起こすことから、円形を維持できる培養面の開発は重要である。本培養面上では、円形の軟骨細胞のみが II 型コラーゲンを産生し、分化を維持していることが確認され、本培養面の有用性が示された。

第四章では、リガンドとしてのトランスポーター認識物質と刺激誘導物質 (EGF) を共提示する培養面の設計を行った。EGF と D-グルコースを提示した培養面では EGF/L-グルコース提示面での培養と比べ、細胞運動が促進され形態変化が顕著となることを見出した。これはグルコーストランスポータを介して細胞を培養面に密着させることで、効率よく EGF のシグナル伝達が誘引されたことが原因であると考察した。

以上のように、本論文は、新たな着想に基づいてヒト細胞/組織の培養面の設計指針を提案するとともに、設計した培養面が、細胞/組織の形態や機能の制御に有効であることを実証したものである。本論文を博士 (工学) の学位論文として価値あるものと認める。