



Title	Studies on Biocompatible Scaffolds with Controlled Degradability for In Vitro Construction of Three-Dimensional Engineered Tissues
Author(s)	吉田, 裕安材
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58381
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名 吉 田 裕 安 材
よし だ ひろ あ き タ

博士の専攻分野の名称 博士(工学)

学位記番号 第 24546 号

学位授与年月日 平成23年3月25日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

工学研究科応用化学専攻

学位論文名 Studies on Biocompatible Scaffolds with Controlled Degradability for In Vitro Construction of Three-Dimensional Engineered Tissues
(生体外における三次元組織構築のための分解制御可能な生体適合性足場材料に関する研究)

論文審査委員 (主査)

教授 明石 満

(副査)

教授 茶谷 直人 教授 生越 専介 教授 三浦 雅博

教授 井上 佳久 教授 馬場 章夫 教授 神戸 宣明

教授 関 修平 教授 真嶋 哲朗 教授 安蘇 芳雄

教授 芝田 育也

論文内容の要旨

本学位論文は、生体外で細胞と細胞外マトリックス（ECM）から構成された三次元組織を構築するため、細胞足場材料の設計において、高い生体適合性・生分解性と細胞接着性という従来の概念に加え、“精密に制御された分解性”という新規な概念を付与することで、培養環境下で分解性が制御可能な足場材料を設計・合成した。

第1章 非細胞毒性条件下で分解可能な還元応答型テンプレート足場材料の作製

ポリ γ -グルタミン酸 (γ -PGA) を縮合剤存在下でシスタミンと架橋させることで、ジスルフィド架橋 γ -PGAハイドロゲル (γ -PGA-SSゲル) を作製した。得られたゲルは還元刺激により非細胞毒性条件下で選択的に分解することができた。ゲルをテンプレートとした三次元培養後に、還元刺激によりゲルを分解除去することにより、合成分を含まず培養細胞と細胞自身が産生したECMのみから構成された三次元組織を生体外で構築することに成功した（ハイドロゲルテンプレート法）。本手法において、塩基性線維芽細胞増殖因子やアスコルビン酸を併用することで、細胞増殖やコラーゲン産生を制御することもできた。また、同様の材料設計がゲルのみならず、不織布にも適用できることを明らかとした。

第2章 配向した細胞とECMからなる配向三次元組織の生体外構築

生体外で細胞が三次元的に配向した組織を構築するために、テンプレートゲルの孔構造を三次元的に配向制御した。得られたゲルで培養された細胞はその表面および内部で三次元的に配向した。また、三次元培養後にゲルを分解除去することで、生体外で配向した細胞とそれらが産生したECMからなる配向三次元組織を構築できた。

第3章 ラット皮下埋植試験によるジスルフィド架橋高分子ハイドロゲルの生体適合性・生分解性の評価

作製した組織中に合成物が残存していた場合の影響、また還元応答性ハイドロゲル自体の埋植材料としての可能性を評価すること目的として、ラット皮下埋植試験により還元応答性ハイドロゲルの生体適合性・生分解性を評価した。埋植後、ゲルは経時に生分解し、ゲルの埋植部位やその周囲において炎症反応は観察されなかつたことから、高い生体適合性を有することが明らかとなった。

第4章 物質透過性を制御可能な管状多層血管キャビラリーモデル組織の構築

血管類似の構造と機能を有する血管組織を生体外で構築するために、任意の直径のキャビラリー孔を有するハイドロゲルを作製し、その孔表面において血管平滑筋細胞と血管内皮細胞を三次元的に積層させた。得られた管状多層血管組織モデルは血清アルブミンの透過性を制御するだけでなく、血小板の吸着を抑制することを見出した。また、ゲル分解後には、生体外で細胞とECMからなる管状多層血管を回収することにも成功した。

本研究では、生体適合性足場材料に“精密に制御された分解性”という新規な概念を組み込むことで、生体外で細胞とECMから構成された三次元組織を構築することに成功した。加えて、足場の孔構造の制御や三次元細胞積層法の利用により、配向三次元組織や立体多層組織が生体外で構築できることも見出した。これらの多彩な三次元組織は、新規な移植組織として、また薬剤評価デバイスとしての応用が期待される。

論文審査の結果の要旨

再生医療において、生体外での細胞の三次元組織化は大きな課題である。これまでに多孔性のポリ乳酸やコラーゲンスポンジを用いた三次元培養が研究され、生体外での培養後期段階における細胞の過密化に伴う内部細胞の死滅、足場材料の長期残存による炎症や腫瘍形成といった大きな問題が指摘されてきたが、このような問題点を回避するための材料設計はほとんど報告例がない。本論文は、高い生体適合性・生分解性・細胞接着性という従来の概念に加え、“精密に制御された分解性”という新規な概念を足場に付与することで、培養環境下で望んだ時期に速やかに除去可能な足場材料を設計・合成し、これをテンプレートとして利用することで、生体外で細胞と細胞外マトリックス（ECM）から構成された三次元組織を構築可能な手法を開拓しており、主な成果を要約すると以下の通りである。

(1) ジスルフィド結合で架橋されたポリ γ -グルタミン酸 (γ -PGA) ハイドロゲル (γ -PGA-SS ゲル) を作製し、このゲルが細胞存在下で還元刺激により分解性を制御できることを見出し、ゲルを用いて三次元培養をした後にゲルを分解除去することで、生体外で細胞と ECM のみから構成された三次元組織を構築することに成功している。また、このような生理条件下における分解性が、ゲルのみならず不織布にも容易に適用できることも明らかにしている。

(2) γ -PGA-SS ゲルに配向多孔構造を導入することで、接着細胞の配向性がゲル表面および内部において三次元的に制御できることを見出し、先述同様にゲルのみを分解除去することで、生体外で配向した細胞と ECM のみから構成された三次元配向組織を構築することに世界で初めて成功している。

(3) ジスルフィド架橋ハイドロゲルをラット皮下に埋植することにより、ゲルそのものが高い生体適合性・生分解性を有することを明らかにしている。

(4) 任意の直径のキャビラリー孔を有するハイドロゲルを作製し、その孔表面において血管平滑筋細胞と血管内皮細胞を三次元的に積層することにより、血管類似の管状多層構造とタンパク質の透過性制御能・血液適合性を有する血管組織モデルを生体外で構築することに成功している。また、ゲル分解後には、生体外で細胞と ECM からなる管状多層血管を回収できることも明らかにしている。

以上のように、本論文は生体適合性足場材料に“精密に制御された分解性”という新規な概念を組み込むことで、生体外で細胞と ECM から構成された多彩な三次元組織を構築可能な新規技術を開拓し、得られた組織は再生医療分野における移植組織や薬剤評価デバイスとしての応用が期待される。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。