

Title	Development of Cell Interface-Controllable Nanofilms for Fabrication of Tissue Models
Author(s)	門脇, 功治
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59224">https://hdl.handle.net/11094/59224</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	かど わき こう じ 門 脇 功 治
博士の専攻分野の名称	博 士 (工学)
学位記番号	第 25470 号
学位授与年月日	平成24年3月22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	Development of Cell Interface-Controllable Nanofilms for Fabrication of Tissue Models  (生体組織モデル構築のための細胞界面構造を制御可能なナノ薄膜の開発)
論文審査委員	(主査) 教授 明石 満  (副査) 教授 井上 佳久 教授 森島 圭祐 教授 生越 専介 教授 茶谷 直人 教授 三浦 雅博 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

本学位論文では、生体のシステムを模倣した概念に基づいて、細胞の界面構造や機能を制御できる新規なナノ薄膜を創製した。さらに、ナノ薄膜を用いることで、生体外で生体類似組織を構築することが可能となった。

### 第1章 細胞表面へのナノ薄膜の形成による細胞の界面構造と機能の制御

第1章では、細胞表面に形成するナノ薄膜の種類によって、細胞の生存・形態・増殖・タンパク産生・分化を制御することが可能であることを見出した。また、フィブロネクチン (FN) の特異的な分子認識によって相互作用しているFN-ゼラチン (G) またはFN-デキストラン硫酸 (DS) 薄膜は、生体の細胞外マトリックス (ECM) と同様に細胞表面で線維を形成することが明らかとなった。さらに、細胞表面に形成したナノ薄膜は、生体のECMのように細胞とサイトカインの相互作用を制御できることを見出した。

### 第2章 細胞表面へのナノ薄膜の形成による様々な細胞の積層化 (細胞積層法の確立)

第2章では、単層培養した細胞表面に形成したFN-G薄膜が2層目の細胞の接着足場として機能するためには、少なくともおよそ6 nm以上の膜厚が必要であることを明らかとした。また、FN-G薄膜は、2層構造構築後の細胞層間でナノメッシュワーク状の線維を形成し、人工ECMとして機能していることが示唆された。さらに、単層培養した細胞表面にFN-G薄膜を形成することで、生体外で積層数を精密に制御しながら様々な細胞を積層化できる細胞積層法を確立できた。

### 第3章 3次元積層構造体の構築による細胞機能の向上

第3章では、積層構造体が、従来の単層培養と異なるタンパク産生能を有していることを明らかとした。また、積層構造体は、プラスチック培養皿よりも好ましい環境を細胞に提供し、生体内での細胞の機能を維持できる新規な培養基材としての応用が期待される。

### 第4章 細胞積層法による正常および炎症血管モデルの構築

第4章では、細胞積層法を用いることで、生体の血管壁に類似した構造と機能を有するヒト正常血管モデル組織の構築が可能であることが明らかとなった。また、ヒト正常血管モデル組織の炎症性サイトカインに対する応答性を評価したところ、生体内での血管の炎症プロセスを生体外で再現できることが示唆された。

本研究では、生体のECMのように細胞にナノレベルの微小環境を提供することで、細胞の機能を制御するという新しい概念に基づいて、細胞の界面構造や機能を制御できる新規なナノ薄膜を創製した。また、細胞表面にナノ薄膜を人工ECMとして形成することで、様々な細胞を積層化することが可能であり、構築した積層構造体は、従来の単層培養より優れた機能を有していることを見出した。さらに、生体外で生体組織に類似した構造と機能を有する正常血管および炎症血管 (疾患) モデル組織を構築することに成功した。このような生体組織モデルは、再生医療や薬剤の効果判定などへの応用が期待される。

## 論文審査の結果の要旨

2007年にヒト人工多能性幹細胞 (iPS細胞) の樹立が報告され、再生医療の飛躍的な加速が期待されている。生体外で複数種類の細胞を組み合わせ、生体組織類似の構造と機能を持つ組織体を構築することができれば、再生医療や薬剤評価において有効であると予想される。近年、細胞を三次元的に積層化する研究が盛んに行われており、細胞シートの積層化などが報告されているが、複雑な操作や機器が必要であり、また細胞外マトリックス (ECM) 層の構成や厚さを制御することが困難である。そのため、細胞とECMの組織化を可能とする新しい技術が求められている。本論文では、細胞表面に形成したナノ薄膜による細胞機能の制御および細胞とECMを組織化することで、生体に類似した構造と機能を併せ持つ積層化組織の構築を目的としており、主な成果を要約すると以下の通りである。

(1) 細胞表面に形成するナノ薄膜の種類によって、細胞の生存・形態・増殖・タンパク産生・分化を制御することが可能であることを見出している。また、フィブロネクチン (FN) の特異的な分子認識によって相互作用しているFN-ゼラチン (G) またはFN-デキストラン硫酸 (DS) 薄膜は、生体のECMと同様に細胞表面で線維を形成することが明らかとなっている。さらに、細胞表面に形成したナノ薄膜は、生体のECMのように細胞とサイトカインの相互作用を制御できることを見出している。

(2) 単層培養した細胞表面に形成したFN-G薄膜が2層目の細胞の接着足場として機能するためには、少なくともおよそ6 nm以上の膜厚が必要であることを明らかとしている。細胞の積層化に対するECM層の膜厚の効果を明らかにしたのは本研究が初めてである。またFN-G薄膜が、2層構造構築後の細胞層間でナノメッシュワーク状の線維を形成し、人工ECMとして機能していることを見出し、生体外で様々な細胞を積層化することに成功している。

(3) 積層構造体が、従来の単層培養と異なるタンパク産生能を有し、プラスチック培養皿よりも好ましい環境を細胞に提供することで、生体内での細胞の機能を維持できることを見出している。

(4) 本手法を用いることで、生体の血管壁に類似した構造と機能を有するヒト正常血管モデル組織の生体外での構築に成功している。さらに、生体内での血管の炎症プロセスを生体外で再現できることを見出している。

以上のように、本論文では生体のシステムを模倣した概念に基づいて、細胞の界面構造や機能を制御できる新規なナノ薄膜を創製している。さらに、細胞表面にナノ薄膜を形成し、細胞同士の接着を制御することで生体外での生体類似組織の構築を達成している。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。