



Title	Studies on the Effect of Degradation/Crosslinking Degrees of Hyaluronic Acid Derivative in Hydrogels on Vascular Endothelial Cell Behavior In Vitro
Author(s)	Elvitigala Chamara Manoj Lakmal, Kelum
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/98677
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (ELVITIGALA Kelum Chamara Manoj Lakmal)	
Title	Studies on the Effect of Degradation/Crosslinking Degrees of Hyaluronic Acid Derivative in Hydrogels on Vascular Endothelial Cell Behavior In Vitro (ヒドロゲル細胞培養基材を構成するヒアルロン酸の分解/架橋度が血管内皮細胞挙動に及ぼす影響に関する研究)
Abstract of Thesis The formation of capillary networks by vascular endothelial cells (VECs) is essential for various physiological processes, including nutrient exchange and tumor growth. The aim of this study is to investigate how the degradation and crosslinking degrees of hyaluronic acid (HA) derivatives in hydrogels affect the behavior of VECs, with a focus on understanding the mechanochemical properties that influence vascular network formation. Specifically, this study investigates the modulation of human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) behavior using mechanochemical properties-tuned hydrogels based on hyaluronic acid (HA) modified with phenol moieties (HA-Ph). Hydrogels were prepared through horseradish peroxidase (HRP)-mediated crosslinking and photocrosslinking, providing a platform for studying the effects of hydrogel stiffness and HA-Ph degradation on HUVECs functions. Chapter I provides a general explanation of the critical role of HA in VECs behavior and emphasizes the need to study its degradation. This chapter presents methodologies for HA degradation and hydrogel formation, demonstrating their potential applications in tissue engineering. Chapter II describes hydrogen peroxide (H₂O₂)-mediated degradation and its key role in enabling HUVEC network formation. Using HRP and H₂O₂ to crosslink phenolated polymers, HA-based hydrogels with controlled physicochemical properties were produced. Key observations include the need for low molecular weight HA-Ph (LMWHA-Ph) and the importance of hydrogel stiffness, which can be fine-tuned by adjusting the H₂O₂ exposure time for optimal network formation. Chapter III examines the photocrosslinking method, where control of polymer degradation and hydrogel stiffness was achieved by varying the light irradiation time, using ruthenium dye and sodium persulfate, but not H₂O₂. This approach reveals a critical balance where increasing light exposure initially increased both polymer degradation and hydrogel stiffness up to a threshold beyond which both parameters began to decrease. The optimal conditions identified for network formation also highlighted the critical role of LMWHA-Ph in influencing F-actin fiber formation and the interaction of LMWHA-Ph with CD44 receptors, which is fundamental to HUVEC network formation. Chapter IV continues with a detailed exploration of sonication-mediated degradation, focusing on elucidating the mechanisms by which LMWHA-Ph initiates HUVEC network formation. Before hydrogel formation, HA-Ph was degraded to its low molecular weight form by sonication of HA-Ph solution, which was subsequently used to form hydrogels by HRP-mediated crosslinking. This setup was designed to investigate the direct influence of LMWHA-Ph on HUVEC network formation, highlighting its interaction with CD44 receptors as a critical element in initiating network structure. This study not only confirms the pivotal role of LMWHA-Ph in vascular network formation, but also reveals the signaling pathways involved in this biological process. Chapter V extends the application of this HA-Ph hydrogel system by using an additional cell line, mouse myoblast cells (C2C12), to investigate the potential of LMWHA-Ph hydrogels for muscle tissue engineering. This chapter highlights the broader applicability of HA-Ph hydrogels beyond angiogenesis. Overall, this work provides a detailed understanding of how HA-Ph degradation in the hydrogel environment and the mechanical properties of hydrogels influence VECs and muscle cell functions. The findings underscore the potential of HA-Ph hydrogels obtained via enzymatic and photocrosslinking as versatile biomaterials for various tissue engineering applications, offering new avenues for regenerative medicine and therapeutic interventions.	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (ELVITIGALA Kelum Chamara Manoj Lakmal)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	境 慎司
	副 査	教 授	岡野 泰則
	副 査	教 授	出口 真次
論文審査の結果の要旨 本論文において、ELVITIGALA Kelum Chamara Manoj Lakmal氏は、ハイドロゲル中のヒアルロン酸誘導体の分解度および架橋度が血管内皮細胞の挙動に与える影響を調査しました。特に、血管網形成に関与する細胞が接着する表面を構成するハイドロゲルのメカノケミカル特性に焦点を当て、その理解を深めました。具体的には、ヒアルロン酸誘導体から得られるハイドロゲルのメカノケミカル特性を調整することで、その表面に播種されたヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）の挙動制御に関する知見を得ることを目指しました。第1章では、ヒアルロン酸がHUVECの挙動に果たす重要な役割について概説し、細胞接着面を構成するハイドロゲルの分解の影響を研究する必要性を論じました。第2章では、過酸化水素を用いてハイドロゲルを構成する高分子の分解を促進し、その分解がHUVECの血管網形成に与える影響を調べました。結果として、低分子量化したヒアルロン酸誘導体がHUVECのネットワーク形成に最適な条件を提供することを示しました。第3章では、ルテニウム錯体と過硫酸ナトリウムを用いた光反応により、ヒアルロン酸誘導体の分解とハイドロゲルの機械的特性を制御しました。光照射時間を変化させることで、ヒアルロン酸誘導体の分解とハイドロゲルの剛性が増加し、臨界点を超えると減少することを明らかにしました。また、F-アクチン線維の形成およびCD44受容体との相互作用がHUVECのネットワーク形成に及ぼす影響を示しました。第4章では、超音波処理によるヒアルロン酸誘導体の分解がHUVECのネットワーク形成に及ぼす影響を検討しました。第5章では、低分子量化ヒアルロン酸誘導体を筋組織工学に応用し、マウス筋芽細胞（C2C12）を用いた実験により、その有用性を実証しました。 以上のように、本論文において、ELVITIGALA Kelum Chamara Manoj Lakmal氏は、ハイドロゲル中のヒアルロン酸誘導体の分解度と架橋度が血管内皮細胞の挙動に与える影響を詳細に検討し、重要な知見を得ました。さらに、その応用可能性についても考察を行いました。血管内皮細胞の挙動を制御する方法を確立することは、組織工学において非常に重要であり、再生医療の発展に向けて本研究の成果は社会的にも大きな貢献をするものです。よって、本論文は博士（工学）の学位を授与するにふさわしいものと認めます。			