

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 平野 覚 浩

医学と工学の融合により革新的な医療技術が開発されることに伴い、先端医療およびその研究にかかわる分野での材料、すなわちバイオマテリアルに求められる要求性能も飛躍的に高度化しつつある。バイオマテリアルは生体および生体由来成分との直接・間接的な相互作用下において用いられる材料であり、それゆえに材料界面の設計は高度機能の発現において極めて重要な問題となってくる。申請者はこの点に着目し、本学位申請論文に関わる研究において、親水性有機高分子を用いたバイオマテリアル界面の新規表面修飾および高機能化について検討を行った。

第1章は序論であり、バイオマテリアルの定義、界面修飾法の概念について詳述し、さらに今後のバイオマテリアルに求められるであろう諸機能について論じることで、現時点での問題点を提起している。これら問題点を解決するための道筋として、本研究の目的と構成が述べられている。

第2章では、ポリエチレングリコール (PEG) 側末端にアセタール基を、ポリラクチド (PLA) 側末端にメタクリロイル基を有するブロックコポリマーからなる高分子ミセルの表面修飾剤への適用について検討が行われている。水中にてコア-シェル型高分子ミセルを形成させた後に、弱酸処理によるアセタール基のアルデヒド基への変換、コアに存在するメタクリロイル基の重合を順次行うことで、高度に安定化された反応性内部重合高分子ミセル (ナノボール) を調製した。表面に存在するアルデヒド基を介して、アミノ基を有する表面上にナノボールを固定化し、さらにナノボール修飾表面に存在する未反応のアルデヒド基を介してポリアリアルアミンを固定化する手順を逐次的に繰り返すことで、ナノボールを積層化した界面構造を構築している。この積層化構造を利用した親水性高分子の透過制御について、分子量の異なる三種類のデキストランを親水性直鎖高分子のモデルとして、またミオグロビン及びアルブミンを高次構造を有する親水性高分子のモデルとして用いて検討を行った結果、ナノボール積層化構造により分子量及び高次構造依存的に透過速度が顕著に変化することが示され、また親水性高分子鎖に対する溶質の親和性により物質の透過がコントロールできる可能性が示唆されている。この結果から、ナノボール積層化構造により物質分離性能を有する新規界面構築が可能であることが結論付けられて

いる。

第3章では、PEG末端にアセタール基を有するブロックコポリマーを用い、疎水性表面上における親疎水型ブロックコポリマーの自己組織化によるポリエチレングリコールブラシ界面構造の構築とそれを利用した機能性細胞培養床への展開についての検討結果が述べられている。PEGブラシ構造により細胞の非特異的接着を抑制した上で、プラズマ微細加工技術によりマイクロオーダーの細胞接着性ドメインを作成し、血管内皮細胞のマイクロパターンニングについて検討したところ、細胞のパターンニングはPEG末端に存在する官能基およびドメインの間隔に強く影響されることが示された。続いて、肝細胞特異的なリガンドであるラクトースを導入したPEG表面において肝細胞と血管内皮細胞の海島型共培養を試みたところ、肝細胞はラクトース部位に接着することなく内皮細胞上へ特異的に接着し、スフェロイド形態をとることが示されている。このスフェロイド形成に関しては、数百ミクロン部位に限局された内皮細胞の存在がきわめて重要であることが示され、また肝細胞特異的機能の維持にも内皮細胞ドメインサイズが影響を与えることが指摘されている。これらの結果から、肝機能を固定化した細胞チップの実現が可能であることが結論づけられている。

第4章では、前章において示された肝細胞チップをより簡便に実現するための手段として、ポリビニルアルコール（PVA）からなる細胞非接着性を有するフォトレジストを用いた細胞パターンニング表面の効率的な調製が検討されている。フォトマスクを介して100ミクロンオーダーの細胞接着性ドメインを作成するための照射条件について、表面形状の詳細な観察から最適化を行っている。続いて長期にわたって細胞のパターンを維持するために求められる性能である膜の安定性について検討を行った結果、基材とPVA膜の間に化学的な架橋構造を導入し、かつPVA膜厚を薄くすることで、一ヶ月以上の長期にわたって培養液中で安定に存在する基板を調製することに成功している。加えて、化学結合を導入した場合、PVA膜はオートクレーブ処理によっても基材から剥離することなく安定に存在し、実用化を考慮した場合の大きな利点となることが示されている。種々細胞を用いた検討の結果、調製した基板は極めて優れたパターンニング能を有していることが示され、また高い細胞進展抑制能を発揮することが明らかとされている。さらに、肝細胞と内皮細胞の共培養を行ったところ、肝細胞は一ヶ月以上の長期にわたり生存することが示されている。以上の結果を元に、この基板が肝細胞機能固定化チップを実現するための極めて有用な材料であることを結論付けている。

第5章においては、PVAパターン化基板上にて調製した肝細胞スフェロイドチップの有用性を実証するための実験として、薬物代謝機能の測定を行った結果が述べられている。薬物代謝において極めて重要な酵素であるシトクロム

P450 の活性を、テストステロン部位特異的水酸化反応により検討した結果、二週間にわたり初期活性を維持することが示され、一ヶ月以上の培養においても初期活性の 70%程度が維持されることが示されている。加えて、誘導剤による刺激存在下において活性を測定したところ、誘導剤に応答する形で薬物代謝能が向上していることが示され、本研究において検討された肝細胞スフェロイドチップが薬物代謝アッセイのツールとして極めて有望であると結論付けられている。

第 6 章は総括であり、第 2 章から第 5 章までに記述された内容を元に、研究の位置付けを再度明確にすることで、新たなバイオマテリアル界面設計の方法論の提示、それらの評価法を示すと共に、研究の波及効果及び展望についても述べられている。

すなわち本論文は、独創的なシーズに基づく研究（第 2、3 章）とその結果として示されたニーズに基づく研究（第 4、5 章）という、両面的かつ独創的なアプローチにより、機能性高分子を用いた高性能バイオインターフェイス設計の発展性を提示するものであり、マテリアル工学の見地から極めて秀逸なものと判定される。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。