

審査の結果の要旨

氏名 徐 暢 皓

本論文は、材料の格子状のマイクロパターンが、マウスの間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化に及ぼす効果に関するものである。再生医療においては、幹細胞を如何に目的の細胞に分化させるかは重要な課題であり、それらの研究は主に生化学的な因子を用いて研究されてきた。一方、生化学的因子による細胞の分化制御にかかるコストは、その細胞数にリニアに比例する。ところが再生医療においては、医学の基礎実験とは異なり分化させるべき細胞数は10の7乗から8乗になることが一般的である。この場合、生化学的因子を用いた分化制御にかかるコストは、臨床的には非現実的なものとなる。この点が、再生医療の実現化を大きく阻んでいる障壁の一つである。本論文は、その障壁をマテリアルという異なる角度から乗り越えようとするもので、マテリアルを用いることによるコストは細胞数に直ちには比例しないため、もしマテリアルによる分化制御が実現すれば、再生医療の実現化に大きく寄与するものと考えられる。本論文のこのような研究のモチベーションについては、審査委員会において大きく評価された。

マテリアルによる細胞の分化制御の手法については、類似研究においてはスティッフネスなど、主に材料の機械的な性質に着目して研究が進めてられてきた。事実、幹細胞をスティッフネスの異なる材料上で培養することで、様々な細胞種に分化させることが可能であるとする研究結果が報告されている。一方、本論文のオリジナリティは、分化制御させるパラメータとして材料表面の凹凸、特に格子状のパターンを用いた点にある。格子パターンにおいては、それを網羅的に作製しようとする格子の幅、間隔、高さなど変数が多く有り、非現実的である。本論文においては、細胞の大きさを基準にとり、格子に接着して成育する細胞にとって影響を及ぼすと考えられる格子の間隔、幅を想定し、また高さについては固定した。この点は、現実的な実験計画が立案されていると評価された。

格子状のパターンで幹細胞を培養し、分化制御の評価としてはリアルタイムRT-PCRを用いて、骨芽細胞において発現している典型的な遺伝子について

定量している。格子の間隔を変化させた場合、骨芽細胞のマーカー遺伝子の発現に一定のピークを持ったパターンが表れることを示した。このピークをもった発現パターンは、骨芽細胞に分化させるのに適した格子パターンが存在することを示しており、本論文の主要な成果であると評価された。

また、抗体免疫染色法を用いて細胞内骨格であるアクチンと、細胞接着斑を構成する分子であるビンキュリン等を蛍光染色し、格子パターンの違いによる細胞の接着および細胞骨格の発達、細胞接着斑の形成位置などについて定性的な評価を行った。さらに、アクチンの形成を促進するミオシンを阻害する因子など阻害因子を添加することが、格子パターンの違いによる効果に影響を及ぼすかどうか検証している。これらは全て、何故、格子パターンの違いが、幹細胞の骨芽細胞分化に影響を及ぼしているかについて、そのメカニズムを考察しようとするためのものである。このように、格子パターンの違いが、幹細胞の骨芽細胞分化に影響を及ぼす、という事実を見出しただけでなく、そのメカニズムにも迫ろうとしたもので、その考察内容は評価された。ただし、メカニズムについては決定的に解明した訳では無く、状況証拠を積み重ねたものである。この点については、本研究がさらに発展性を持って、引き続き探究されるべきものであると審査において認識された。

以上要するに、格子パターンの違いが幹細胞の骨芽細胞分化に影響を及ぼすという事実を見出したこと、何故そのような効果を持つかについて、分子レベルで状況証拠を積み重ねて一定の結論に達したこと、そしてこれらの知見がバイオエンジニアリングの進展に寄与すること、これらの事由によって本論文が博士論文として相応しいものであるとの結論に至った。

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。