

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Cell Behaviors in Response to Protein-Immobilized Surfaces and Mechanical Forces
著者(和文)	FANGKun
Author(English)	Kun Fang
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12547号, 授与年月日:2023年9月22日, 学位の種別:課程博士, 審査員:生駒 俊之,伊藤 嘉浩,宮内 雅浩,松下 伸広,中島 章,安楽 泰孝
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12547号, Conferred date:2023/9/22, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

## 論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第		号	学位申請者氏名	Kun FANG	
論文審査 審査員		氏名		職名	氏名	職名
	主査	生駒 俊之		教授	中島 章	教授
	審査員	伊藤 嘉浩		特定教授	安楽 泰孝	准教授
		宮内 雅浩		教授		
		松下 伸広		教授		

### 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は、「Cell Behaviors in Response to Protein-Immobilized Surfaces and Mechanical Forces (固定化したタンパク質表面と機械的力に応答する細胞挙動)」と題し、英文で書かれ4章よりなっている。第1章「Introduction (緒言)」では、細胞外マトリックス (ECM) 内に生存する細胞の機能を制御する生化学的又は生物物理的な要因、タンパク質 (ゼラチン・液性成長因子) とメカノバイオロジーとが、足場材料を用いた細胞による組織や臓器の正常な再生に重要であることを概説している。従来から報告されている単一の要因だけによる細胞挙動制御の課題を示し、液性因子であるタンパク質を固定化させた足場材料と機械的刺激とを組み合わせることで細胞の微小環境を模倣して、靱帯と骨の接合部などの複雑な階層構造をもつ組織の再生を提案している。さらに、生化学的要因として足場材料にタンパク質の固定化法やそのマイクロパターンの構造の最適化、並びに機械的刺激として周期的な伸縮や低出力超音波パルス法 (LIPUS) を組み合わせることで細胞反応の制御を目指す本論文の意義について記述している。

第2章「Cellular morphological response to cyclic stretch on gelatin-micropatterned surfaces (ゼラチンをマイクロパターンした表面上での周期的な伸縮に対する細胞の形態応答)」では、コラーゲン線維が一方方向に配向した構造異方性をもつ靱帯の微小環境を模倣することを目的とし、4-アジドアニリンを脱水縮合させたゼラチンを弾性体であるジメチルポリシロキサンに、線幅が異なり高さ約 70nm で間隔が 50µm の異なるマイクロパターンを細胞の接着点として作製している。培養した線維芽細胞は線上に沿って伸展し、幅 10µm のマイクロパターン表面では幅 2µm と比較して優位に細胞の面積と長さが増加することを明らかとしている。さらに、線状パターンと平行に歪 15%、周期 0.2Hz、20 時間にわたり伸縮を繰り返すと、細胞の面積と長さが幅 10µm のマイクロパターン表面では減少し、幅 2µm では増加することを明らかとしている。このように弾性体に周期的な伸縮を加えると、細胞が初期に接着する面積が細胞骨格の張力に影響を与え、細胞形態に変化を引き起こすと考察している。

第3章「Enhanced osteogenic differentiation by synergistic ultrasound radiation and DOPA-BMP2 immobilization (超音波照射と DOPA-BMP2 固定化の相乗効果による骨分化の促進)」では、骨組織の再生を促進する生理活性タンパク質、骨形成因子 (BMP2)、を固定化させた表面と機械的刺激として臨床応用されている、パルス周波数 100Hz、超音波周波数 1MHz、デューティ比 20% の LIPUS を組み合わせ、細胞の骨形成分化能に与える相乗効果を検討している。貝類が岩場に接着するタンパク質を模倣したポリペプチド (DOPA) を BMP2 末端に結合させた DOPA-BMP2 を大腸菌で作製して、細胞培養皿に均一に固定化している。DOPA-BMP2 がホモダイマーとして表面に結合し、超音波照射で脱離しないことを明らかとしている。また、LIPUS は、前駆骨芽細胞の増殖性に照射強度や時間で変化しないことを確認している。骨形成マーカーであるアルカリフォスファターゼは、細胞培養 4 日目と DOPA-BMP2 と LIPUS を組み合わせた実験系で最大値を示すこと、7 日目と 14 日目ではカルシウムの沈着量が最大となることを明らかとしている。これらの要因として、細胞が ECM に接着するインテグリンと細胞骨格であるアクチンとをつないでいる、メカノセンシング機能として知られる接着斑の数が増加し、同時に BMP2 が結合する受容体とのクロストークにより、BMP のシグナル伝達と骨芽細胞のメカノセンシング経路の連携に関する新たな知見と洞察を与えている。

第4章「Conclusion (総括)」においては、各章の結果をまとめ今後の研究課題を提言している。これらを要するに本論文は、生化学的な要因であるタンパク質と生物物理的な要因である機械的刺激とを組み合わせることで、相乗効果による細胞反応の制御が可能であることを見出し、将来の再生医療における生体材料の設計の指針になることから、工学上ならびに工業上貢献するところが大きい。よって本論文は博士 (工学) の学位論文として十分価値あるものと認められる。