

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Construction of engineered extracellular matrix proteins for regulation of cellular functions
著者(和文)	SuttinontChawapun
Author(English)	Chawapun Suttinont
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10814号, 授与年月日:2018年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:小島 英理,桑 昭苑,白木 伸明,堤 浩,三重 正和
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10814号, Conferred date:2018/3/26, 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	Suttinont Chawapun		
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	小島 英理	教授	審査員	三重 正和	准教授
	審査員	糸 昭苑	教授			
		白木 伸明	准教授			
堤 浩		准教授				

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Construction of engineered extracellular matrix proteins for regulation of cellular functions (細胞機能制御を目的とした新規細胞外マトリックスタンパク質の構築)」と題し、英語で書かれ、5章より構成されている。

第1章「General Introduction」では、細胞外マトリックスタンパク質、および成長因子タンパク質について述べ、本研究における新規細胞外マトリックスタンパク質を構築する際の戦略について概説し、本研究の目的と意義を述べている。

第2章「Development of bFGF-tethered ECM for Tissue Engineering using Electrostatic Interaction」では、多くの細胞において細胞増殖シグナルとして機能する塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF) を固定化した細胞外マトリックスタンパク質を構築し、このマトリックス上でマウス由来線維芽細胞を培養し、その増殖に及ぼす効果の検討を行っている。bFGF を固定化した細胞外マトリックスタンパク質 (ERE-D20) は遺伝子工学的手法により、その骨格となるエラスチン由来のペプチドの繰り返し配列 (E) の間に細胞接着ペプチドである RGD 配列 (R) を挿入したマトリックスタンパク質 (ERE) にポリアスパラギン酸 (D20) を融合することにより構築している。大腸菌発現系を利用して得られた ERE-D20 を疎水性プレート上にコーティングした後、bFGF を加えると、bFGF と D20 の間の静電的相互作用により bFGF が ERE-D20 に固定化できることを示している。さらに、bFGF を固定化した ERE-D20 の上で線維芽細胞を培養することにより、血清を加えることなく、細胞増殖が促進されることを明らかにしている。

第3章「Construction of Biomimetic ECM for Neural Differentiation from Mouse Induced Pluripotent Stem Cells」では、マウス iPS 細胞からの神経分化促進を目指し、マトリックスタンパク質の骨格となるエラスチン由来のペプチドの繰り返し配列 (E) に E/N-cadherin に結合するカドヘリン結合ペプチド (CBP) を融合した細胞外マトリックスタンパク質 (E-CBP) を構築し、その機能評価を行っている。E-CBP は、遺伝子工学的手法を用いて構築し、大腸菌発現系を利用して作製を行っている。胚様体を形成させたマウス iPS 細胞を E-CBP をコートした細胞培養プレートに播種し、その接着率を評価したところ、既に iPS 細胞からの神経分化を促進することが知られている、神経細胞等に発現する細胞間接着分子の1つである N-cadherin と抗体の定常領域を構成する Fc 領域を融合した細胞外マトリックスタンパク質 (N-cadherin-Fc) と同等であることを示している。また接着した胚様体を、抗神経分化マーカー抗体を用いて免疫染色することにより神経分化が亢進していることを明らかにしている。

第4章「Construction of Biomimetic ECM for Astrocyte Differentiation from Mouse Induced Pluripotent Stem Cells」では、マウス iPS 細胞からのアストロサイトへの分化促進を目指し、エラスチン由来ペプチドの繰り返し配列 (E) に、ラミニン由来細胞接着ペプチドを融合したマトリックスタンパク質 EI, EY, EIEY (I: IKVAV, Y: YIGSR) を構築し、これらのマトリックスタンパク質をコートした細胞培養プレート上で胚様体を形成させた iPS 細胞を培養し、そのアストロサイトへの分化について検討を行っている。構築したマトリックスタンパク質上で胚様体を形成させた iPS 細胞を、アストロサイト分化誘導条件下で培養を続けたところ、EI 上で培養を行った場合、アストロサイトの分化マーカーである GFAP および s100 β の mRNA 発現が顕著に上昇することを示し、アストロサイトの分化誘導においては、EI が適していることを明らかにしている。

第5章「Conclusion」では、各章で得られた結果を総括すると共に、今後の展望について述べている。

これを要するに、本論文は、成長因子を結合するペプチド配列や細胞接着を担うタンパク質の機能性ドメインあるいはペプチド配列を用いて、新規な細胞外マトリックスを構築し、そのマトリックス上で細胞を培養した際の効果を明らかにし、今後の組織工学の発展に資する多くの知見を得たものであり、工学上および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な価値があるものと認められる。