

氏 名	チン 陳	コク 国	ヘイ 平
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)		
学位記番号	工 博 第 1591 号		
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日		
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当		
研究科・専攻	工 学 研 究 科 材 料 化 学 専 攻		
学位論文題目	Design and Synthesis of Hybrid Biomaterials for Cell-Culture Engineering (細胞培養工学のための複合生体材料の設計と合成)		
論文調査委員	(主 査) 教 授 升 田 利 史 郎	教 授 砂 本 順 三	教 授 田 中 渥 夫

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、人工臓器工学や細胞培養工学のための新しい生体複合材料の設計と合成を行った結果をまとめたもので、序論と3編8章および結論から成っている。

序論においては、細胞機能制御材料の研究を概説するとともに、生体情報分子の固定化により新しい生体機能性材料が合成できることを述べている。

第一編においては、細胞成長因子タンパク質を固定化した材料が細胞機能を様々に制御できることを明らかにした。

第1章では、インシュリンと種々の合成高分子との複合体を合成し、細胞成長促進活性を検討している。水溶性の合成高分子と複合化したインシュリンは、細胞内に吸収され、その成長促進活性は、未修飾のインシュリンより低い。不溶性の合成高分子を複合化したインシュリンは細胞内に吸収されず、低濃度で高い細胞成長促進活性を有することが示された。

第2章では、表面に官能基のない汎用高分子膜にインシュリンを固定化する方法として、光固定化法が示された。インシュリンにパラアジド安息香酸を結合し、これをポリスチレン膜に塗布し、光を照射することにより固定化した。このように固定化されたインシュリンは、繊維芽細胞の成長を著しく促進することを明らかにした。

第3章では、上皮細胞成長因子タンパク質(EGF)へパラアジドベンゾイル基が導入され、光照射によりEGFが固定化された。固定化EGFは付着依存性の細胞の成長は促進するものの、非付着依存性細胞の成長は促進しないことを示した。

第4章では、固定化EGF上の褐色細胞腫由来PC12細胞の培養が検討された。PC12細胞は、通常、溶解状態のEGF存在下では成長が促進され、溶解状態の神経成長因子存在下では神経突起を形成する分化が誘導されることが知られている。しかし、固定化EGFは溶解状態のEGFとは異なり、PC12細胞を分化誘導することが示された。これにより、成長因子は、固定化状態では溶解状態と異なる情報を細胞に

伝達することを明らかにした。

第二編においては、熱応答性高分子を複合化した新しい生体材料を合成し、細胞機能の制御について検討している。

第5章では、室温付近に下限臨界溶解温度を有するポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)(PNIPAAm)を一定のパターンを取らせて基板にグラフト化し、その上で細胞を培養した結果を述べている。細胞培養後、培養系を降温すると、PNIPAAm固定化領域に接着していた細胞だけが剝離し、PNIPAAmのグラフトパターンに対応した細胞パターンが形成されることが示された。

第6章では、インシュリンとPNIPAAmの複合体を固定化した高分子膜が、細胞成長を促進するとともに、温度操作だけで細胞を傷つけることなく容易に回収できることを示した。

第三編においては、生体情報分子を一定のパターンを取らせて固定化することによって、細胞機能の制御を試みた結果が述べられている。

第7章においては、一定のパターンに固定化されたインシュリン存在下に、インシュリンレセプターを過剰発現したチャイニーズハムスター卵母(CHO)細胞を培養すると、インシュリンを固定化した領域でのみ細胞への情報伝達が行われ、細胞の成長が促進されていることを明らかにしている。

第8章では、EGFを一定のパターンに固定化し、その存在下にEGFレセプターを過剰発現したCHO細胞を培養したところ、EGF固定化領域でのみ情報伝達が行われたことが観測されるとともに、固定化EGFにより刺激を受け、活性化されたレセプターが細胞膜上での拡散を阻害されることがわかり、固定化成長因子とそのレセプターとの直接の相互作用の証拠が示された。

最後の結論では、本研究で得られた成果がまとめられ、生体材料の機能設計と、細胞機能の制御による新しい細胞培養工学の実現の可能性が論じられている。

論文審査の結果の要旨

本論文は、高分子膜に生体情報タンパク質を固定化することにより、細胞培養工学における新しい複合生体材料の設計と合成の指針を得ることを目的として行われた研究の成果をまとめたものであり、得られた主な成果は次の通りである。

1. 細胞成長因子タンパク質を高分子膜に固定化することにより、細胞への吸収を阻害し、細胞成長促進活性を強めることができることを明らかにした。また、固定化のための新しい光化学的方法を開発し、汎用高分子膜に細胞成長因子タンパク質を容易に固定化することが可能となった。
2. 細胞成長因子タンパク質は溶解状態と固定化状態で、その生理作用が大きく異なることが、褐色細胞腫由来PC12細胞の成長・分化のスイッチングによって明らかにされた。
3. 細胞成長因子タンパク質と熱応答性高分子を高分子膜に複合固定化することにより、細胞成長を促進し、温度操作により細胞を容易に剝離・回収できる新しい機能性材料が得られることを示した。
4. 細胞成長因子タンパク質を一定のパターンを取らせて固定化することにより、固定化領域と非固定化領域に接着した細胞への刺激伝達を容易に判別できることを示した。これにより、細胞成長因子タンパク質は、固定化状態でも細胞へ情報を伝達することが示された。

以上、要するに本論文は、細胞成長因子タンパク質を合成高分子に固定化あるいは一定のパターンを取らせて固定化した複合生体材料を用いることにより、細胞の成長や分化などの機能を制御できることを示したものである。これは、新しい細胞機能制御材料による人工臓器や細胞培養基材の設計基準を示したものであり、学術上、実際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士（工学）の論文として価値あるものと認める。

また、平成9年1月27日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。