

京都大学	博士（工 学）	氏名	金 亮希
論文題目	Hydrogel Preparation for Dual Release of Cell Recruitment Agents and Growth Factors to Aim at Tissue Regeneration (組織再生を目指した細胞動員因子および細胞増殖因子の同時徐放化ハイドロゲルの作製)		
(論文内容の要旨) 本論文は、組織再生過程における生理学的イベントである炎症反応に着目し、高分子材料を用いた炎症反応制御により効率的な組織再生を目指した研究である。具体的には、マクロファージ（Mφ）の動員とその生物機能の制御のための生理活性物質の同時徐放化高分子ハイドロゲルと細胞足場の創製を行い、Mφの動員と生物機能制御が組織再生に与える影響について検討している。これらの一連の研究成果を、2部7章にまとめている。 第1章は緒言であり、高分子材料を用いた炎症反応制御を介した効率的な組織再生に必要な生理活性物質の同時徐放化技術および多孔質細胞足場の創製に関する研究の必要性を概説し、本論文の研究目的ならびに研究結果の概説が述べられている。 第2章では、SEW2871と血小板多血漿（PRP）の同時徐放化が骨再生に与える影響を検討した。乳酸オリゴマーを修飾した疎水化ゼラチン誘導体からなるミセルに難水溶性のSEW2871を内包、水可溶化した。作製したSEW2871内包ゼラチンミセルをPRPとともにゼラチンハイドロゲル（GH）へ組み込み、SEW2871とPRPの同時徐放化を達成した。このSEW2871とPRPの同時徐放化GHをラット骨欠損部位へ埋入し、欠損部位へのMφ動員数と骨再生効果を調べた。その結果、SEW2871とPRPの同時徐放化GH群は、因子を含まないGH群およびSEW2871あるいはPRP単独徐放化GH群と比較して、有意に高いMφ動員数と骨再生効果を示した。 第3章では、骨形成因子（BMP-2）で誘導する骨再生効果に与えるMφ動員の影響を調べた。一定量のBMP-2と異なる量のSEW2871内包ゼラチンミセルを組み込んだ異なるGHを作製し、それをラットの骨欠損モデルへ埋入した。BMP-2単独徐放化に比べてSEW2871とBMP-2の同時徐放化のほうが、より多くのMφを欠損部位へ動員できた。SEW2871とBMP-2の同時徐放化による骨再生促進において、最適なSEW2871内包量が存在することがわかった。 第4章は、MSCおよびMφの体内動員によるマウス皮膚欠損の創傷治癒効果について調べた。細胞の体内動員のため、SDF-1とSEW2871内包ゼラチンミセルをGHへ組み込み、同時徐放化させた。SEW2871とSDF-1の同時徐放化GHをマウス皮膚欠損部位へ埋入したところ、SDF-1単独徐放化GH群あるいはGH群と比較して、欠損部位へ有意に多くのMSCおよびMφを動員した。SEW2871とSDF-1の同時徐放化によるMSCおよびMφの動員ならびに皮膚欠損の創傷治癒効果において、最適なSEW2871内包量が存在することがわかった。 第5章では、SEW2871とSDF-1の同時徐放化GHを用いた糖尿病マウスの皮膚欠損の創傷治癒効果に対する、SEW2871とSDF-1の放出挙動の影響を評価した。種々のSEW2871とSDF-1の放出プロファイルをもつGHを作製した。SEW2871とSDF-1の放出パターンが異なるGHは、同一の放出パターンをもつGHと比較して、より多くのMφを動員した。SDF-1を急激放出し			

京都大学	博士（工 学）	氏名	金 亮希
SEW2871を徐放するハイドロゲルは、逆の放出パターンをもつGHよりも多くのM2Mφを動員、抗炎症性サイトカインを産生し、結果として創傷治癒を促進した。 第6章では、Mφの浸潤挙動と浸潤したMφの生物機能に与える多孔質細胞足場の孔サイズの影響を調べた。孔サイズ（80、110、250、および350 μmの）の異なる4種類の多孔質PVA細胞足場を用いた。これらの多孔質PVA細胞足場とSEW2871内包ゼラチンミセルを組み込んだGHと組み合わせて皮膚欠損へ埋入した。SEW2871徐放化GHを組み合わせることによって、多孔質PVA細胞足場内へのMφの浸潤数が増加した。Mφの浸潤数は、足場の孔サイズに依存し、孔サイズ250 μmの多孔質PVA細胞足場が、最も高いMφ浸潤数を示した。 第7章では、MφおよびMSCの浸潤挙動に与える多孔質ゼラチン足場の孔サイズおよび孔表面形状の影響を調べた。異なる孔表面形状をもつ多孔質ゼラチン足場へMφあるいはMSCを播種した。孔サイズ250 μmのゼラチン足場は、MφおよびMSCの浸潤に最適であった。Mφ、MSCいずれにおいても、繊維状の孔表面をもつ足場が、平滑な孔表面の足場よりも多くの抗炎症性サイトカインを産生した。繊維状の孔表面をもつ多孔質ゼラチン足場でMφとMSCとを共培養したところ、平滑な孔表面をもつ足場での共培養と比較して、多くの抗炎症性サイトカインを産生した。 以上より、高分子ハイドロゲルを用いた因子の同時徐放化技術および細胞足場技術の開発によって、損傷組織へのMφおよび幹細胞の体内動員と動員細胞の生物機能の制御が可能となった。これらの細胞動員と機能の制御が組織再生の程度に影響を与えることがわかった。			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、マクロファージ (M ϕ) の動員とその生物機能の制御のための生理活性物質の同時徐放化高分子ハイドロゲルおよび細胞足場の創製と、M ϕ の動員と生物機能制御が組織再生に与える影響についてまとめたものであり、得られた成果は次のとおりである。

まず、マクロファージ (M ϕ) の動員因子として難水溶性低分子薬剤 (SEW2871) を用い、これと生理活性物質との同時徐放化が組織再生に与える影響を調べた。乳酸オリゴマーを修飾した疎水化ゼラチン誘導体からなるミセルに SEW2871 を内包、水可溶化した。この水可溶化 SEW2871 と水溶性の生理活性物質とをゼラチンハイドロゲル (GH) へ組み込み、SEW2871 と生理活性物質とを同時徐放化した。骨再生効果を示す生理活性物質として血小板多血漿あるいは骨形成因子を用い、SEW2871 との同時徐放化 GH をラット骨欠損部位へ埋入した。その結果、単独徐放化と比較して有意に高い欠損部位への M ϕ 動員数と骨再生効果を示すことを明らかにした。また、骨再生効果に対して最適な SEW2871 内包量が存在することも明らかにした。間葉系幹細胞 (MSC) を動員する生理活性物質として間質細胞由来因子 (SDF-1) を用い、SDF-1 と SEW2871 を同時徐放化した。その結果、皮膚欠損の創傷治癒効果において、最適な SEW2871 内包量が存在し、SEW2871 と SDF-1 の放出挙動の制御が重要であることを明らかにした。

次に、M ϕ の動員とその表現型制御に与える細胞足場の内部構造と表面形状の影響について調べた。孔サイズあるいは孔表面性状の異なるポリビニルアルコールあるいはゼラチンからなる多孔質細胞足場を作製し、SEW2871 徐放化 GH と組み合わせることによって M ϕ の足場への浸潤挙動と浸潤した M ϕ の生物機能を評価した。多孔質足場の孔サイズおよび孔表面形状が M ϕ の浸潤挙動と浸潤後の生物機能に影響を与えることを明らかにした。

以上、本論文は、高分子材料を利用した効率的な組織再生を目指した M ϕ の動員と生物機能制御に関して重要な基礎的知見を得たものであり、学術上、實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) の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 28 年 2 月 19 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行って、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。なお、本論文は、京都大学学位規程第 14 条第 2 項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。