



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Multiscale analysis of changes in matrix structure by culturing osteoblasts [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	花崎, 洋平
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11113号
Issue Date	2013-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53811
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yohei_Hanazaki_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学） 氏 名 花崎洋平

審査担当者	主 査	教 授	佐々木直樹
	副 査	教 授	龔 劍萍
	副 査	准教授	福井彰雅
	副 査	助 教	古澤和也

学 位 論 文 題 名

Multiscale analysis of changes in matrix structure by culturing osteoblasts
(骨芽細胞培養によるマトリックス構造変化のマルチスケール解析)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

組織工学上最も重要な因子の一つは、培養細胞とマトリックスの相互作用である。例えばマトリックスの弾性率の違いが、ES 細胞の分化に強く影響を与えていることは広く知られている。細胞－マトリックス相互作用という視点から、生体組織の複雑な階層構造を模倣したマトリックスを用いることは、非常に興味深い。そうしたマトリックスを用いれば、組織リモデリング機序を理解し、周辺組織に適合する再生組織を作ることにも可能となる。階層構造模倣マトリックスには、異方的な構造のほか、固さの勾配といった傾斜特性も求められる。しかしながら、ナノからマクロなスケールまで厳密に制御されたそうした階層構造模倣マトリックスは、現在に至るまで開発されていない。近年、古澤等は細胞培養用アテロコラーゲンを用いて、特異な多孔構造を有するゲル・マトリックス（ACGS）を創製した。ACGS は分子レベルからマクロなスケールまで制御された構造を有し、ネットワーク状の濃厚相と円柱状の希薄相から成る。結果、異方的な構造と傾斜特性を示すため、細胞－マトリックスの相互作用を調査するために適していると考えられる。

本論文では、ACGS を用いて、細胞－マトリックス相互作用による組織リモデリングの機序を調べることを目的とする。著者は細胞－マトリックス間の相互作用を解析するためのモデルシステムとして、ACGS 上で骨を作る細胞である骨芽細胞の培養を行った。分子レベルからマクロなスケールまでの解析には小角 X 線散乱（SAXS）および共焦点レーザー顕微鏡（CLSM）による構造解析を行った。ACGS に対するコントロールとしては通常培養に用いられる等方性コラーゲングル・マトリックス(ICGS)を用いた。また、骨芽細胞による適切なマトリックス・リモデリングを促すために、この系に力学刺激（MS）を印加した。

著者は、培養日数につれ骨芽細胞が ACGS の希薄相に移動し壁面に沿ってトロイド状の構造を形成することを CLSM 観察により見出し定量化した。ICGS では、通常観測されるようなマトリックス全体に均一な細胞の移動がみられたのみである。このような移動挙動に対する MS の効果は観測できなかった。更に、ACGS では希薄相内の骨芽細胞が、コラーゲン線維の再配列を行い、希薄相および濃厚相のマトリックス構造を変化させている様子が観測された。SAXS 法では、断面 Guinier 解析によりコラーゲン線維の直径が、培養により増加していることが見出された。これは CLSM 観察で見いだされた、骨芽細胞によるマトリックス構造変化に伴いコラーゲン線維が太くなることを意味し、細胞によるマトリックス・リモデリング素過程の分子機序を示唆するものである。コラーゲン線維の直径増加は ICGS では観測されなかった。

以上のように、著者は ACGS 骨格中での細胞培養によって、マクロな形態から分子の再配置までのレベルにわたって細胞・ECM 間相互作用により骨格構造がどのようにリモデリングされるかを調査し、ACGS 構造による特異な細胞分布を見出した。特に細胞の

形態や振る舞いを ACGS 希薄相の直径によって制御できる可能性が示された。また、ACGS の構造はコラーゲンのパッキングに影響を与えることも示唆された。ACGS の構造は pH などによって容易に制御できるため、ACGS は細胞-ECM 間の相互作用を幅広く制御できることが期待される。それ故に、ACGS は種々の組織工学構築物を開発可能なポテンシャルを有すると考えられる。

これを要するに、著者は ACGS を用い、分子レベルからマクロなスケールに亘って、細胞-マトリックス相互作用を観察し、細胞によるマトリックス・リモデリングの素過程を明らかにした。更に、ACGS の構造制御によるリモデリングの制御の可能性を示し、新たな組織工学への道を提示した。

よって、著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。