HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	原子間力顕微鏡を用いた多細胞系の力学物性に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	藤井, 裕紀
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(情報科学)
Dissertation Number	甲第13730号
Issue Date	2019-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/75949
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuki_Fujii_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　博士 (情報科学)　　氏名　藤井　裕紀

審査担当者　主　査　教　授　岡嶋 孝治
副　査　教　授　平田 拓
副　査　教　授　舘野 高

学位論文題名

原子間力顕微鏡を用いた多細胞系の力学物性に関する研究
（Study on cell mechanical properties in multicellular systems measured by atomic force microscopy）

本論文は、細胞スケールの力学物性計測手法の発展に伴い、単一細胞や多細胞系の力学的な挙動が細胞の牽引力・張力や弾性率などの物理量の計測によって解明されつつある昨今の状況において、原子間力顕微鏡 (AFM) を用いた弾性率計測による多細胞系の単層上皮細胞の細胞間力学的相互作用の解明と、表面傾斜を有する生体組織の定量的な弾性率計測手法の確立について論じている。

細胞は、細胞間の物理・化学的な情報伝達を通じて、集団化し組織を形成する。この多細胞系の形成メカニズムの理解は、細胞生物学や細胞物理学の基礎科学だけでなく、細胞工学・細胞医療等の応用に極めて重要である。近年、多細胞系の力学的相互作用の解明に向けて、単層上皮細胞に内在する張力分布の存在が明らかになってきた。一方で、単層上皮細胞のもう 1 つの力学特性である細胞弾性率分布は未知であり、細胞の弾性率がどのような細胞間相互作用によって制御されているか不明である。そこで、著者は、多細胞系の弾性率計測に適した AFM を開発し、単層上皮細胞の細胞弾性率分布を調べた。その結果、細胞骨格構造の阻害実験から、細胞弾性率に起因するアクチンフィラメント (F-アクチン) の構造が E-カドヘリン接着タンパク質を介して制御されることを明らかにした。さらに、著者は、単層上皮細胞のような平坦な形状ではなく、表面傾斜が大きい多細胞系の細胞弾性率を高精度に計測できる手法を開発した。これらの知見および技術開発は、多細胞系の力学物性の解明のみならず、多細胞系を構成する細胞がどのような力学情報伝達を行っているか、そのメカニズムの解明に大きく貢献する。

本論文は 7 章から構成されており、第 1 章では、本論文の導入として、研究背景とその目的について述べている。

第 2 章では、本研究の実験上の基礎となる、AFM 測定の原理、AFM データの解析法について述べている。

第 3 章では、単層上皮細胞の広範囲弾性率計測について詳述している。本計測の結果、単層上皮細胞内に硬い細胞が集まる領域と柔らかい細胞が集まる領域が存在すること、そして、弾性率の空間自己相関関数の相関長が細胞間距離を超えることを明らかにした。

第 4 章では、第 3 章の実験系を用いて F-アクチン重合と細胞間接着の阻害実験について論じている。これらの阻害実験の結果、弾性率の空間相関長は有意に減少すること、さらに、細胞間接着タンパク質の 1 つである E-カドヘリンのノックダウン細胞においても弾性率の空間相関長は有意に減少することが分かった。これらの結果から、E-カドヘリン接着を介した力学的相互作用が隣接する細胞間での F-アクチン構造を調節していることが示唆された。

第 5 章では、AFM を用いた表面傾斜のある生体組織の弾性率空間分布計測手法の確立について論じている。従来の平坦サンプルを仮定した解析モデルにより、傾斜勾配をつけたハイドロゲルと未受精卵の AFM 計測から弾性率を算出し、傾斜角度に依存して弾性率が低下することを示した。そこで、傾斜角度を導入した解析モデルを考案し、弾性率を傾斜補正することで、表面傾斜のある柔らかいサンプルの弾性率が、傾斜に依存しない値に補正できることを明らかにした。

第 6 章では、傾斜補正モデルによる生体組織の AFM 計測について論じている。単一細胞、上皮単層上皮細胞、および発生胚の弾性率分布の傾斜補正効果を実験的に明らかにした。そして、傾斜補正モデルを用いた AFM 計測を用いて、生体組織の機能 (細胞分裂) を維持した状態で弾性率の時空間分布を計測可能であることを示した。

第 7 章では、第 3 章から第 6 章まで得られた研究成果を統括し、今後の展開について論じている。

これを要するに、著者は、多細胞系に適した AFM を開発し、単層上皮細胞に内在する細胞弾性率分布とその細胞間力学的情報伝達を明らかにしたとともに、表面傾斜が大きく定量評価が困難であった多細胞系の弾性率を高精度に計測できることを実験的に示したものであり、情報科学に対する貢献は大なるものがある。よって博士 (情報科学) の学位を授与するに値すると認める。