

Myoblast Alignment and Fusion on Glyco-Biointerfaces with Micropatterned Geometries

プーサラ, ポーンティダ

<https://doi.org/10.15017/1785445>

出版情報：九州大学, 2016, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済



氏名	ポーンティダ プーサラ		
論文名	Myoblast Alignment and Fusion on Glyco-Biointerfaces with Micropatterned Geometries (マイクロパターン化糖鎖バイオ界面における筋芽細胞の配列と融合)		
論文調査委員	主査	九州大学	教授 北岡 卓也
	副査	九州大学	教授 堤 祐司
	副査	九州大学	准教授 一瀬 博文

論文審査の結果の要旨

本論文は、サスティナブル資源からの先端マテリアル創出に向け、天然糖鎖のキトオリゴ糖の生理機能に着目し、糖鎖の非還元末端基の界面集積化とマイクロパターン化を組み合わせることで、マウス筋芽細胞の配列による形態制御と、分化誘導血清を用いない細胞融合を試みたものである。

まず、樹木セルロース結晶薄膜の合成技術の応用により、hexa-*N*-acetylchitohexaose (GlcNAc6) の還元末端基特異的 S 誘導体化と金基板への自己組織化による造膜に成功している。この自己組織化糖鎖膜は、0.68 chain/nm² の高密度で非還元末端基がクラスター化した薄膜であった。GlcNAc を基質認識するマウス筋芽細胞 C2C12 を播種・培養し、非常に良好な細胞接着性の発現を達成している。さらに、金基板を短冊状にマイクロパターン化することで、糖鎖レールに沿った細胞配列を可能にし、細胞接着性・増殖性の向上と筋管細胞様の組織形成を見出した。この現象は、ポリスチレン製の培養基材や糖鎖未固定の金基板では観察されず、C2C12 細胞表面の GlcNAc レセプターと糖鎖薄膜との相互作用が細胞内シグナル伝達系に直接作用して、細胞培養挙動が変化する可能性を示した。

次に、糖鎖薄膜のマイクロパターン化が細胞培養特性に与える影響について、筋形成時の遺伝子発現挙動を詳細に解析している。Myosin heavy chain (MyHC) アイソフォームの遺伝子発現に着目し、マイクロパターン化糖鎖薄膜を用いることで、培養 3~5 日後に *MyHC-2a* の発現量依存的な細胞融合の開始を見出した。培養 7 日後には筋芽細胞同士の融合が起こり、筋管細胞への分化に成功している。この現象は、分化誘導血清を含まない培養条件においても観察されたことから、GlcNAc6 集積薄膜が培養細胞の細胞融合に直接働きかける、極めてユニークなバイオ界面効果を明らかにした。

さらに、筋形成関連遺伝子と細胞接着性タンパク質のアクチンフィラメントの発現挙動を検証している。GlcNAc6 固定化パターンでは、筋組織特異的遺伝子 *MyoD* の発現が培養初期に上昇し、増殖後は低下した。それと同時に *Myogenin* の発現が上昇し、アクチンフィラメントの明瞭な配列が起こり、グルコースの取り込みに関与する *GLUT4* の発現も上昇したことから、筋収縮が活発になっていることを見出した。この結果から、分化誘導血清を含まない培養条件でも、GlcNAc6 集積薄膜が筋芽細胞の筋組織への分化誘導と筋管細胞の成熟に関与することを示した。

以上要するに、本論文は、生理活性オリゴ糖鎖の非還元末端基の界面集積化とマイクロパターン化を組み合わせることで、動物筋芽細胞の配列誘導と筋機能の部分的な発現に成功したものである。また、血清を用いない分化誘導は、再生医療分野の課題である他生物種由来物質に起因する免疫学的拒絶反応を解決し得ることから、糖鎖系ナノマテリアルの新機能として有望であり、生物材料工学および生物資源化学の発展に寄与する価値ある業績と認める。よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。