

早稲田大学大学院 先進理工学研究科

# 博士論文審査報告書

## 論 文 題 目

Establishment of Drug Screening Platform Using  
Nanopattern Mimicking Diseased Renal  
Mesangial Matrix

申 請 者

Chia jung	CHANG
チャン	チャジュン

ナノ理工学専攻 ナノバイオ材料研究

2020 年 2 月

病態モデルは病気のメカニズム解析、新しい治療方法の開発や医薬品開発など疾患の研究に重要である。病態モデルは動物実験モデル(*in vivo*)と細胞を用いた細胞培養モデル(*in vitro*)に分けられる。動物実験モデルは病態解析や前臨床試験などに用いられる。比較的ヒトの臨床症状に近いモデルを作製できるメリットがあるが、種差や動物愛護やコスト面に問題がある。これを補えるのが細胞培養での疾患モデルである。ヒトの細胞を用いることができ、動物愛護やコスト面の問題を解消できる。しかし、細胞培養での疾患モデルはしばしばヒトの臨床症状や動物実験とは異なった結果を示す場合があり、問題となっている。問題の一因は細胞培養環境が体内と異なっているからであると考えられる。一般的には、細胞培養は平坦なプラスチックシャーレーに単一の細胞を培養する方法がとられている。生体内では複数の細胞がナノ・マイクロレベルで制御された構造内に存在している。このことを踏まえて、生体内を模倣した新しい培養方法が提案されている。例えば、3次元培養や共培養系などである。しかし、どの培養系も一長一短であり、新しい発想による培養方法の開発が期待されている。

申請者はこのような背景のもと、「生体内ナノ構造をナノテクノロジーで模倣して細胞培養をすれば動物モデルと結果が一致する細胞モデルを作製できる」という仮説を立てた。それを立証するために、動物モデルを検証し、患者の病態を反映した結果が得られるかを検討している。さらに、生体内ナノ構造をナノテクノロジーで模倣した新規細胞培養を開発し、動物モデルと結果が一致するかを検討した。さらに、このモデルを薬物スクリーニングに応用できるかを検討している。本論文は全五章で構成されている。以下にその概要を述べる。

第一章では疾患モデルに関して総括している。さらに動物実験モデルと細胞培養モデルに関してその利点と欠点に関して整理している。さらに、生体内を模倣した既存の培養方法について紹介している。そして「生体内ナノ構造をナノテクノロジーで模倣して細胞培養をすれば動物モデルと結果が一致する細胞モデルを作製できる」という自身の仮説について論じている。

第二章では、炎症性腸疾患(IBD)のモデルマウスが腎疾患の臨床症状と同じ症状を示すかを検討している。IBD患者は大腸の炎症を示し、痛みや発熱などの症状を示すことが知られている。しかし、腎臓などの大腸以外の臓器にも炎症を与えていることが知られている。IBD患者から糸球体の機能異常が報告されていて、一部の患者は腎線維症を発症することが知られている。申請者はIBDのモデルマウスの腎臓を調べ、糸球体の構造異常を見出している。さらに、この構造異常がコラーゲンの発現の違いによることを見出している。正常マウスでは網目構造を作る4型コラー

ゲンが発現していたが、病態では繊維状の構造を作る1型コラーゲンが発現していた。この発現の変化が糸球体の構造・機能異常を引き起こす原因と考えられた。以上の結果から、このIBDモデルマウスはIBD患者の症状を反映していると結論している。

第三章では、生体内ナノ構造をナノテクノロジーで模倣して新しい細胞培養方法を検討している。前章では正常マウスでは網目構造を作る4型コラーゲンが発現していたが、病態では繊維状の1型コラーゲンが発現していることを見出している。そこで、申請者はこの繊維状の1型コラーゲンが作るナノ構造を模倣したナノパターンを電子線ビーム法を用いて病態モデルを作製した。コントロールとして、網目構造を作る4型コラーゲンを模倣したナノパターンと平坦な表面を用いて細胞の形態と増殖・機能を検討した。その結果、病態モデルでは細胞の形態、増殖性、そして機能が動物モデルと一致していることを見出した。このことは、「生体内ナノ構造をナノテクノロジーで模倣して細胞培養をすれば動物モデルと結果が一致する細胞モデルを作製できる」という仮説が正しいことを示していると結論している。

第四章では、前章で確立した病態モデルを用いて線維症を治療するための薬物スクリーニング系の開発を試みている。細胞は生体内では細胞外基質ECMに接して存在する。このECMはナノ構造などの物理的因子と増殖因子などの化学的因子の2つの側面からの作用があることが知られている。申請者らは物理的因子に病態時のナノ構造を模倣したナノパターンを用い、化学的因子には病態を誘導すると考えられている腫瘍壊死因子 $\beta$  (TGF $\beta$ )を用いている。そして、この二つの因子を用いて薬物スクリーニングの系を確立しようと試みている。さらに、測定が簡便なバイオマーカーを用いることにより、モデル薬物の活性を検出することに成功している。この結果から、申請者は疾患モデル培養系を用いることで薬物スクリーニング系の基盤を作製することができたと結論している。

第五章では、本研究の成果を総括および考察すると共に、将来の研究に対する方向性について述べている。申請者は「生体内ナノ構造をナノテクノロジーで模倣して細胞培養をすれば動物モデルと結果が一致する細胞モデルを作製できる」という仮説を立て、これを立証するため生体内ナノ構造をナノテクノロジーで模倣して新しい細胞培養方法を検討している。その結果、病態モデルでは細胞の形態、増殖性、そして機能が動物モデルと一致していることを見出した。さらに、この培養系を用いて薬物スクリーニング系の基盤を作製している。ECMのナノ構造は臓器・組織によって少しずつ異なっている。これを最適化することができれば、各組織臓器特異的な疾患モデルを作製することが可能であると展望している。

以上、申請者が作製した病態モデルは世界的に見ても非常に独創的な研究である。また、その工学的応用に関しても示している。得られた結果はナノ材料・ナノテクノロジーの医学・薬学・生物学分野への応用に多大な貢献をなすものであり、今後のナノバイオ・ナノメディスン分野の進展に寄与するところが大きい。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。

2020年2月

審査員

（主査）早稲田大学教授（任期付）博士（薬学）東邦大学 谷口 彰良

早稲田大学教授 工学博士 東北大学 庄子 習一

早稲田大学教授 博士（工学）早稲田大学 谷井 孝至

早稲田大学教授（任期付）博士（理学）東京大学 中西 淳