

氏 名 ムハَمَّد ムニルジャマン **Md. Muniruzzaman**
 学位(専攻分野) 博 士 (工 学)
 学位記番号 工 博 第 1906 号
 学位授与の日付 平成 12 年 3 月 23 日
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
 研究科・専攻 工 学 研 究 科 高 分 子 化 学 専 攻
 学位論文題目 STUDIES ON GELATIN INTERACTION OF BASIC FIBROBLAST
 GROWTH FACTOR FOR CONTROLLED RELEASE
 (徐放化を目指した塩基性線維芽細胞増殖因子のゼラチンとの相互作用の研究)

論文調査委員 (主 査)
 教授 岩田博夫 教授 伊藤紳三郎 教授 糴谷信二

論 文 内 容 の 要 旨

生体組織に大きな欠損部が生じた場合、細胞、生体吸収性の生体材料からなる細胞の足場(人工細胞外マトリックス)、および細胞増殖因子を用いて自己の生体組織を再生させ、その欠損を修復しようとする生体組織工学研究が広く行われている。しかしながら、この細胞増殖因子の生体内での安定性は悪く、単に水溶液状態で投与するだけでは、その生物作用は期待できない。そこで、その解決法として、細胞増殖因子の徐放化を行っている。すでに、コラーゲンをアルカリ処理することによって得られる等電点が 5.0 の酸性ゼラチンのハイドロゲルから、生物活性をもつ塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)を徐放できることを確認している。本論文は、この生体吸収性のハイドロゲルからの bFGF の徐放化のメカニズムに対する基礎的な知見を得ることを目的として、水溶液あるいはハイドロゲル状態のゼラチンと bFGF との相互作用について研究したものであり、緒言、本論 6 章、および総括から構成されている。

第 1 章では、bFGF とゼラチンとの間のポリイオンコンプレックス形成を水溶液状態で評価している。酸性ゼラチンと bFGF との混合による溶液濁度の上昇、bFGF のヘパリンへのアフィニティの低下の程度が混合溶液のイオン強度の増加とともに低下することを見出した。また、酸性ゼラチンとの混合により、bFGF の等電点が低下したことから、bFGF と酸性ゼラチンとの間に静電的相互作用が働き、ポリイオンコンプレックスを形成していることを明らかにした。

第 2 章では、bFGF とゼラチンとからなるポリイオンコンプレックスの電荷および分子サイズなどを調べている。酸性ゼラチンとの混合によって、bFGF の正荷電が中和されること、酸性ゼラチンの見かけの分子サイズが増加することを明らかにした。

第 3 章では、ゼラチンとコンプレックスを形成した bFGF の生物作用を *in vitro* 細胞培養法によって評価している。bFGF の BHK 細胞に対する増殖促進活性は酸性ゼラチンとの混合により少し低下したが、トリプシン消化に対する bFGF の抵抗性が上昇することを示した。

第 4 章では、酸性あるいは塩基性ゼラチンからなるハイドロゲル中の bFGF さらに等電点の異なる種々のタンパク質の透過性を調べている。タンパク質の透過性がタンパク質とゼラチンとの静電的相互作用の影響を受けることを明らかにした。

第 5 章では、ゼラチンハイドロゲルへの bFGF の収着と脱着挙動を調べている。酸性ゼラチンハイドロゲルへ bFGF が収着され、その収着量が、ゼラチンのカルボキシル化により増加すること、溶液のイオン強度の上昇とともに低下することを示した。以上の結果より、bFGF の酸性ゼラチンハイドロゲルへの収着力が主に静電的相互作用力であることを明らかにした。

第 6 章では、bFGF の酸性ゼラチンハイドロゲル微粒子への収着と脱着挙動を評価し、さらにマウス皮下に埋め込むことでその血管新生作用を調べている。bFGF の酸性ゼラチン微粒子への収着量が、液中のイオン強度の上昇に伴って低下することを示した。一方、微粒子が分解しない *in vitro* の条件では bFGF が微粒子より放出しないことを示した。微粒子が

分解されるマウス皮下において血管新生が認められ、*in vivo* において生物活性をもつ bFGF を徐放することに成功した。

論文審査の結果の要旨

本論文は、ゼラチンハイドロゲルと塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) との複合体からの bFGF の徐放化に関する基礎的な知見を得ることを目的として、ゼラチンと bFGF との相互作用について研究したものであり、得られた主な成果は次の通りである。

1. bFGF を酸性ゼラチンと水溶液状態で混合すると混合溶液の濁度は上昇するが、その程度は溶液のイオン強度の増加とともに低下することを示した。また、酸性ゼラチンとの混合が bFGF の正荷電を中和し、その等電点および bFGF のヘパリンへの親和性を低下させることを示し、bFGF と酸性ゼラチンとが静電的に相互作用していることを明らかにした。

2. bFGF が酸性ゼラチンと静電的に相互作用してコンプレックスを形成し、それらのコンプレックスが凝集することによってその分子サイズが増加することを明らかにした。

3. 酸性ゼラチンとポリイオンコンプレックスを形成した bFGF が細胞増殖促進作用を保持するとともに、酵素消化に対する抵抗性の上昇することを、*in vitro* 細胞培養法を用いて明らかにした。

4. bFGF は酸性ゼラチンハイドロゲルへ収着し、その収着量がゼラチンのカルボキシル化により増加した。溶液のイオン強度の増加とともに収着量が低下することから、bFGF とハイドロゲルとの間に主として静電的相互作用力の働いていることを明らかにした。

5. 酸性ゼラチン微粒子内へポリイオンコンプレックスの形成で固定化された bFGF は、微粒子が分解されない *in vitro* の条件では放出されないことを示した。bFGF 含浸微粒子をマウス皮下に注射したところ、注射部位における血管新生が認められ、生物活性をもつ bFGF の徐放化に成功した。

以上、本論文は、ゼラチンハイドロゲルからの bFGF の徐放化のメカニズムを解明する上で重要な基礎的な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 12 年 1 月 21 日、論文内容とそれに関連した試問を行った結果、合格と認めた。