

氏 名	むら 村 上 能 庸
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 2286 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 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	Interaction of polyanions with the serum complement system (ポリアニオンと血清補体系との相互作用)

論文調査委員 (主 査) 教 授 岩 田 博 夫 教 授 田 畑 泰 彦 教 授 木 村 俊 作

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、種々のポリアニオンと血清補体系との相互作用機構を解明するとともに、補体系の活性化を制御する医療用デバイスを設計することを目的として研究したものであり、緒言、本論2編6章、および総括から構成されている。

緒言では、生体内に進入した異物を除去する生体防御機構の一翼を担う補体系の働きと特徴を概説し、本研究の目的とその背景、および本論文の概要が述べられている。

第1編では、バイオ人工臓臓用免疫隔離膜作製のための基礎研究であり、ポリアニオンと血清補体系との相互作用について詳細に検討した結果をまとめている。

第1章では、PSSaと補体第2経路との相互作用について検討している。PSSaの低濃度域では第2経路の活性化を誘起し、より高濃度域では第2経路の活性化が抑制されることを見いだしている。この原因を明らかにするために、第2経路の各成分とPSSaとの相互作用について検討している。その結果、PSSaの相互作用は濃度依存的であり、PSSaはまず制御因子のfactor Hと、次いで活性化に関与する因子のfactor Dと強く相互作用してコンプレックスを形成し、各々の活性を抑制することが原因であると推測している。

第2章では、PSSaと補体古典経路との相互作用について検討している。第2経路への相互作用が観察された濃度と比べ、より高濃度域で、PSSaにより古典経路の活性化が抑制されることを見いだしている。PSSaと古典経路の各成分との相互作用について検討し、PSSaは古典経路Clqrs複合体の成分であるClqと強く相互作用してコンプレックスを形成し、その活性を抑制することが原因であると推測している。

第3章では、分子量と硫酸エステル基置換度の異なる3種のデキストラン硫酸(DxS)と血清補体系との相互作用について検討している。いずれのDxSも、補体古典経路・第2経路双方への活性化抑制作用が観察された。しかし、分子量10,000、硫酸エステル化度1.99のDxSのみが、両経路を活性化することなく補体成分C3を不活化することを明らかにした。補体成分C3の分解産物であるC3aはアナフィラトキシンと呼ばれ、組織傷害を惹起することが知られている。この結果より、分子量10,000、硫酸エステル化度1.99のDxSを免疫隔離膜に応用することを提案している。

第2編では、慢性腎不全患者の治療を目的とした補体因子factor D吸着体開発のための基礎研究であり、DxSを固定化した市販の担体と、表面グラフト法にてポリアニオン鎖を導入した担体の、血清補体系との相互作用について詳細に検討した結果をまとめている。

第4章では、DxSを固定化したセルロースゲルと血清補体系との相互作用について検討している。DxSを固定化したセルロースゲルは、factor Dを吸着するものの、その選択吸着性は低く、DxSを固定化したセルロースゲルのセルロースゲル部分が補体第2経路を活性化することが見いだされた。これらの結果から、DxSを固定化したセルロースゲルは、factor D吸着体への応用は不十分であることを示唆している。

第5章では、ポリスチレンビーズ表面に2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸をグラフト重合したもの

(PAMPS グラフトビーズ) を作製し、これと血清補体系との相互作用を検討している。PAMPS ビーズは、補体系を活性化することではなく、Clq, C6, C8, factor D, およびプロバジンを吸着することを見いだした。PAMPS グラフトビーズ添加量 5mg/ml で血清中の factor D はほぼ全て吸着除去できることを明らかにしている。

第 6 章では、ポリスチレンビーズ表面にアクリル酸をグラフト重合したもの (PAAc グラフトビーズ) を作製し、これと血清補体系との相互作用について検討している。PAAc グラフトビーズ添加量 10mg/ml で血清中の factor D をほぼ全て吸着すること、また、補体系を活性化しないことを見いだした。このビーズの factor D 選択吸着性は高く、factor D 以外の補体系への影響は極めて少ないことを明らかにした。また、このビーズの factor D 吸着特性は、市販のポリアクリル酸架橋樹脂と比べて、格段に優れたものであることを明らかにした。これらの結果から、PAAc グラフトビーズの factor D 吸着体としての応用を提案している。

論文審査の結果の要旨

本論文は、種々のポリアニオンと血清補体系との相互作用機構を解明するとともに、補体系の活性化を制御する医療用デバイスを設計することを目的として行った研究をまとめ、2 編 6 章として論じたものである。成果の概要は、以下の通りである。

異種細胞を用いたバイオ人工臓器用の免疫隔離膜の開発を目指して行った研究において、

1) 免疫隔離膜に用いられてきたポリスチレンスルホン酸 (PSSa) と血清補体系との相互作用を検討したところ、PSSa の低濃度域では第 2 経路の活性化を誘起し、より高濃度域では第 2 経路の活性化が抑制され、さらに高濃度で古典経路の活性化の抑制が起きることを明らかにした。これは PSSa が濃度依存的に、第 2 経路の補体制御因子の factor H, 第 2 経路の活性化に関与する因子 factor D, さらに、古典経路 Clqrs 複合体の成分である Clq と強く相互作用してコンプレックスを形成し、各々の活性を抑制することが原因であることを明らかにした。

2) デキストラン硫酸と血清補体系との相互作用を検討したところ、分子量 10,000 で硫酸エステル化度 1.99 のデキストラン硫酸は、補体古典経路・第 2 経路双方を活性化することなく補体成分 C3 を消費することを明らかにした。このデキストラン硫酸が組織傷害を惹起するアナフィラトキシン C3a を発生させることなく C3 を不活化することから、免疫隔離膜作製の有用な材料であることを提案している。

通常、補体 factor D は腎臓で代謝されるので、重傷腎不全患者の場合の血漿中の補体 factor D 濃度は著増することが知られている。それによる不必要な補体系の活性化の患者への影響が危惧されており、患者の病態改善のために factor D 選択的除去デバイスの開発が望まれている。これに関連した研究で

3) ポリスチレンビーズ上に 2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸もしくはアクリル酸を表面グラフト重合することで作製した PAMPS グラフトビーズ または PAAc グラフトビーズは、いずれも補体系を活性化しないことを明らかにした。PAMPS グラフトビーズは Clq, C6, C8, factor D, およびプロバジンを吸着することを明らかにした。PAMPS グラフトビーズ添加量 5mg/ml で血清中の factor D はほぼ全て吸着除去できた。PAAc グラフトビーズは、10mg/ml 添加で血清中の factor D をほぼ全て吸着し、また、factor D 以外の補体系への影響は極めて少ないものであることを明らかにした。さらに、市販のポリアクリル酸架橋樹脂との比較を行い、PAAc グラフトビーズの factor D 吸着体としての応用の有効性を提案している。

以上要するに、本論文は、補体系の活性化を制御する医療用デバイスの設計に関する指針を得たものであり、学術上、実際に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 15 年 2 月 27 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。