

氏名(本籍)	佐々木 正 徳 (岩手県)			
学位の種類	博 士 (学 術)			
学位記番号	博 甲 第 6491 号			
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	<b>Studies on Evaluation of Biocompatibility and Biodegradation of Chemically-modified Hyaluronic Acid Injectable Hydrogels</b> (注射可能な化学修飾ヒアルロン酸ハイドロゲルの生体適合性及び生分解性評価に関する研究)			
主査	筑波大学准教授	理学博士	坂 本 和 一	
副査	筑波大学教授	理学博士	漆 原 秀 子	
副査	筑波大学教授	農学博士	宮 崎 均	
副査	筑波大学教授	博士(医学)	千 葉 智 樹	

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

ヒアルロン酸は、N-アセチル-D-グルコサミンとD-グルクロン酸の2糖繰り返し構造を有する直鎖の高分子多糖であり、細胞外マトリックスの主成分として脊椎動物の結合組織中に多量に存在する。ヒアルロン酸は高い保水能力や粘弾性といった特徴的な物理化学的特性を有し、抗炎症作用や疼痛抑制作用、創傷治癒促進作用などの様々な生物学的作用も有する。さらに、生体組織への親和性が高く免疫原性も示さないことから、医療を含む広範な分野で利用されている。近年、ヒアルロン酸を化学的に修飾することにより、より高い粘弾性や生分解抵抗性などの特性を付与したバイオマテリアルが開発され、医療応用されている。しかしながら、化学修飾を施したヒアルロン酸の安全性評価は未だ十分に行われておらず、また、より安全性の高いヒアルロン酸ハイドロゲルの修飾法の開発も道半ばである。

本研究は、化学修飾したヒアルロン酸誘導体の生体における有害な影響の可能性を検出し、より安全性の高い化合物を開発するため、非臨床開発段階での動物を用いた軟組織及び免疫学的適合性を指標とした安全性評価法の有用性について検討することを目的とした。

まず、臨床での有害事象が報告されている市販のヒアルロン酸誘導体 (Hylan G-F20) について、モルモットに皮内投与した際の投与局所の変化を経時的に評価した。Hylan G-F20 の投与部位では遅発性の異物性炎症反応が認められ、その病理組織学的所見は臨床での有害事象報告と類似していた。また、投与した Hylan G-F20 に IgG の沈着がみられ、血清中には抗 Hylan G-F20 抗体が検出された。一方、未修飾のヒアルロン酸ナトリウム (SH) ではそのような反応は認められず、異物性炎症反応は Hylan G-F20 に対する特異的な免疫反応を介して起こったことが考えられた。

上記の実験結果及び臨床での有害事象報告から Hylan G-F20 の免疫原性が考えられたため、次にモルモット及びマウスを用いた Hylan G-F20 の免疫原性評価を行った。Hylan G-F20 で感作したモルモットへ Hylan を皮内投与すると即時型及び遅延型のアレルギー性紅斑が認められ、組織学的には投与された Hylan gel の周囲に T リンパ球の浸潤が認められた。また、感作モルモットの血清中には Hylan G-F20 特異的な IgG の増加

が認められ、このIgGはSHと交差反応しなかった。これらの事実から、Hylan G-F20の免疫原性は、Hylan G-F20に含まれるヒアルロン酸本体ではなく、化学修飾部位に起因するものであることが明らかになった。さらに、アミノプロピルケイヒ酸（APC）を架橋基として用いた光架橋ヒアルロン酸ハイドロゲル（HADgels）の軟組織適合性及び免疫学的適合性の評価を、モルモットを用いた最初の研究と同様の方法により行った。HADgelsは比較対照として用いたHylan G-F20のような異物性炎症反応や特異抗体産生を惹起せず、良好な生体適合性を有することが明らかになった。

本研究により、動物を用いた軟組織及び免疫学的適合性の評価法が、化学修飾したヒアルロン酸誘導体の安全性評価として有用であることが明らかになった。特に、天然由来ヒアルロン酸を化学的に修飾した場合には生体における免疫原性を示すことから、化学修飾した全てのアルロン酸について、安全性評価が必要不可欠であることが明らかになった。これらの評価方法はまだ一般化されていないが、今後新たに創製される化合物での評価を蓄積することにより、より予測性の高い安全性試験法の基礎を築くことができた。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、注射可能な化学修飾ヒアルロン酸ハイドロゲルの生体適合性と生分解性の科学的評価を行ったもので、(1) 化学修飾ヒアルロン酸がマウスやモルモットで免疫反応や炎症作用をもつこと、(2) 免疫原性が化学修飾部位に起因することなどを発見し、化粧品や医薬品に使われるヒアルロン酸の安全性に一石を投じたものである。さらに、(3) 光架橋ヒアルロン酸ハイドロゲルを用いて、免疫学的適合性と生分解抵抗性に優れたヒアルロン酸の開発に成功した。

本研究成果は、市販の化学修飾ヒアルロン酸の安全性に警鐘をならしたばかりでなく、抗炎症作用、疼痛抑制作用、創傷治癒促進作用などに対する医薬品や安全性の高い化粧品の開発など、将来に渡る広範な応用開発を可能にしたもので、その功績は極めて大きい。独創性および発展性の面からも十分な成果であり、今後、臨床医療への応用など、社会的にも極めて重要な意義をもつ研究であると言える。

平成 25 年 2 月 4 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。