

| | |
|---------|--|
| 氏名（本籍地） | 吉澤 恵子 |
| 学位の種類 | 博士（工学） |
| 学位記番号 | 博 甲 第 7259 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 27 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 | 数理物質科学研究科 |
| 学位論文題目 | Bonding Behavior of Biodegradable Films Composed of Hydrophobically Modified Gelatin on Soft Tissues under Wet Condition 疎水化ゼラチンから成る生体吸収性膜の湿潤組織に対する接着挙動 |
| 主査 | 筑波大学教授 博士（工学） 青柳 隆夫 |
| 副査 | 筑波大学教授 博士（工学） 陳 国平 |
| 副査 | 筑波大学准教授 博士（農学） 辻村 清也 |
| 副査 | 筑波大学准教授 博士（工学） 田口 哲志 |

論 文 の 要 旨

脂肪酸クロライドとアルカリ処理ゼラチンとを反応させることで、直鎖疎水基を導入した疎水化アルカリ処理ゼラチン(hm-ALGln)を合成し、膜状接着剤として応用するための研究を進めた。疎水基の鎖長と湿潤組織の接着性、初期細胞接着性と細胞増殖性、ラット皮下埋入時の組織浸潤性や生分解性、血管新生能について比較検討を行った。

Hexanoyl (Hx: C₆)、Decanoyl (Dec: C₁₀)、Stearyl (Ste: C₁₈)を導入した hm-ALGln(それぞれ HxALGln、DecALGln、SteALGln)をキャスト膜に成型した場合、ブタ大腸表面との接着性は疎水基の最も短い HxALGlnが最も強固に接着する結果が得られ、強い接着性を示す凝集破壊が観察された。水濡れ性は HxALGln 膜が ALGln 膜同様に高く、バルク強度は HxALGln 膜が最も低かった。強い接着強度は、接着対象とした大腸表面は扁平上皮細胞からなるため、細胞表面の脂質二重膜に 37°C 条件下で運動性の高い Hx 基がアンカリングしやすかった結果であると考えられる。また、HxALGln 膜の高い水濡れ性は運動性の高い Hx 基の表面からの動きやすさ、HxALGln 膜の低いバルク強度は Hx 基による立体障害が原因と考えられる。

次に、ALGln、HxALGln、DecALGln、SteALGln を熱架橋により、架橋剤によらない方法で架橋し(それぞれ tALGln、tHxALGln、tDecALGln、tSteALGln)、膜のバルク強度を高めた際の疎水基の効果を評価した。熱架橋により、膜の耐水溶性は向上した。水濡れ性はキャスト膜と同様に tHxALGln が tALGln 同様に高い水濡れ性を示し、ブタ大動脈表面に対しても tHxALGln が高い接着性とそれに関連した凝集破壊を示した。一方で、繊維芽細胞の初期接着を調べると、tHxALGln 表面に最も細胞が接着し、伸展している様子が観察された。これは、HxALGln の Hx 基による細胞膜表面へのアンカリング効果に加え、フィブロネクチンやコラーゲンなど細胞外マトリックスと ALGln 分子との相互作用、また、疎水性アミノ酸を多く

持ち疎水性の高いエラスチンなどとの疎水性相互作用の結果と想定される。

上記の通り、Hx 基の導入により hm-ALGtn 膜の接着強が高くなることを見出したが、Hx 基を導入することにより、ヘパリンと血管新生因子である bFGF との親和性が高くなることが報告されている。接着性と血管新生能を併せ持つ接着材は組織再生能をもつ接着材としての応用を期待できる。そこで bFGF と親和性が高いと考えられる Hx 基を導入している HxALGtn 膜に関して、接着能に加え、血管新生能に着目して評価を進めた。接着力が高かった HxALGtn、またコントロールとしての ALGtn をクエン酸由来架橋剤によりソルトリーチング法にて各気孔率を有する多孔膜に成型した((P)HxALGtn、(P)ALGtn)。大腸表面への接着強度、細胞の接着性、ラット皮下での生分解性、組織浸潤性、血管新生能について評価すると、気孔率の高い HxALGtn 多孔膜が優れた結果を示した。さらに、接着性タンパク質であるフィブロネクチンや血管新生因子である bFGF と VEGF に関して、HxALGtn または ALGtn との親和性を調べた結果、フィブロネクチンと VEGF が HxALGtn に対する高い親和性を示すことが明らかとなった。従って、Hx 基の導入により、VEGF などの血管新生因子が HxALGtn 分子に結合し、VEGF-HxALGtn などが酵素分解を受けることで、血管新生因子が徐々に拡散され血管内皮細胞などと反応した結果、血管新生が促進されたと考えられる。

最後に、(P)HxALGtn の気孔径と湿潤組織接着性、血管新生能に関して評価を行った。(P)HxALGtn は各気孔径において、一様に (P)ALGtn よりも接着強度が高く、特に、ソルトリーチング時に用いた塩の直径が 77 μ m((P77)HxALGtn)の時に最大接着強度・凝集破壊を示した。この(P77)HxALGtn は吸水性が高く、生分解にも優れていた。(P77)HxALGtn は細胞浸潤性も高かったが、それらの細胞は好中球様であり、ペルオキシダーゼ陽性の細胞も多く観察された。一方で、膜作製時に用いた NaCl 径が最も小さい 44 μ m の(P)HxALGtn は未熟血管内皮細胞のマーカーである CD34 をラット皮下埋入後初期に多く発現しており、(P)HxALGtn の孔径が小さいほど毛細血管新生が速いことが示唆された。以上より、(P)HxALGtn の湿潤組織接着性には Hx 基導入の効果に加えて、多孔内部への吸水性が大きく寄与することが明らかとなった。一方で、初期毛細血管新生に関しては、細胞浸潤性が高すぎず炎症性が低い方が優れた結果を得られることが明らかとなった。

以上のように、疎水基を導入したゼラチンを気孔率・気孔径を制御した膜状に成型することで 湿潤組織接着性に優れ、血管新生や細胞浸潤などの組織再生の促進をうる多孔膜状接着剤を創製した。

審 査 の 要 旨

〔批評〕

ゼラチンの側鎖に種々の疎水性官能基を導入することにより疎水化ゼラチンを合成し、得られた疎水化ゼラチンをフィルム化あるいは多孔膜化することにより、生体軟組織に対する接着性と材料組成の関係および生体内に埋入した際の血管誘導能について検討した。比較的短鎖長の疎水基(ヘキサノイル基)を導入して得られた多孔膜は、生体組織に対する高い接着性に加え、血管誘導能を示すことを明らかにした点は高く評価できる。これらの研究成果により、これまで2件の論文が受理され、他1件の論文は投稿中である。

〔最終試験結果〕

平成27年2月13日、数理物質科学研究科学学位論文審査委員会において審査委員の全員出席のもと、著者に論文について説明を求め、関連事項につき質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって、合格と判定された。

〔結論〕

上記の論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、著者は博士(工学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。