

氏名	中川 泰宏
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	博 甲 第 8494 号
学位授与年月日	平成 30年 3月 23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	細胞膜上の分子認識を介して細胞機能进行操作する生体模倣合成高分子の創製

主査	筑波大学教授(連係大学院)	博士(工学)	陳国平
副査	筑波大学教授	工学博士	長崎幸夫
副査	筑波大学准教授(連係大学院)	博士(工学)	田口哲史
副査	筑波大学准教授(連係大学院)	博士(工学)	内藤昌信
副査	筑波大学准教授(連係大学院)	博士(工学)	荏原充宏

論 文 の 要 旨

第1章では序論として、生体における分子認識について概説するとともに、生体分子をコントロールする高分子材料について具体例を挙げながら紹介している。これに加え、生体内で利用される高分子材料(バイオマテリアル)の発展の歴史として、20世紀後半より開発が行われてきた免疫回避型の材料から始まり、免疫機能をコントロールすることで治療効果を得る事が可能な免疫活性型の材料、免疫寛容型の材料についてもコンセプトやメカニズムについて言及している。このような背景のもと、免疫回避型の材料は広く臨床応用されているのに対して、免疫活性型・寛容型の高分子材料は未だ十分に応用されていないことを示しており、高分子材料によって免疫機能进行操作することの意義について述べている。

第2章では免疫寛容(抗炎症)を誘導する高分子材料を設計するにあたり、免疫寛容を引き起こす生理現象としてアポトーシス細胞に着目し、その詳細なメカニズムと免疫細胞によるホスファチジルセリン(PtdSer)の認識が重要であるということを示している。このような背景のもと、PtdSerの抗炎症活性部位であるホスホリルセリン(PS)基を有するメタクリル系モノマー(MPS)の設計を行い、ホスホロアミダイト法にて最も高効率にMPSが合成可能であることを示している。これに加え、作製したMPSをフリーラジカル重合によって重合し、酸化・脱保護反応を行うことでアポトーシス細胞模倣高分子(poly(MPS))が合成可能であるということを示した。

第3章では第2章にて作製したpoly(MPS)の抗炎症活性を評価している。評価用の細胞としてマウス由来マクロファージであるRAW264.7を選択しており、これに対する毒性、用量・共培養時間依存的抗炎症

症活性、用量依存的な細胞への取り込みをそれぞれ評価した。結果として poly(MPS)は 0-50 mM の濃度域では細胞毒性を示さないことを明らかとし、用量・共培養時間依存的な抗炎症活性を確認した。これと同時にを行った細胞への取り込み評価においても用量依存的にマクロファージへと分配していることを明らかとした。これに加え、ホスファチジルコリン模倣モノマーである 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)とのランダム共重合体(poly(MPS-*st*-MPC))を作製した結果、poly(MPS-*st*-MPC)が MPS のホモポリマーに比してより優れた抗炎症能を有するということが明らかとした。

第4章では MPS を用いた場合、ポリエステル・エーテルを始めとする非ビニル系高分子への PS 基の導入が比較的困難であるという背景のもと、高分子反応による PS 基導入手法を開発した。PS 基を付加するための高分子材料として、poly(ϵ -caprolactone)、poloxamer、poly(BMA-*st*-HEMA)、poly(NIPAAm-*st*-HEAAm)を選択している。結果として poly(ϵ -caprolactone)、poloxamer、poly(BMA-*st*-HEMA)、poly(NIPAAm-*st*-HEAAm)に対してそれぞれ、69.6%、14.1%、81.9%、84.6%の導入率で導入可能であるという結果を得ている。また、poly(NIPAAm-*st*-HEAAm)に対して PS を導入した系において細胞毒性・抗炎症活性を評価した結果、細胞毒性が低いことを確認すると同時に 1 mg/mL の濃度で抗炎症活性を発現し得るということを確認している。

第5章では生体において糖鎖-レクチンの相互作用が免疫・炎症をはじめとした様々な生体プロセスにおいて重要な役割をはたすことに着目し、完全合成系の高分子材料で細胞表面の糖鎖を認識する高分子材料の設計を行っている。糖を認識する機能性官能基として Benzoxaborole 基を選択し、Benzoxaborole 基を含有するメタクリルアミド系モノマー (MAAmBO; 5-methacrylamide-1,2-benzoxaborole) を作製し、これを NIPAAm(*N*-isopropyl acrylamide)を主とする共重合体 (poly(NIPAAm-*st*-HEAAm-*st*-MAAmBO)) を作製している (HEAAm; *N*-(2-hydroxyethyl) acrylamide)。作製した高分子材料は生理的な pH において単糖、二・三糖と相互作用可能であることが示されている。複合糖鎖マイクロアレイを用いることにより、糖鎖との相互作用強度についても評価を行っており、トランスフェリンを始めとした数種の糖鎖・糖たんぱくを特異的に認識可能であることも示されている。本章では限定的でありながらも生理的 pH において糖鎖を認識する高分子材料の開発に成功しており、高分子材料による糖鎖認識・糖鎖センシングという分野の開拓を期待させるものである。

本論文では、アポトーシス細胞膜を模倣した高分子材料と、特定の構造を有する糖鎖を特異的に認識する高分子材料を創出している。現在広く利用されている免疫回避材料の材料設計戦略は物理化学的性質の制御にとどまっているが、今回報告した 2 種の高分子材料は共に免疫に係わる生理分子認識を模倣・認識するという戦略の元設計されており、生化学的な要素・物性をコントロールする材料設計である。本論文を通して提唱している、生化学的な性質を制御した高分子材料による細胞機能の評価という概念は生体内で利用される材料(バイオマテリアル)の今後の主要な設計戦略となると考えられる。

審 査 の 要 旨

[批評]

新たな医療機器の開発には高分子材料と生体との親和性の検討が欠かせない。しかし合成高分子のみでは満足のいく医療機器をつくるのは困難であるが、その一方で生体由来分子のコーティングなども認可のハードルを上げてしまう。こうした背景のもと、ペプチドのような生体模倣小分子リガンドを高分子材

料に固定化する方法が近年注目を集めている。しかし、固定先となる材料の性質との組み合わせによって本来のリガンド分子の持っている機能が変化してしまうことが頻繁に起こる。本論文では、その「リガンドと高分子材料との組み合わせの効果」について、情報解析の技術を取り入れた **Biomaterials Informatics (BI)** 的なアプローチを用いた検証をバイオマテリアル設計法にフィードバックするという今までに全くない手法を提案している。今まで試行錯誤による検証が主流だったが、本論文ではリガンドと高分子材料の関係性の傾向をマップにより示し、さらに、作成した関係性のマップを用いることで、未知の材料とリガンドとの相性を予測している。本論文で得た知見は、今後の医療材料開発を大きく刷新させる可能性を秘めており、高く評価できる。

〔最終試験結果〕

平成 30 年 2 月 9 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。