



Title	PHYSICAL IMMOBILIZATION OF BIOACTIVE PROTEINS ON POLYMER SURFACE AND APPLICATION TO BLOOD PURIFICATION SYSTEM
Author(s)	大道, 正明
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58338
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

本学位論文では、高分子表面への物理吸着法による生理活性タンパク質の固定化、特に抗血液凝固活性を有するトロンボモジュリン（TM）の固定化について検討し、血液適合性の改善法としての有用性について検討した。

第1章：物理吸着法による高分子表面への生理活性タンパク質の固定化

生理活性タンパク質の吸着挙動にはタンパク質自身の親・疎水性が大きく関与しており、親水性の高いタンパク質ではLangmuir型の単層吸着、疎水性の高いタンパク質では多層吸着になりやすいことを明らかにした。また抗血液凝固活性を有するTMについて高分子表面に吸着後の安定性を評価したところ、TMは緩衝液中でも剥離せず、かつ吸着後においても活性を保持しておりことが明らかとなった。

第2章：高配向ラメラ膜上での物理吸着法による生理活性タンパク質のナノメートルオーダーの高配行化

ポリスチレン（PS）-ポリメチルメタクリレート（PMMA）共重合体からなる高配向ラメラ膜基板上に生理活性タンパク質溶液を滴下することで、PMMAより疎水性が高いPSドメインに優先的に生理活性タンパク質が吸着し、生理活性タンパク質をナノメートルオーダーの周期で配向させることに成功した。

第3章：血液適合性の改善を目的とした物理吸着法によるダイアライザーのモデル膜へのTMの固定化

物理吸着法によってダイアライザーのモデル膜（ポリスルホン-ポリビニルピロリドンブレンド膜）にTMを固定化することで、モデル膜表面への血小板の吸着を抑制し、かつ血栓の形成を抑制することが明らかとなった。

第4章：ブタ体外循環試験によるTM吸着ダイアライザーの血液適合性評価

血液循環下においてもダイアライザーに吸着したTMはダイアライザーから剥離せず、体外循環中においてダイアライザー内の血栓の形成を抑制し、4時間以上の体外循環が可能であった。また、体外循環前の全血活性化凝固時間（ACT）と体外循環中のACTにほとんど差がなかったことから、ダイアライザーに吸着したTMが体外循環中において血栓の形成を抑制しているにもかかわらず、出血傾向を助長しないことが明らかとなった。

本研究では、物理吸着法による生理活性タンパク質の固定化について詳細に検討し、その知見を基にして、血液適合性の改善法としての物理吸着法によるダイアライザーへのTMの固定化の有用性を示した。この手法は従来の共有結合によるTMの固定化に比べ、架橋剤の残存の危険性がなく、かつ簡便な手法であることから安全性の高い血液適合性ダイアライザーの開発に大きく寄与するものと期待される。

論文審査の結果の要旨

生理活性タンパク質の高分子表面への固定化は、表面の生体適合性を著しく改善でき、様々な医療材料への応用が盛んに行われている。生体適合性の中でも、特に血液適合性が重要視されており、カテーテルや人工血管などにおいて実用化されている。これまで、生理活性タンパク質の固定化法でよく用いられている方法に共有結合法がある。この方法は化学的に、表面と生理活性タンパク質を固定化することで、血液中でも剥離がおこりにくい。しかし、架橋剤の残存といった危険性や固定化する際に生理活性タンパク質が失活しやすいという問題がある。

【58】

氏 名	おお だち まさ あき 大 道 正 明
博士の専攻分野の名称	博 士（工 学）
学 位 記 番 号	第 2 4 5 4 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 23 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用化学専攻
学 位 論 文 名	PHYSICAL IMMOBILIZATION OF BIOACTIVE PROTEINS ON POLYMER SURFACE AND APPLICATION TO BLOOD PURIFICATION SYSTEM (生理活性タンパク質の高分子表面への物理固定と血液浄化システムへの応用)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 明 石 満 (副査) 教 授 三 浦 雅 博 教 授 関 修 平 教 授 茶 谷 直 人 教 授 井 上 佳 久 教 授 馬 場 章 夫 教 授 神 戸 宣 明 教 授 生 越 専 介 教 授 真 嶋 哲 朗 教 授 安 蘇 芳 雄 教 授 芝 田 育 也

本論文は、高分子表面への物理吸着法による生理活性タンパク質の固定化、特に抗血液凝固活性を有するトロンボモジュリン(TM)の固定化について検討し、固定化表面の血液適合性の改善を目的とし、主な成果を要約すると以下の通りである。

(1) 生理活性タンパク質の吸着挙動にはタンパク質自身の親・疎水性が大きく関与しており、親水性の高いタンパク質ではLangmuir型の単層吸着、疎水性の高いタンパク質では多層吸着になりやすいことを明らかにしている。また、抗血液凝固活性を有するトロンボモジュリン(TM)について高分子表面に吸着後の安定性を検討し、TMは緩衝液中でも剥離せず、かつ吸着後においても活性を保持しておりことを見出している。

(2) ポリスチレン(PS)-ポリメチルメタクリレート(PMMA)共重合体からなる高配向ラメラ膜基板上に生理活性タンパク質溶液を滴下するだけで、生理活性タンパク質がナノメートルオーダーの周期で配向することを見出している。

(3) 物理吸着法によってダイアライザーのモデル膜(ポリスルホン-ポリビニルピロリドンブレンド膜)にTMを固定化することで、モデル膜表面への血小板の吸着を抑制し、かつ血栓の形成を抑制することを見出した。

(4) 血液循環下においてもダイアライザーに吸着したTMはダイアライザーから剥離せず、体外循環中においてダイアライザー内の血栓の形成を抑制することを明らかにした。また、ダイアライザーに吸着したTMが体外循環中において血栓の形成を抑制しているにもかかわらず、出血傾向を助長しないことも明らかにした。

以上のように、本論文は表面改質法として生理活性タンパク質の物理吸着法による高分子表面の固定化、特に血液適合性の改善に物理吸着法によるトロンボモジュリンの固定化が有用であることを示している。本研究で得られた知見は、これまで問題であったヘパリンの出血傾向の助長を回避でき、安全な血液浄化システムの創製に大きく貢献することが期待される。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。