

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 内村 英一郎

直接又は間接的に生体と接触する様な用途に用いられる材料はバイオマテリアルと総称され、例えば、血液凝固や免疫系による異物認識を回避する機能を目的とした材料設計がこれまで活発に行われ、人工臓器や医療デバイスを利用した医療技術の進歩につながってきた。一方、近年においては、新しい医療として生体組織工学 (Tissue engineering) という概念が提唱されている。それは、人体を構成する細胞の機能制御を通じて人体組織の形成や変異を制御しようとするものであり、急速に発展しつつある分野である。細胞機能の制御を有効に行おうとする場合には、特定の細胞の増殖や機能分化を導くための新たな概念に基づくバイオマテリアル (生体活性化材料) の開発が不可欠である。とりわけ、生体における基幹機能の一つである免疫機能の制御を司る細胞の増殖を的確に誘導するシグナルを、その細胞に対して入力する機能を持ったマテリアルは組織適合性の制御や腫瘍形成制御との関連で重要である。本論文は、糖結合性タンパク質であるレクチンの機能を模倣した高分子を分子設計し、免疫系細胞、特にリンパ球へ適切なシグナルを入力することにより、その増殖能をコントロールすることを主眼としている。特に、このような合成高分子を用いることによって、免疫系細胞の中で抗腫瘍活性を有することが知られている LAK (lymphokine activated killer cell) 細胞の効率的な増殖を誘導できる事を明らかとしている。本論文は、全 7 章から構成されている。

第一章は、「序論」である。本章においては、細胞機能をコントロールするための合成高分子開発の重要性が述べられている。さらに、免疫細胞の増殖誘導能を有する糖結合性タンパク質であるレクチンの機能を人工的に模倣する高分子 (人工レクチン) を設計しようとする本研究の目的について概説している。

第二章は、「人工レクチンの合成とリンパ球増殖活性化能の評価」である。レクチンは、細胞膜上の糖鎖と多点で結合することによって増殖シグナルをリンパ球に入力することが知られている。そこで、人工レクチンの設計を目指し、糖鎖結合部位を高分子側鎖に多数有するポリマーの合成を行っている。この場合の糖鎖結合部位としては、糖をはじめとする多価水酸基化合物と結合することが知られているボロン酸基を選択している。さらに、この人工レクチンが、その側鎖に導入されたボロン酸基を介してリンパ球表面糖鎖へ結合することにより、その増殖を誘導することが可能である事を明らかとしている。この結果は、ボロン酸基を糖鎖結合部位として有する合成高分子が、人工レクチンとしての機能を有することを明確に示すものであり、本研究を進める上での重要な知見を提供している。

第三章は、「人工レクチンを用いた抗腫瘍免疫の誘導」である。免疫療法において一つの課題となっている抗腫瘍活性を有するリンパ球 (LAK 細胞) の効率的な増殖誘導を人工レクチンを用いることで達成可能である事を示している。特に、人工レクチンによって、天然レクチンと同様に Tリンパ球増殖因子であるインターロイキン 2 に対するレセプター発現の亢進が可能である事が示されている。この結果より、人工レクチンは比較的単純な構造を有しているにもかかわらず、高度な機能を持った免疫細胞の増殖誘導が可能である事が示され、人工レクチンの免疫療法における有用性が確認されている。

第四章は、「ボロン酸基含有ポリマーの人工レクチンとしての糖認識特性の解析」であ

る。天然のレクチンは、糖に対する結合特異性を有している。そこで、人工レクチンの糖鎖結合部位であるボロン酸基の糖結合特性について検討を行っている。細胞膜上の糖鎖を構成している主要な単糖とフェニルボロン酸基との結合定数を ^{11}B -NMRを用いることによって測定している。その結果、シアル酸のみが生理条件であるpH7.4において高い結合定数を示すことを明らかにしている。これは、シアル酸の分子中に存在しているN-アセチル基の窒素がボロン酸基に配位することによってアニオン化していないボロン酸基と生理条件であるpH7.4においても安定な結合を形成するためであるとの考察を行っている。更に、天然のレクチンでシアル酸に対して結合特異性を有するLFA(Limax Flavus Agglutinin)とガラクトース結合特異性の高いPNA(Peanut Agglutinin)を用いて、人工レクチンと天然レクチンとのリンパ球細胞膜上の糖鎖残基に対する競争結合阻害について検討を行っている。その結果、人工レクチンにより、LFAのリンパ球への結合は顕著に阻害されるが、ガラクトース特異性の高いPNAは阻害されない事が明らかとされている。すなわち、人工レクチンであるボロン酸基含有ポリマーは、生理条件下 (pH7.4) において、高い選択性をもって細胞膜上のシアル酸を認識している事が示されている。

第五章は、「人工レクチンの分子設計におけるボロン酸基含率と分子量の効果」である。人工レクチンとして機能するボロン酸基含有ポリマーの分子量ならびにポリマー鎖中のボロン酸基含率のリンパ球増殖誘導能に与える影響について検討を行っている。その結果、一定のボロン酸基含率を有する(10mol%)ポリマーにおいては、分子量を適切な範囲にコントロールすることにより、リンパ球増殖活性の効率的な誘導が実現できることが示されている。このように分子量を制御する事によって、人工レクチンとしての機能が最適化されることは、人工リガンドを有する合成高分子によるシグナル入力最適化により、細胞機能の高度な制御が可能である事を明示している。

第六章は、「ボロン酸基含有ポリマーへのアミノ基導入によるリンパ球増殖活性化能の増強」である。これまでに明らかとなった、ボロン酸基の細胞膜表面糖鎖との結合によるリンパ球増殖活性の誘導をさらに効率的に実現するため、新規の分子設計を行っている。ボロン酸基含有ポリマー中にアミノ基を導入し、このアミノ基のボロン酸基への配位により、ボロン酸基と糖鎖との結合の安定化を意図したものである。その結果、ボロン酸基の糖結合能の上昇にともなったリンパ球増殖活性の増強が実現されたことが述べられており、その理由についての考察が展開されている。

第七章は、「総括」である。

以上のように、本論文は、細胞機能を制御する新たな概念に基づくバイオマテリアルとして人工レクチンの分子設計を行った結果とその機能がまとめられている。具体的には、ボロン酸基を有する合成高分子が、免疫応答で中心的役割を果たしているリンパ球の細胞膜上に存在する糖鎖と結合し、リンパ球の増殖とキラー機能を誘導できることが示されている。特に、高い抗腫瘍活性を有するLAK細胞の効率的な増殖誘導に成功したことは注目に値する。レクチンに啓発された糖結合能を有する合成高分子による細胞の機能制御は、生体活性化材料という新しい概念を提示するという観点からも非常に重要である。これらの成果は、免疫活性化剤の開発に寄与するのみならず、生体組織工学分野における細胞機能制御に新境地を拓くものであると確信される。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。