

が起こる。細胞は材料表面上で構造変化した吸着蛋白質を介して材料に接着することにより、最終的な生体反応を誘導する。すなわち、医用材料と細胞は吸着蛋白質層を介して相互作用するため、同蛋白質は材料の機能発現や生体適合性に大きく関与すると考えられている。

医用材料の蛋白質吸着については、血栓形成や細胞接着等に着眼した研究が行われてきたが、材料に吸着する蛋白質の種類を網羅的に解析し、その吸着パターンから材料の機能や生体適合性を評価する研究は現在までに実施されていない。材料表面への蛋白質吸着挙動から細胞や組織に対する影響を評価する手法は材料プロテオームと呼ぶべき新しい分野のプロテオミクスとなる。プロテオミクスの技術は培養細胞や埋植材料周辺域における組織の性状変化の解析等にも利用できる。網羅的解析により特定のバイオマーカーを決定することができれば、標的プロテオミクスを利用した同マーカーの微量定量が可能となり、材料の機能や生体適合性、細胞又は組織の状態等を判断するための有益な評価手法となり得る。

チタンは他の金属材料と比較して骨親和性に優れていることから、生体硬組織代替材料として広く使用されている。現在までに、チタンの生体適合性を向上させるため、様々な表面修飾とハイドロキシアパタイト (HAp) 形成能との相関性が検討されている。一方、チタンは HAp のほか、オステオポンチン等の骨性蛋白質を吸着する作用を持つことが示唆されているが、その詳細は明らかにされていない。そこで平成 22 年度の本研究では、チタンの生体適合性を蛋白質吸着特性から評価することを目的として、幾つかの

化学処理を施したチタン表面に吸着する血清蛋白質の網羅的プロテオミクス解析を行った。その結果、未処理プレートと比較して、化学処理プレート上には骨結合性に深く関与すると思われる蛋白質群 (骨系蛋白質、成長因子関連蛋白質、ホルモン、細胞外マトリクス等) が有意に結合することが明らかになった。また、これらの蛋白質の吸着挙動は化学処理の違いにより変動することも確認されたことから、チタン材料の骨親和性は蛋白質の吸着パターンから予測可能であることが示唆された。

平成 23 年度の本研究では、材料/細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法を開発する一環として、高分子材料表面への蛋白質吸着挙動と血液適合性の相関性について検討した。

B. 研究方法

(1) 高分子材料

高分子材料としては、ポリビニルピロリドン (PVP) 含有ポリスルホン (PSF/東レ)、ポリエチレンテレフタレート (C-PET/東洋紡)、三酢酸セルロース (CTA/ADVANTEC)、未処理ポリスチレン (PS/住友ベークライト)、ポリテトラフルオロエチレン (PTFE/住友電気) 及び超高分子量ポリエチレン (UHMWPE/SHIMOPA) を用いた。

(2) 表面解析

2-1. 表面ゼータ電位

各材料の表面ゼータ電位は平板セルを装備した ELSZ-2NPA (大塚電子) を用いて電気泳動光拡散法により測定した。モニター粒子としては、同社製ラテックス粒子を泳動液 (10 mM NaCl 水溶液) で 250 倍希釈して使用した。ゼータ電位換算式

としては、Smoluchowski を利用した。

2-2. 静的接触角

1 x 1 cm に裁断した各材料上にミリ Q 水 10 μ L を滴下し、120 秒後に ERMA 接触角測定器 (G-1-1000) を用いて液滴の幅と高さを計測して以下の計算式から接触角 (δ) を求めた。

$$L^2 = (w/2)^2 + (1-h)^2$$

$$\sin \delta = (w/2)/L$$

L: 液滴の半径 (mm)

w: 液滴の幅 (mm)

h: 液滴の高さ (mm)

δ : 接触角

2-3. SEM 解析

表面構造は、5 x 5 mm 程度に裁断した試料片を JEOL Quick Auto Coater JFC-1500 により Au 被覆した後、JEOL JSM-5800LV 走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて倍率 2,000 倍で観察した。

(3) 血漿蛋白質の吸着と回収

10 x 10 cm に裁断した各材料を 15 ϕ cm ガラス製シャーレ中で 50 ml のヘパリン加ヒト血漿 (コージンバイオ) に 37°C で 1 時間緩やかに振とう/浸漬した後、同血漿を除去した。次いで、同材料を氷冷した 1 mM PBS により 5 回洗浄した後、20 ml の尿素緩衝液 (尿素 7M, チオ尿素 2M, Tris 30 mM, CHAPS 4%, pH 8.5) を添加し、室温で 60 分間、緩やかに振とうした。同溶液を Corning 社製 Spin-X UF (Cut Off = 5 kDa) により濃縮し、冷メタノール沈殿法により蛋白質画分を回収し、Chaotropic Membrane Extraction Reagent 3 (Sigma-

Aldrich) に再溶解した後、GE 社製 2DQuant により蛋白質量を測定した。得られた蛋白質は試験に供するまで凍結保存した。対照試料として、尿素変性ヒト血漿蛋白質を同様の方法により調製した。

(4) ペプチド試料の調製

常法に従って還元 (TBP) 及びアルキル化 (ヨードアセトアミド) した蛋白質試料 (50 μ g) を含む Reagent 3 溶液 8 μ l に 50 mM NH_4HCO_3 (87.2 μ l)、プロメガ社製 ProteaseMax Surfactant (1%, 3 μ l) 及び Trypsin Gold (1 μ g/ml, 1.8 μ l) を添加し、37°C で 3 時間インキュベーションした後、10% TFA 5.25 μ l を加え、室温で 5 分間放置して反応を停止させた。得られたペプチドはバリアン社製 OMIX Tip (C18, 100 μ l) を使用して脱塩し、Speed Vac (Savant) に供して乾燥させた後、0.1 μ g/ μ l の濃度になるように 0.1% TFA 含有 2% アセトニトリルを加えて溶解し、LC-MS/MS 分析に供するまで 4°C で保存した。

(5) LC-MS/MS ショットガン解析

質量分析計は、Thermo Scientific 社製 リニアイオントラップ/フーリエ変換ハイブリッド型質量分析計 LTQ/Orbitrap XL を使用し、測定前に Tyrosine-1, 3, 6-Standard (CS Bio Co.) を用いてチューニング及び質量校正を行った。Nano-LC としては、DiNa-A オートサンプラー (KYA Tech) を装備した DiNa システム (KYA Tech) を使用した。トラップカートリッジ及び分析用逆相カラムとしては、それぞれ CERI 社製 L-Trap (0.3 x 5 mm, L-C18, 5 mm, 12 nm)、KYA 社製 HiQ sil C18W-3 (0.1 x 100 mm, 3 μ m) を使用した。スプ

レーチップとしては、KYA 社製 TI-30-150 チップを使用した。

試料のイオン化は ESI positive ion mode (スプレー電圧 1.8 kV) により行った。スキャンデータ (MS スペクトル) は FT analyzer (分解能 30,000, 測定質量範囲 m/z 350-1,200, Lock mass = フタル酸ジエチルヘキシル及びシロキサン, Profile mode) により取得し、XCalibur data dependent mode により、各スキャンにおけるイオン強度の高い 3 種のピークを順次選択してイオントラップにより MS/MS スペクトルを測定した (CID, Normalized collision energy 35 kV, Activation time 300 ms, Dynamic exclusion duration 60 s, Centroid mode)。測定時間はサンプル注入 10 分後から 150 分間とし、価数判別機能を利用して 1 価イオンの MS/MS スペクトルは測定しないように設定した。

Nano-LC の移動相には、A 溶媒 (0.1%ギ酸含有 2%アセトニトリル) と B 溶媒 (0.1%ギ酸含有 90%アセトニトリル) を使用した。流速は 300 nl/min とし、サンプル注入 (0.5 μg) はオートサンプラーを使用して行った。一分析当たりの溶出時間は 160 分とし、サンプル注入後、0%B/10 min \rightarrow 0-13%B/10 min \rightarrow 13-40%B/125 min \rightarrow 40-55%B/130 min \rightarrow 55-100%B/135 min \rightarrow 100%B/145 min \rightarrow 0%B/160 min のグラジエント条件により溶出した。次の分析に移行する前に流路を 2 回洗浄した。測定の繰り返し数は $n=2$ とした。

分析終了後、得られた MS データに基づいて作成した Reject Mass List (後述) を Method File に登録し、同様の分析を更に 2 回繰り返すことにより、MS/MS データを取得するペプチド数を増加させた。

(6) 蛋白質の同定と定量

6-1. Reject Mass List の作成

LC-MS/MS 解析において得られた MS データを Thermo Scientific 社製蛋白質解析用プラットフォーム Proteome Discoverer ソフトウェアにアップロードし、Mascot 検索 Work Flow/UniPort/Swiss-Prot データベースを利用して蛋白質同定を行った後、同定された全てのペプチドサーチ結果を Reject Mass List に指定した。リテンションタイムトレランスは $\pm 3-5$ 分に設定した。

6-2. 比較定量解析

非標識条件下における蛋白質の多変量解析はメディカルプロテオスコープ社製 i-RUBY ソフトウェアを用いて行った。LC-MS/MS 解析において得られた全ての MS データ群 (各試料 $n=2 \times 3$) を同ソフトウェアにインストールした後、Mascot/UniPort/Swiss-Prot データベースによる蛋白質同定、MS/MS スペクトル相同性に基づいたピークマッチングとリテンションタイム補正を行うことにより、蛋白質の比較定量解析を行った。

C. 研究結果

(1) 高分子材料の表面構造と特性評価

SEM 解析により観察した各材料の表面構造を図 1 に示した。PSF、CTA 及び PTFE は多孔性材料である。市販品である CTA と PTFE は均一な孔構造を有していたが、自家調製した PSF の孔径にはばらつきが認められた。その他の材料は非多孔質であり、比較的均一な表面構造を持つことが確認された。

各材料の物理化学的特性を表 1 に示し

た。PSF の接触角は 69.7 度であり、PVP を配合することにより親水性が向上していた。C-PET、PS 及び UHMWPE の接触角は、いずれも 90 度台であり、これらの材料は疎水性表面を持つことが確認された。PTFE の接触角は 129.4 度であり、非常に高い疎水性を示した。CTA は吸水性が高く、接触角を測定することができなかった。

C-PET、PS、PTFE 及び UHMWPE の表面ゼータ電位は、いずれも -30 mV 台であった。一方、PSF 及び CTA の表面ゼータ電位は、それぞれ -2.40 及び -9.47 mV であり、比較的高いことが確認された。

表面ゼータ電位の低い C-PET、PS、PTFE 及び UHMWPE の表面に吸着した血漿蛋白質量は 0.28-0.58 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であったが、PSF 及び CTA の蛋白質吸着量は 9.57 及び 7.59 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であり、表面ゼータ電位の高い材料は蛋白質を吸着し易いことが示唆された。

(2) 吸着蛋白質の解析

等量の血漿蛋白質及び各材料表面に吸着した蛋白質試料を LC-MS/MS ショットガン解析に供して得られた MS データを i-RUBY ソフトウェアにインストールしてデータベース検索を行った結果、3,069 ($p < 0.05$) 種類の蛋白質が同定された。これらのうち、血液凝固に関与すると思われる蛋白質は 242 種類存在した。

アルブミンは全ての材料に吸着したが、その吸着量は吸着蛋白質 (AP) / 血漿蛋白質 (PP) 比として 0.01-0.28 倍であり、材料表面状で濃縮される現象は認められなかった。血液凝固に関与する一連の血漿蛋白質も全ての材料表面に吸着したが、その吸着挙動は材料毎に異なっていた (表 2)。

2-1. ホスホリパーゼ群 (表 3)

血小板セロトニン受容体の下流に存在する PLC に関連する蛋白質として、PLCD4 及び PLCH1 が同定された。PLCD4 は PTFE 表面、PLCH1 は PS、PTFE 及び UHMWPE 表面に AP/PP 比として 2 倍以上吸着したが、その他の材料では顕著な濃縮が認められなかった。血小板コラーゲン/トロンビン/エピネフリン受容体の下流に存在する PLA₂ に関連する蛋白質として、PA2G5 及び PA24D が同定されたが、両蛋白質ともに材料表面上における濃縮現象は観察されなかった。その他のホスホリパーゼ群として、PHLD 及び PLD5 が同定された。PLD5 は全ての材料上で顕著に濃縮されたが、PHLD の濃縮は CTA を除き認められなかった。

2-2. セロトニン受容体群 (表 4)

セロトニン受容体である 5HT1F 及び 5HT2C のほか、セロトニン関連蛋白質である ASML が同定された。5HT1F は AP/PP 比 = 5 を超えて PS に吸着したが、その他の材料では顕著な濃縮が認められなかった。5HT2C 及び ASML の吸着挙動も同様であり、全材料ともに AP/PP 比は 2 倍以下であった。一方、セロトニントランスポーターである SC6A4 は全ての材料上に顕著に吸着した。特に、CTA 表面で顕著な濃縮が起こり、その AP/PP 比は 100 倍を超えていた。

2-3. 血小板 α 顆粒成分群 (表 5)

血小板 α 顆粒成分関連蛋白質として、A1AT、THS7A 及び TSP1 が同定された。TSP1 は CTA 表面に AP/PP 比 = 2 を超えて吸着したが、その他の材料表面上における濃縮現象は観察されなかった。また、A1AT 及び THS7A の AP/PP 比は 0.16 以下であり、

いずれの材料においても顕著な吸着は認められなかった。

2-4. 血小板因子群 (表 6)

血小板因子として PLF4 が同定されたが、AP/PP 比は最大でも 0.90 倍であり、各材料上への顕著な吸着は観察されなかった。

2-5. カリクレイン・キニン群 (表 7)

カリクレイン・キニン関連蛋白質として、KNG1 及び KLKB1 が同定された。KLKB1 は PSF に AP/PP 比=3 を超えて吸着したが、その他の材料表面における濃縮は認められなかった。KNG1 の AP/PP 比は最大でも 0.74 であり、全材料ともに顕著な吸着は観察されなかった。

2-6. 血液凝固因子群 (表 8)

表 7 に示したとおり、血液凝固因子群は PSF 及び PTFE に AP/PP 比=2 を超えて顕著に吸着する傾向があった。フィブリンの吸着は CTA (FBLN1、FBLN5) 及び C-PET (FBLN5) にも観察されたが、両材料表面に対するその他の血液凝固因子群の濃縮現象は認められなかった。PS 及び UHMWPE の場合、いずれの蛋白質ともに AP/PP 比=2 を超える吸着は観察されなかった。

2-7. 補体因子群 (表 9)

C3 の AP/PP 比は最大でも 1.23 であり、全材料ともに濃縮現象は観察されなかった。CTA 表面には C1QB を除く C1 補体群、C5、C7 及び C08B を除く C8 群が AP/PP 比=2 を超えて吸着した。C1R、C1S 及び C08A は PSF、C08A 及び C09 は PTFE にも AP/PP 比=2 を超えて吸着したが、その他の補体群の顕著な吸着は認められなかった。C-PET 及び UHMWPE 表面における補体群の

濃縮現象も観察されなかった。一方、補体補助因子 D (CFAD) 及び補体補助因子 H 関連蛋白質 (FHR5) はほぼ全ての材料で濃縮された。

PTFE には免疫グロブリン H 鎖を吸着する傾向が認められた。PSF 及び UHMWPE に対する HV103 の AP/PP 比は 1.20 と 1.80 であったが、その他の材料上では 2 倍を超えて吸着することが確認された。HV206 及び HV209 は CTA にも AP/PP 比=2 を超えて吸着したが、CTA の場合、その他の免疫グロブリン H 鎖の顕著な吸着は認められなかった。また、PSF 及び UHMWPE には AP/PP 比=2 を超える吸着は観察されなかった。

免疫グロブリン κ 鎖中、C-PET に対する KV110 の AP/PP 比は 1.24 倍であったが、その他の材料には AP/PP 比=2 を超えて吸着した。PSF 及び C-PET に対する KV106 の AP/PP 比は、それぞれ 0.81 倍及び 1.81 倍であったが、その他の材料表面では同比=2 を超えて濃縮されることが確認された。KV124 及び KV123 は PSF、PS、PTFE 及び UHMWPE 表面上で濃縮される傾向があり、特に PS 及び PTFE の AP/PP 比は 500 倍を超えていた。KV114、KV117、KV125、KV118、KV119、KV311、KV306 及び KV310 は AP/PP 比=2 を超えて PS 及び PTFE 上に吸着した。その他、KV112、KV118 及び KV311 は AP/PP 比=2 を超えて CTA 上で濃縮されることが確認された。

免疫グロブリン λ 鎖として、PSF は LV107、LV109、LV103、LV105、LV104、LV207 及び LV210 は AP/PP 比=2 を超えて PSF 上に吸着した。また、PTFE 表面には LV001、LV103、LV106 及び LV302 が濃縮されたが、C-PET、CTA、PS 及び UHMWPE には AP/PP 比=2 を超える吸着が認められなかった。

その他、FCGBP は PSF を除く全ての材料上で濃縮された。また、IGHM 及び MUCB は CTA、IGDC4 及び IGSF2 は PSF に顕著に吸着することが観察された。

マンナン結合因子関連蛋白質としては、MASP1 及び MASP2 が同定された。両蛋白質ともに CTA 上で顕著に濃縮される現象が認められたが、その他の材料では顕著な吸着は観察されなかった。

2-8. 内因系血液凝固活性化リガンド群

(表 10)

コラーゲン α 鎖は各材料上で濃縮される傾向を持つことが観察された。特に、COMA1 は全材料、C08A2 は PSF 以外の全ての材料表面に AP/PP 比=2 を超えて吸着した。C07A1、C0FA1、C06A3、C06A5 及び C06A6 等も比較的多くの材料表面上で濃縮されることが確認された。

各材料に対する VTNC の AP/PP 比は最低でも 1.65 倍以上であり、同蛋白質は全ての材料表面に顕著に吸着することが確認された。PSF 及び PTFE に対する FINC の AP/PP 比はそれぞれ 1.80 及び 3.38 であったが、その他の材料上における濃縮現象は観察されなかった。

VWF 因子関連蛋白質として、VWA2、VWA3A 及び VWF が同定された。VWF は PTFE 表面上に AP/PP 比=2 を超えて吸着したが、その他の材料上における顕著な濃縮は認められなかった。VWA2 及び VWA3A も同様であり、各材料に対する AP/PP 比は最大でも 1.15 倍であった。

2-9. リポ蛋白質・エラスターゼ群 (表 11)

CTA に対して AP/PP 比=2 を超えて吸着したアポリポ蛋白質は APOD 及び APOE のみであったが、全体としてアポリポ蛋白

質群には各材料上で濃縮される傾向が認められた。特に、PSF 及び PTFE への吸着は顕著であり、いずれも APOA 群、APOC 群、APOE、APOF 及び CLUS が AP/PP 比=2 を超えて吸着した。APOC3 を除く APOC 群は各材料に吸着し易い傾向があり、特に APOC4 は CTA 以外の全材料上で顕著に濃縮された。その他、APOA4、APOE、APOF 及び APOL1 等も各材料表面に吸着し易いことが確認された。

コレステロール関連蛋白質として同定された CETP は C-PET、PS、PTFE 及び UHMWPE 上で顕著に濃縮された。CEPT は PSF 表面にも吸着する傾向 (AP/PP 比=1.62) が認められたが、CTA 上では濃縮されないことが確認された。低密度リポ蛋白質に関連する蛋白質として同定された LRP10 及び LRP1B は PS、PTFE 及び UHMWPE に吸着し易い傾向を持つことが観察された。エラスターゼ関連蛋白質として同定された MMP12 は全材料共に顕著な吸着を示さなかった。

2-10. サイトカイン群 (表 12)

インターフェロン関連蛋白質として、IRF2、IRF7 及び I20L2 が同定された。各材料に対する IRF7 の吸着は観察されなかったが、IRF2 は PSF 及び PS、I20L2 は PSF、CTA、PTFE 及び UHMWPE 上で AP/PP 比=2 を超えて濃縮されることが確認された。

インターロイキン関連蛋白質として同定された 6 種類の蛋白質中、IL7 は全ての材料上で顕著に濃縮された。IL5 は PSF、CTA、PTFE 及び UHMWPE 上に顕著に吸着した。IL5 は PS にも吸着する傾向が認められたが (AP/PP 比=1.77)、C-PET 表面には殆ど吸着しないことが確認された。IL4RA は PTFE 及び UHMWPE 以外の材料上で濃縮

された。その他、ILF2 は PTFE 及び UHMWPE、I10R2 は PS 及び PTFE、IL17F は PSF 及び PTFE 上に AP/PP 比=2 を超えて吸着した。

TNF 関連蛋白質として、TNR8 及び TNAP2 が同定された。TNR8 は PSF 及び UHMWPE 上で濃縮されたが、その他の材料表面への顕著な吸着は観察されなかった。また、TNAP2 は全材料共に顕著な吸着を示さなかった。

2-11. 抗凝固作用蛋白質群 (表 13)

抗凝固作用蛋白質として、ANT3、HEP2、PLMN 及び PLGB が同定された。唯一、HEP2 が PTFE に対して AP/PP 比=2 を超えて吸着したが、これらの蛋白質が材料上で濃縮される現象は観察されなかった。

2-12. その他の関連因子群 (表 14)

血小板凝集に関与するインテグリンは ITA4 を除き各材料上で濃縮される傾向を持つことが確認された。特に、ITA1 は全ての材料表面に顕著に吸着した。ITA9 及び ILK も UHMWPE を除く各材料上で有意に濃縮された。

プロテアーゼ阻害作用を持つ蛋白質群として、ITIH 群と ZPI が同定された。ITIH 群中、ITH5L は PSF、C-PET、PS 及び PTFE 上で濃縮されると共に、CTA 及び UHMWPE にも吸着する傾向を持っていた。CTA を除き、ZPI も同様の吸着挙動を示すことが確認された。

D. 考 察

血液凝固¹⁻⁹⁾は内因系血液凝固と外因系血液凝固に大別される。外因系血液凝固は組織損傷時に放出される組織トロンボプラスチン(血液凝固第Ⅲ因子)が引き金となり、第Ⅶ因子が活性化されること

により一連の血液凝固カスケードが惹起され、最終的にフィブリンの重合に至る。組織因子はIL-1等のサイトカイン刺激によっても細胞膜表面に出現する。

一方、内因系血液凝固は一次止血と二次止血に分類され、一次止血は更に一次凝集と二次凝集に細分される。一次凝集は血管内皮細胞が障害を受け剥離した時に起こる生体反応であり、血管内皮細胞下の組織コラーゲンにフォン・ウィルブラント因子(VWF)が結合した後、血小板が細胞膜上に存在するGPIb受容体を介してVWFに結合して血管内皮細胞下組織に粘着する。粘着した血小板は活性化され、円盤状から中央部が隆起した球状に変形して偽足を伸展する。血管内皮細胞下組織への血小板の粘着はVWFを介することなく、GPVI等のコラーゲン受容体を介してコラーゲン、ビトロネクチン及びフィブロネクチン等の細胞外マトリクスと直接結合することによっても起こる。二次凝集では、粘着及び血流のずり応力により活性化された血小板において開放小管系を介するCa²⁺流入や貯蔵Ca²⁺の放出が起こり、細胞内Ca²⁺が上昇する。その結果、血小板の脱顆粒が起こり、血小板活性化因子であるADP、セロトニンやマイクロパーティクル(陰性荷電リン脂質)等が細胞外に放出される。また、細胞内のPLA₂が活性化され、TXA₂が放出されることにより、最初に活性化された血小板周囲の血小板も二次的に活性化される。二次的に活性化された血小板表面には血小板膜糖蛋白であるGPⅡb/Ⅲa(インテグリンαβ)受容体が発現し、血小板の同受容体同士を血漿中のVWFやフィブリノゲンが連結することにより血小板が凝集する。内因系血液凝固における二次止血では、

凝集した血小板のリン脂質が血液凝固反応を効率的に進行させる場となり、血液凝固を促進する。また、血液が血管内皮細胞下の組織コラーゲンに接すると第XII因子が活性化されることにより、一連の血液凝固カスケードが惹起され、最終的にフィブリンの重合に至る。

血液凝固系は補体系とも密接に関連している。補体系には古典経路、第2経路及びレクチン経路があり、古典経路では抗原に結合したIgG又はIgM抗体のFc部分(H鎖)にC1qが結合することが引き金となり、C1r及びC1sを介して、C2からC9に至る一連の補体系が活性化される。第2経路では、主に微生物を初めとした異物表面に抗体を介することなくC3が直接結合し、C3(H₂O)に加水分解される。C3(H₂O)に補助因子B及びDが結合し、C3(H₂O)Bbが形成され、C3がC3aとC3bに分解される。C3bは更に両補助因子と結合することによりC3bBbを形成し、C3bの結合を介してC5が活性化されてC6からC9補体の活性化が誘導される。レクチン経路では、菌体表層に存在するマンナンとレクチン等のマンナン結合蛋白質が結合することによりMASPが活性化される。MASPはC1sと類似した作用を持ち、C4を活性化することによりC3及びC5からC9補体を活性化する。

透析膜等の異物との接触によっても第XII因子を起点とする血液凝固カスケードが活性化される。また、再生セルロース膜素材を用いた血液透析中に生じる一過性の白血球減少に補体系が関与していることをCraddockらが発見して以来、同素材の詳細な補体系活性化機序が明らかにされた。再生セルロース膜表面には補体系活性化基である遊離OH基が存在する。このOH

基に血中のC3bが結合することにより活性化が生じる。このような補体系活性化にはOH基の数、膜の陰性荷電や親水性の程度、OH基への蛋白質吸着性等が規定因子である補体系因子BのOH基への吸着の割合により補体系活性化作用は大きく異なる。この過程で生じた活性化補体系のうち、C3aとC5aはアナフィラトキシンとして生体に対する強力な作用を持ち、血液凝固系にも影響を及ぼす。

血液凝固カスケードは血管拡張、血管透過性亢進及び発痛を制御するカリクレイン・キニン系とも密接に関与している。内因系血液凝固の二次止血において活性化された第XIIa因子はプレカリクレインから活性型カリクレインを誘導する。カリクレインは高分子キニノゲンから発痛物質であるブラジキニンを誘導し、PLA₂を介してアラキドン酸からPGE₂の形成を促進すると共に、第XII因子を活性化することにより血液凝固カスケードを活性化する。

エコノミークラス症候群のように、血流が停滞することにより血栓が形成される機序として、リポ蛋白質説と赤血球膜プロテアーゼ説等が提唱されている。リポ蛋白質説では、リポ蛋白質レムナントの表面に存在する陰性荷電リン脂質により、内因系血液凝固が活性化され、第XIIa因子が第XI因子を活性化するほか、第XIIa因子やカリクレインが第IX因子を活性化すると考えられている。一方、赤血球膜プロテアーゼ説では、血流が停滞した際、赤血球膜上に存在するプロテアーゼ(好中球やマクロファージから放出されるエラスターゼと同様の因子)が遊離し、第IX因子を活性化させると共に、赤血球膜由来のマイクロパーティクルにおいてリゾ

ホスファチジン酸から誘導される陰性荷電リン脂質が内因系血液凝固を活性化させると考えられている。

血液凝固に関与する一連の蛋白質を表15に取りまとめた。本研究において、各材料表面に対するこれらの蛋白質の吸着挙動を解析した結果、血液凝固に関与する一連の血漿蛋白質は全ての材料表面に吸着したが、その吸着挙動は材料毎に異なっていた。セロトニントランスポータ、コラーゲン Type XXII α 鎖、ビトロネクチン、インテグリン α 1、補体補助因子 D、リポ蛋白質 (APOE)、ホスホリパーゼ D₅ 及び IL-7 等は、ほぼ全ての材料に AP/PP 比として 2 又は 5 倍を超えて顕著に吸着し、材料上で濃縮されることが確認された。セロトニン結合能を持つセロトニントランスポータが材料表面上に濃縮された場合、同表面におけるセロトニン濃度が上昇し、セロトニン受容体を介して血小板が活性化される可能性がある。内因系血液凝固活性化リガンドであるコラーゲン及びビトロネクチンは GPVI 受容体等を介して直接的に血小板を活性化させる。血小板表面の GP IIb/IIIa 受容体を構成するインテグリンは血漿中の VWF やフィブリノゲンを連結することにより血小板を凝集させる機能を持つ。リン脂質の蓄積は血液凝固反応を効率的に進行させる場として機能し、血液凝固を促進する。ホスホリパーゼ D₅ は、リン脂質をリン酸エステル部分で切断することにより、血液凝固に関与する陰性荷電リン脂質を遊離させる機能を持つ。このように、セロトニントランスポータ、コラーゲン、ビトロネクチン、インテグリン、リポ蛋白質及びホスホリパーゼ D₅ は、いずれも血液凝固を促進する機能を持つため、これらの蛋白質が全材料上で顕著に濃縮されたことは非

常に興味深い。一方、IL-7 は pre-B 細胞、胸腺細胞及び T 細胞の増殖・分化に関与することが知られており、細胞性免疫応答を介したサイトカイン産生を誘導する可能性があるが、血液凝固との相関性は不明である。補体補助因子 D もほぼ全ての材料上で濃縮されたが、第 2 経路に関与する一連の補体成分の吸着挙動は材料毎に異なっていたため、補助因子 D は血液適合性評価マーカーとして利用できないことが示唆された。

血液適合性材料として、超親水性表面、ミクロ相分離表面、細胞膜類似表面及び生理活性分子固定化表面等が開発され、その有効性が報告されて来たが、近年、材料表面の水和状態が血液適合性（抗血栓性）の要因である蛋白質吸着能や細胞接着能のほか、人工関節の耐摩耗性にも深く関与することが明らかになりつつある。材料表面における水分子は存在様式により、超低温でも凍結しない不凍水、 -50°C 付近で低温結晶を形成する中間水及び 0°C で凍結する自由水に大別される。不凍水と自由水は多くの材料に共通して存在する水分子であるが、血液適合性の高い材料は不凍水と自由水のほか、中間水を持つことが確認されている。細胞膜と類似したベタイン構造を持つポリ(2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン) (PMPC) は中間水を有する代表的な高分子材料の1つであり、蛋白質吸着能や細胞接着能が非常に低く、血栓が形成されない性質を持つことから、血液適合性が要求される医療機器や医用材料の表面加工に利用されている¹⁰⁻¹³⁾。また、材料表面にPMPCをコーティングすることにより摩耗定数も顕著に低下することが明らかになっており、同ポリマーを摺動面に

コーティングした人工関節の開発も進められている。PMPCと同様、中間水を有するポリ(2-メトキシエチルアクリレート)(PMEA)は、有機溶媒への易溶解性、非水溶性、透明性、粘着性を併せ持っていることからさまざまな基材へのコーティングが可能である¹⁴⁻²¹⁾。また、PMEA表面上では、血漿蛋白質の吸着・変性が少なく、脱離速度も早い特徴を持っている。今後、MEAに種々の割合でHEMA(2-ヒドロキシエチルメタクリレート)を配合したPMEA/PHEMAランダム共重合体表面を作製した後、中間水組成と蛋白質吸着挙動の相関性について検討すると共に、対照材料の結果と比較検討することにより血液適合性評価マーカーの特定と絶対定量を行う。

E. 結論

対照として使用した6種類の高分子材料に対する血液凝固系蛋白質の吸着挙動を解析した結果、全ての材料表面上で顕著に濃縮されたセロトニントランスポータ、コラーゲンType XXII α 鎖、ビトロネクチン、インテグリン α 1、リポ蛋白質(APOE)及びホスホリパーゼD₅が血液適合性評価マーカーとして利用できる可能性が示唆された。今後、PMEA/PHEMAランダム共重合体表面を作製した後、中間水組成と蛋白質吸着挙動の相関性について検討すると共に、対照材料の結果と比較検討することにより血液適合性評価マーカーの特定と絶対定量を行う。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1) 藪島由二, 長谷川千恵, 田中賢, 長部

真博, 上野良之, 棚橋一裕, 松岡厚子. 高分子材料表面への蛋白質吸着挙動と血液適合性の相関性評価に関する研究. 第33回日本バイオマテリアル学会大会(2011年11月・京都).

2) 藪島由二, 長谷川千恵, 柚場俊康, 田上昭人, 松岡厚子. 赤血球寿命に及ぼす可塑剤の影響評価に関する研究. 第33回日本バイオマテリアル学会大会(2011年11月・京都).

3) 植松美幸, 中野達也, 瀬川勝智, 藪島由二, 中岡竜介, 松岡厚子. 分子動力的シミュレーションを用いた医用高分子材料表面の水和状態の可視化. 第33回日本バイオマテリアル学会大会(2011年11月・京都).

4) 加藤玲子, 藪島由二, 長谷川千恵, 松岡厚子. 異なる表面処理を施したチタンプレート上で培養したヒト間葉系幹細胞のタンパク質発現解析. 第33回日本バイオマテリアル学会大会(2011年11月・京都).

5) R. Sawada, Y. Haishima, K. Isama and A. Matsuoka. Effect of surface-modified titanium by chemical treatment on the gene expression profile in osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cell. The Society of Toxicology 51st Annual Meeting (March 2012, San Francisco).

6) R. Kato, Y. Haishima, C. Hasegawa and A. Matsuoka. Comparison of protein expression profiles in human mesenchymal stem cells cultured on surface-modified titanium with chemical treatments. The Society of Toxicology 51st Annual Meeting (March 2012, San Francisco).

7) 齋島由二, 河上強志, 伊佐間和郎, 福井千恵, 柚場俊康, 田上昭人, 松岡厚子. PVC製血液バッグの安全性及び有効性の再評価に関する研究. 日本薬学会第132年会(2012年3月・札幌).

参照資料

- 1) 山本一彦, 他. カラー図解: 靱帯の正常構造と機能, IV. 血液・免疫・内分泌, 日本医事新報社, 2002年.
- 2) 森 亘, 桶田理喜. 基礎病理学 第7版(監訳: ロビンス), 廣川書店, 2004年.
- 3) 藤巻道男. 出血傾向のスクリーニング検査, 日本医師会雑誌, 109(2): 220-224 (1993).
- 4) 鈴木宏治. 血液凝固と血小板, 日本医事新報, 4313: 87-88 (2006).
- 5) 吉岡章, 杉本充彦. アンチトロンビン(AT)、プロテインC(PC)、プロテインS(PS): 最新臨床検査のABC, 日本医師会雑誌, 135(2): S89-90 (2006).
- 6) 鈴木宏治. プロテインC、プロテインS、APCレジスタンス、トロンボモジュリン: 臨床検査ガイド 1999-2000, 696-702頁、文光堂, 1999年.
- 7) 藤田稠清. 血小板凝集能亢進症: 重要で新しい血管の危険因子, 日本医事新報 4238: 26-32 (2005).
- 8) 高志昌宏, 大滝隆行, 小又理恵子. 5. 冠動脈血栓, Nikkei Medical, 2000年1月号: 75頁.
- 9) 川合陽子. 偽血小板減少症を確認するための再採血, 日本医事新報, 4299: 90-91 (2006).
- 10) K. Ishihara, H. Nomura, T. Mihara, K. Kurita, Y. Iwasaki and N. Nakabayashi. J. Biomed. Mater. Res., 39: 323 (1998).
- 11) K. Ishihara, E. Ishikawa, T. Mihara, Y. Iwasaki and N. Nakabayashi. J. Biomater. Scie. Polym. Ed., 10: 1047 (1999).
- 12) H. Kitano, M. Imai, T. Mori, M. Gemmei-Ide, Y. Yokoyama and K. Ishihara. Langmuir, 19: 10266 (2003).
- 13) T. Hatakeyama, M. Tanaka and H. Hatakeyama. Acta. Biomaterialia., 3: 6091 (2009).
- 14) M. Tanaka, T. Motomura, M. Kawada, T. Anzai, Y. Kasori, T. Shiroya, K. Shimura, M. Onishi and A. Mochizuki. Biomaterials, 21: 1471 (2000).
- 15) M. Tanaka, T. Motomura, N. Ishii, K. Shimura, M. Onishi, A. Mochizuki and T. Hatakeyama. Polym. Int., 49: 1709 (2000).
- 16) M. Tanaka, A. Mochizuki, T. Motomura, K. Shimura, M. Ohnishi and Y. Okahata. Colloids. Surf., A, 193: 145 (2001).
- 17) M. Tanaka, A. Mochizuki, T. Shiroya, T. Motomura, K. Shimura, M. Ohnishi and Y. Okahata. Colloids. Surf., A, 203: 195 (2002).
- 18) T. Ansai, A. Okumura, M. Kawamura, K. Yokoyama, H. Oshiyama, T. Kido and C. Nojiri. Jpn. J. Artif. Organs., 9: 73 (2000).
- 19) N. Saito, S. Motoyama and J. Sawamoto. Jpn. J. Artif. Organs., 24: 547 (2000).
- 20) M. Tanaka and A. Mochizuki. J. Biomed. Mater. Res., A, 68: 684 (2004).
- 21) M. Tanaka, A. Mochizuki, N. Ishii, T. Motomura and T. Hatakeyama. Biomacromolecules, 3: 36 (2002).

表1. 高分子材料の種類と物理化学的特性

材料名	ポリスルホン	ポリエチレン テレフタレート	酢酸 セルロース	ポリスチレン	ポリテトラフル オロエチレン	超高分子量 ポリエチレン
提供メーカー	東レ	東洋紡	ADVANTEC	住友ベークライト	住友電工	SHIMOPA
略号	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
接触角(度)	69.7±0.70	96.2±0.74	測定不能	96.0±0.94	129.4±0.40	91.5±0.88
表面ゼータ電位(mV)	-2.40±0.14	-37.6±0.59	-9.47±0.65	-32.5±0.70	-39.6±0.45	-31.7±0.95
蛋白質吸着量(μg/cm ²)	9.57	0.28	7.59	0.58	0.50	0.51

表2. 高分子材料表面に対する血液凝固関連蛋白質の吸着挙動の概要

分類	2倍以上濃縮された蛋白質数* / 同定蛋白質数					
	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
ホスホリパーゼ群	0/5	0/5	0/5	1/5	2/5	1/5
セロトニン受容体群	1/4	1/4	1/4	2/4	1/4	1/4
血小板α顆粒成分群	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3
血小板因子群	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
カリクレイン・キニン群	0/2	1/2	0/2	0/2	0/2	0/2
血液凝固因子群	8/14	1/14	2/14	0/14	6/14	0/14
補体因子群 / 補体・補助因子	5/25	2/25	10/25	2/25	4/25	2/25
補体因子群 / 抗体	13/111	2/111	11/111	17/111	40/111	6/111
補体因子群 / マンナン結合因子	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2
内因系血液凝固活性化リガンド群	8/24	7/24	6/24	6/24	14/24	7/24
リポ蛋白質・エステラーゼ群	10/20	6/20	2/20	4/20	12/20	7/20
サイトカイン群	7/11	2/11	4/11	4/11	6/11	5/11
抗凝固作用蛋白質群	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4
その他の関連因子群	7/16	9/16	6/16	8/16	8/16	3/16

*吸着蛋白質(AP) / 血漿蛋白質(PP)比=2以上

表3. 蛋白質比較定量解析結果:ホスホリパーゼ群 (AP/PP比: ■ 2倍以上、■ 5倍以上)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[PLCD4] 1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiesterase delta-4	22.2	1	1.00	0.67	0.95	0.47	0.26	9.41	1.34
[PLCH1] 1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiesterase eta-1	25.2	1	1.00	0.93	0.27	0.38	3.07	6.02	2.00
[PA2G6] 85 kDa calcium-independent phospholipase A2	42.9	1	1.00	0.20	0.79	0.05	0.84	0.31	1.18
[PA24D] Cytosolic phospholipase A2 delt	27.6	1	1.00	1.43	0.32	1.20	0.08	0.82	0.98
[PHLD] Phosphatidylinositol-glycan-specific phospholipase D	191.9	11	1.00	0.85	0.11	5.00	0.30	0.50	0.05

表4. 蛋白質比較定量解析結果:セロトニン受容体群 (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[5HT1F] 5-hydroxytryptamine receptor 1F	25.0	1	1.00	0.05	0.00	1.91	5.38	0.63	0.12
[5HT2C] 5-hydroxytryptamine receptor 2C	28.2	1	1.00	1.46	0.01	0.15	0.03	0.99	1.02
[ASML] N-acetylserotonin O-methyltransferase-like protein	33.1	1	1.00	0.38	0.01	1.77	0.19	1.25	0.40
[SC6A4] Sodium-dependent serotonin transporter	28.0	1	1.00	2.49	6.97	104.02	8.92	22.62	13.73

表5. 蛋白質比較定量解析結果:血小板α顆粒成分群 (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[A1AT] Alpha-1-antitrypsin	1524.9	50	1.00	0.11	0.05	0.03	0.02	0.19	0.02
[THS7A] Thrombospondin type-1 domain-containing protein 7A	24.13	1	1.00	0.16	0.02	0.04	0.00	0.00	0.02
[TSP1] Thrombospondin-1	47.85	1	1.00	0.14	0.03	2.87	0.05	0.28	0.23

表6. 蛋白質比較定量解析結果:血小板因子群 (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[PLF4] Platelet factor 4	51.5	1	1.00	0.32	0.00	0.27	0.01	0.90	0.02

表7. 蛋白質比較定量解析結果:カリクレイン・キニン群 (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[KNG1] Kininogen-1	370.4	20	1.00	0.74	0.17	0.05	0.14	0.74	0.27
[KLKB1] Plasma kallikrein	248.8	17	1.00	3.62	0.08	0.32	0.53	0.61	0.36

表8. 蛋白質比較定量解析結果:血液凝固因子群 (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[FA9] Coagulation factor IX	138.6	7	1.00	0.36	0.90	0.30	0.08	2.28	1.15
[FA5] Coagulation factor V	139.0	9	1.00	3.57	0.49	0.69	0.86	1.08	0.50
[FA7] Coagulation factor VII	92.6	5	1.00	0.32	0.16	0.01	0.20	1.18	0.15
[FA10] Coagulation factor X	72.2	5	1.00	2.37	0.63	0.23	0.23	0.66	0.17
[FA11] Coagulation factor XI	51.5	3	1.00	0.35	0.64	0.28	0.69	9.41	0.44
[FA12] Coagulation factor XII	69.0	5	1.00	3.46	0.05	0.27	0.04	0.48	0.03
[F13A] Coagulation factor XIII A chain	39.0	1	1.00	0.31	0.01	0.07	0.01	0.12	0.01
[F13B] Coagulation factor XIII B chain	95.5	7	1.00	4.93	0.14	0.13	0.11	1.08	0.14
[FIBA] Fibrinogen alpha chain	1526.0	64	1.00	7.01	0.29	0.82	0.16	2.73	0.63
[FIBB] Fibrinogen beta chain	1311.9	54	1.00	8.75	0.35	1.14	0.30	3.07	1.03
[FIBG] Fibrinogen gamma chain	1115.9	43	1.00	4.40	0.39	0.95	0.30	2.42	0.70
[FBLN1] Fibulin-1	143.5	10	1.00	0.47	0.74	16.37	0.48	4.83	0.83
[FBLN5] Fibulin-5	42.5	2	1.00	2.23	2.31	2.71	0.10	1.83	0.73
[THRB] Prothrombin	244.7	20	1.00	0.11	0.07	0.04	0.05	0.09	0.02

表9. 蛋白質比較定量解析結果:補体因子群① (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[C1QA] Complement C1q subcomponent subunit A	157.1	6	1.00	0.49	0.21	4.98	1.15	0.42	0.08
[C1QB] Complement C1q subcomponent subunit B	289.2	10	1.00	0.18	0.16	1.35	0.27	0.16	0.06
[C1QC] Complement C1q subcomponent subunit C	106.8	5	1.00	0.12	0.11	2.22	0.22	0.30	0.18
[C1R] Complement C1r subcomponent	401.0	23	1.00	5.35	0.37	4.72	0.34	0.36	0.34
[C1RL] Complement C1r subcomponent-like protein	44.2	2	1.00	1.32	0.05	2.13	0.15	0.12	0.06
[C1S] Complement C1s subcomponent	290.2	21	1.00	4.29	0.34	3.80	0.31	0.35	0.19
[CO2] Complement C2	38.0	6	1.00	0.35	0.02	0.12	0.04	0.30	0.01
[CO3] Complement C3	6308.1	192	1.00	0.29	0.56	1.07	0.27	1.23	0.30
[CO4A] Complement C4-A	1867.5	93	1.00	0.38	0.14	0.25	0.12	0.36	0.10
[CO4B] Complement C4-B	1955.3	93	1.00	0.39	0.14	0.25	0.13	0.36	0.10
[CO5] Complement C5	757.7	59	1.00	0.53	0.25	2.18	0.47	1.80	0.24
[CO6] Complement component C6	152.4	10	1.00	0.38	0.04	1.58	0.11	0.25	0.06
[CO7] Complement component C7	185.6	12	1.00	0.98	0.27	5.11	0.20	1.28	0.27
[CO8A] Complement component C8 alpha chain	110.9	8	1.00	2.56	0.36	7.56	1.89	3.52	0.67
[CO8B] Complement component C8 beta chain	150.3	9	1.00	0.17	0.09	0.81	0.06	0.07	0.09
[CO8G] Complement component C8 gamma chain	149.5	10	1.00	0.19	0.20	3.06	0.15	0.65	0.13
[CO9] Complement component C9	531.0	22	1.00	0.48	1.17	0.68	0.36	3.24	1.01
[CFAB] Complement factor B	423.9	29	1.00	0.17	0.02	0.17	0.08	0.09	0.04
[CFAD] Complement factor D	34.0	3	1.00	212.38	26.79	57.54	1.78	24.77	6.50
[CFAH] Complement factor H	671.0	44	1.00	0.71	0.05	0.35	0.09	0.13	0.04
[FHR1] Complement factor H-related protein 1	90.1	7	1.00	0.79	0.31	0.33	1.83	0.72	0.26
[FHR2] Complement factor H-related protein 2	44.8	2	1.00	0.99	0.93	0.45	4.64	0.91	0.17
[FHR3] Complement factor H-related protein 3	38.0	2	1.00	0.48	0.01	0.27	0.03	0.11	0.02
[FHR5] Complement factor H-related protein 5	57.4	1	1.00	10.84	9.72	0.49	28.38	7.83	2.79
[CFAI] Complement factor I	177.3	8	1.00	0.10	0.05	0.06	0.03	0.17	0.04
[IGHA1] Ig alpha-1 chain C region	765.0	21	1.00	0.05	0.05	0.18	0.02	0.06	0.04
[IGHA2] Ig alpha-2 chain C region	596.0	15	1.00	0.05	0.05	0.15	0.02	0.05	0.05
[IGHD] Ig delta chain C region	92.4	2	1.00	0.29	0.03	0.04	0.05	0.52	0.06
[IGHG1] Ig gamma-1 chain C region	2895.6	38	1.00	0.46	0.90	1.35	1.18	1.85	0.77
[IGHG2] Ig gamma-2 chain C region	1443.8	26	1.00	0.21	0.37	0.57	0.38	0.90	0.24
[IGHG3] Ig gamma-3 chain C region	1861.2	26	1.00	0.43	1.05	1.87	1.09	1.59	0.60
[IGHG4] Ig gamma-4 chain C region	1239.8	16	1.00	0.16	0.35	0.52	0.35	0.66	0.24
[HV102] Ig heavy chain V-I region HG3	72.7	2	1.00	0.18	0.24	1.64	0.79	0.74	0.38
[HV103] Ig heavy chain V-I region V35	69.3	4	1.00	1.20	2.50	3.39	5.03	2.66	1.80
[HV209] Ig heavy chain V-II region ARH-77	142.8	3	1.00	0.56	0.68	2.09	1.14	2.41	0.77
[HV207] Ig heavy chain V-II region NEWM	134.2	3	1.00	0.67	0.68	1.73	0.62	2.02	0.71
[HV201] Ig heavy chain V-II region	48.6	2	1.00	0.61	1.11	1.40	1.10	4.04	1.06
[HV208] Ig heavy chain V-II region SESS	48.6	1	1.00	0.22	0.63	0.65	1.14	1.20	0.63
[HV206] Ig heavy chain V-II region WAH	53.2	2	1.00	0.85	0.38	2.29	1.43	3.15	0.75
[HV305] Ig heavy chain V-III region BRO	285.9	4	1.00	0.25	0.66	0.84	1.14	2.00	0.85
[HV312] Ig heavy chain V-III region BUR	30.8	1	1.00	0.02	0.68	0.00	1.26	2.15	0.74
[HV306] Ig heavy chain V-III region BUT	184.0	5	1.00	0.17	0.40	0.83	0.73	1.23	0.38
[HV307] Ig heavy chain V-III region CAM	151.7	4	1.00	0.11	0.45	0.96	0.73	1.31	0.45
[HV308] Ig heavy chain V-III region GA	57.9	6	1.00	1.26	0.70	1.26	1.39	0.98	0.64
[HV320] Ig heavy chain V-III region GAL	170.3	5	1.00	0.21	0.43	0.82	0.55	0.93	0.55

表9. 蛋白質比較定量解析結果:補体因子群② (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[HV322] Ig heavy chain V-III region GAR	27.0	2	1.00	0.34	0.09	2.73	1.23	1.99	0.65
[HV310] Ig heavy chain V-III region HIL	49.3	2	1.00	0.19	0.25	0.40	0.77	1.17	0.44
[HV319] Ig heavy chain V-III region JON	30.8	1	1.00	0.02	0.68	0.00	1.26	2.15	0.74
[HV311] Ig heavy chain V-III region KOL	30.8	1	1.00	0.02	0.68	0.00	1.26	2.15	0.74
[HV314] Ig heavy chain V-III region LAY	30.8	1	1.00	0.02	0.68	0.00	1.26	2.15	0.74
[HV309] Ig heavy chain V-III region NIE	72.8	2	1.00	0.19	0.25	0.08	0.42	0.78	0.26
[HV313] Ig heavy chain V-III region POM	136.3	3	1.00	0.13	0.81	1.17	1.56	2.60	0.93
[HV316] Ig heavy chain V-III region TEI	237.6	3	1.00	0.27	0.56	0.60	0.98	1.73	0.76
[HV304] Ig heavy chain V-III region TIL	184.8	5	1.00	0.20	0.74	1.14	1.37	1.84	0.77
[HV301] Ig heavy chain V-III region TRO	55.9	3	1.00	1.10	0.83	0.52	1.49	3.21	1.41
[HV318] Ig heavy chain V-III region TUR	171.3	4	1.00	0.20	0.40	0.55	0.74	1.28	0.45
[HV303] Ig heavy chain V-III region VH26	197.4	4	1.00	0.26	0.71	0.76	0.95	1.37	0.77
[HV315] Ig heavy chain V-III region WAS	136.3	3	1.00	0.13	0.81	1.17	1.56	2.60	0.93
[HV302] Ig heavy chain V-III region WEA	106.6	4	1.00	0.12	0.38	0.45	0.59	1.37	0.45
[HV317] Ig heavy chain V-III region ZAP	30.8	1	1.00	0.02	0.68	0.00	1.26	2.15	0.74
[IGKC] Ig kappa chain C region	1442.1	15	1.00	0.36	0.61	0.84	0.43	1.11	0.29
[KV101] Ig kappa chain V-I region AG	227.6	4	1.00	0.21	0.67	1.11	0.99	1.99	0.65
[KV102] Ig kappa chain V-I region AU	227.6	3	1.00	0.23	0.92	1.40	1.39	2.62	0.89
[KV122] Ig kappa chain V-I region BAN	85.5	2	1.00	0.04	0.52	0.69	3.28	3.88	0.56
[KV104] Ig kappa chain V-I region CAR	171.8	3	1.00	0.13	0.52	1.36	1.26	1.78	1.24
[KV124] Ig kappa chain V-I region Daudi	29.1	1	1.00	8.84	0.38	0.38	516.85	556.97	2.54
[KV105] Ig kappa chain V-I region DEE	230.0	7	1.00	0.10	0.25	0.77	0.91	1.52	0.23
[KV106] Ig kappa chain V-I region EU	207.1	4	1.00	0.81	1.81	5.11	6.26	7.66	3.36
[KV107] Ig kappa chain V-I region Gal	227.6	3	1.00	0.23	0.92	1.40	1.39	2.62	0.89
[KV108] Ig kappa chain V-I region Hau	227.6	4	1.00	0.25	0.92	1.40	2.72	4.05	0.89
[KV109] Ig kappa chain V-I region HK101	29.1	1	1.00	8.84	0.38	0.38	516.85	556.97	2.54
[KV110] Ig kappa chain V-I region HK102	53.4	5	1.00	7.14	1.24	4.22	8.12	11.32	2.33
[KV112] Ig kappa chain V-I region Kue	33.0	3	1.00	0.03	0.28	2.46	2.33	2.34	0.40
[KV113] Ig kappa chain V-I region Lay	74.3	1	1.00	0.49	0.89	0.19	1.55	2.20	0.62
[KV120] Ig kappa chain V-I region Mev	50.7	2	1.00	0.01	0.01	0.16	0.28	0.16	0.01
[KV121] Ig kappa chain V-I region Ni	133.7	2	1.00	0.77	0.52	0.52	0.49	1.08	0.38
[KV114] Ig kappa chain V-I region OU	227.6	4	1.00	0.25	0.92	1.40	2.72	4.05	0.89
[KV115] Ig kappa chain V-I region Rei	227.6	3	1.00	0.23	0.92	1.40	1.39	2.62	0.89
[KV116] Ig kappa chain V-I region Roy	227.6	3	1.00	0.23	0.92	1.40	1.39	2.62	0.89
[KV117] Ig kappa chain V-I region Scw	227.6	4	1.00	0.21	0.78	1.42	2.10	2.63	0.78
[KV123] Ig kappa chain V-I region Walker	29.1	1	1.00	8.84	0.38	0.38	516.85	556.97	2.54
[KV125] Ig kappa chain V-I region WAT	227.6	4	1.00	0.25	0.92	1.40	2.72	4.05	0.89
[KV118] Ig kappa chain V-I region WEA	236.9	6	1.00	0.35	1.17	2.47	3.65	3.46	1.38
[KV119] Ig kappa chain V-I region Wes	124.5	3	1.00	0.18	1.73	1.72	2.57	2.86	0.30
[KV201] Ig kappa chain V-II region Cum	156.1	1	1.00	0.26	0.49	0.91	0.73	1.78	0.50
[KV205] Ig kappa chain V-II region GM607	156.1	1	1.00	0.26	0.49	0.91	0.73	1.78	0.50
[KV203] Ig kappa chain V-II region MIL	156.1	1	1.00	0.26	0.49	0.91	0.73	1.78	0.50
[KV206] Ig kappa chain V-II region RPMI 6410	156.1	1	1.00	0.26	0.49	0.91	0.73	1.78	0.50
[KV204] Ig kappa chain V-II region TEW	181.7	3	1.00	0.28	0.41	2.40	0.50	1.62	0.46
[KV301] Ig kappa chain V-III region B6	420.8	10	1.00	0.66	0.81	1.69	1.46	1.90	0.73
[KV308] Ig kappa chain V-III region CLL	85.5	3	1.00	0.57	0.53	0.58	1.80	2.28	0.89
[KV307] Ig kappa chain V-III region GOL	746.2	7	1.00	1.06	1.07	1.21	1.01	1.87	0.68
[KV312] Ig kappa chain V-III region HAH	562.2	5	1.00	0.35	0.89	0.90	0.75	1.21	0.50
[KV313] Ig kappa chain V-III region HIC	562.2	5	1.00	0.35	0.89	0.90	0.75	1.21	0.50

表9. 蛋白質比較定量解析結果:補体因子群③ (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[KV311] Ig kappa chain V-III region IARC/BL41	106.1	1	1.00	0.20	1.24	2.12	2.25	3.71	1.44
[KV303] Ig kappa chain V-III region NG9	145.9	5	1.00	0.62	1.22	1.91	1.81	4.78	1.18
[KV306] Ig kappa chain V-III region POM	122.7	3	1.00	0.72	1.01	1.36	3.18	3.84	1.69
[KV302] Ig kappa chain V-III region SIE	771.7	7	1.00	0.28	0.73	1.21	0.70	1.29	0.39
[KV304] Ig kappa chain V-III region Ti	733.8	6	1.00	0.45	0.84	0.87	0.69	1.43	0.63
[KV309] Ig kappa chain V-III region VG	90.4	4	1.00	0.28	0.52	1.94	1.10	1.41	0.81
[KV310] Ig kappa chain V-III region VH	79.6	2	1.00	0.48	1.63	1.65	3.27	4.09	1.47
[KV305] Ig kappa chain V-III region WOL	771.7	6	1.00	0.35	0.90	1.00	0.84	1.38	0.47
[KV401] Ig kappa chain V-IV region	94.3	4	1.00	0.13	0.33	0.35	0.61	0.41	0.38
[KV404] Ig kappa chain V-IV region B17	94.3	3	1.00	0.24	0.59	0.73	0.98	0.85	0.65
[KV403] Ig kappa chain V-IV region JI	94.3	4	1.00	0.13	0.33	0.35	0.61	0.41	0.38
[KV402] Ig kappa chain V-IV region Len	206.1	6	1.00	0.18	0.43	0.95	0.74	1.13	0.42
[KV405] Ig kappa chain V-IV region STH	79.4	2	1.00	0.04	0.12	0.26	0.55	0.31	0.27
[LAC] Ig lambda chain C regions	814.3	9	1.00	0.57	1.16	1.75	0.78	1.67	1.13
[LV001] Ig lambda chain V region 4A	31.0	1	1.00	0.42	0.82	0.01	0.79	2.09	0.72
[LV107] Ig lambda chain V-I region BL2	32.0	1	1.00	13.20	0.66	1.60	1.16	1.42	1.20
[LV109] Ig lambda chain V-I region EPS	32.0	1	1.00	13.20	0.66	1.60	1.16	1.42	1.20
[LV102] Ig lambda chain V-I region HA	99.8	3	1.00	0.14	0.59	0.34	0.35	0.80	0.30
[LV103] Ig lambda chain V-I region NEW	58.6	2	1.00	4.99	0.97	1.04	1.30	2.95	1.19
[LV105] Ig lambda chain V-I region NEWM	27.0	1	1.00	3.45	0.02	1.31	0.01	1.91	0.75
[LV104] Ig lambda chain V-I region NIG-64	32.0	1	1.00	13.20	0.66	1.60	1.16	1.42	1.20
[LV101] Ig lambda chain V-I region VOR	27.7	1	1.00	0.01	0.00	0.08	0.65	0.15	0.47
[LV106] Ig lambda chain V-I region WAH	99.3	2	1.00	0.12	0.73	0.49	1.52	2.10	0.76
[LV207] Ig lambda chain V-II region BO	27.0	1	1.00	3.45	0.02	1.31	0.01	1.91	0.75
[LV206] Ig lambda chain V-II region MGC	31.7	1	1.00	0.01	0.43	0.00	0.12	0.12	0.19
[LV210] Ig lambda chain V-II region NIG-58	27.0	1	1.00	3.45	0.02	1.31	0.01	1.91	0.75
[LV204] Ig lambda chain V-II region TRO	31.7	1	1.00	0.01	0.43	0.24	0.12	0.12	0.19
[LV209] Ig lambda chain V-II region WIN	31.7	1	1.00	0.01	0.43	0.00	0.12	0.12	0.19
[LV302] Ig lambda chain V-III region LOI	140.7	2	1.00	0.37	0.32	1.16	0.82	2.28	0.56
[LV301] Ig lambda chain V-III region SH	140.3	4	1.00	0.32	0.69	1.41	1.17	1.29	0.62
[LV401] Ig lambda chain V-IV region Bau	25.3	1	1.00	0.01	0.41	0.00	0.00	0.00	0.29
[LV403] Ig lambda chain V-IV region Hil	72.8	1	1.00	0.00	0.32	0.59	0.58	1.28	0.50
[LV405] Ig lambda chain V-IV region MOL	25.3	1	1.00	0.01	0.41	0.00	0.00	0.00	0.29
[LV605] Ig lambda chain V-VI region EB4	105.5	1	1.00	0.05	0.00	0.00	0.11	1.90	0.00
[LV604] Ig lambda chain V-VI region WLT	105.5	1	1.00	0.05	0.00	0.00	0.11	1.90	0.00
[IGHM] Ig mu chain C region	1364.3	27	1.00	0.20	0.32	4.41	0.29	0.47	0.32
[MUCB] Ig mu heavy chain disease protein	1274.0	21	1.00	0.26	0.45	4.90	0.40	0.56	0.42
[FCGBP] IgGfc-binding protein	26.7	1	1.00	0.00	5.81	46.70	29.59	235.57	53.07
[IGJ] Immunoglobulin J chain	68.6	5	1.00	0.27	0.09	1.95	0.16	0.14	0.10
[ISLR2] Immunoglobulin superfamily containing leucine-rich repeat protein 2	28.8	2	1.00	0.50	0.01	0.15	0.12	0.23	0.08
[IGDC4] Immunoglobulin superfamily DCC subclass member 4	30.1	1	1.00	2.97	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
[IGSF2] Immunoglobulin superfamily member 2	28.8	1	1.00	9.76	1.05	0.00	0.22	1.26	0.66
[MASP1] Mannan-binding lectin serine protease 1	169.7	16	1.00	0.98	0.19	9.67	0.28	1.23	0.14
[MASP2] Mannan-binding lectin serine protease 2	128.3	7	1.00	0.86	0.14	8.61	0.59	0.39	0.36

表10. 蛋白質比較定量解析結果:内因系血液凝固活性化リガンド群 (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[CO4A1] Collagen alpha-1(IV) chain	27.3	2	1.00	0.28	0.05	0.64	0.20	2.52	3.37
[CO7A1] Collagen alpha-1(VII) chain	37.3	1	1.00	22.79	1.46	2.22	3.83	29.72	1.79
[COBA1] Collagen alpha-1(XI) chain	26.2	1	1.00	0.16	0.00	0.00	0.67	0.38	0.05
[COCA1] Collagen alpha-1(XII) chain	38.7	2	1.00	0.43	0.37	0.44	2.11	0.26	0.09
[CODA1] Collagen alpha-1(XIII) chain	24.6	1	1.00	0.55	0.29	0.76	0.51	2.08	0.45
[COEA1] Collagen alpha-1(XIV) chain	38.6	2	1.00	0.72	0.01	0.00	0.01	0.18	0.01
[COJA1] Collagen alpha-1(XIX) chain	28.6	2	1.00	0.40	0.00	0.01	1.56	0.00	0.12
[COFA1] Collagen alpha-1(XV) chain	23.3	1	1.00	0.00	11.37	4.39	0.64	3.84	4.55
[COGA1] Collagen alpha-1(XVI) chain	28.4	2	1.00	2.75	1.35	0.11	0.24	1.35	1.11
[COHA1] Collagen alpha-1(XVII) chain	24.4	1	1.00	0.68	0.45	2.51	0.90	3.58	0.61
[COIA1] Collagen alpha-1(XVIII) chain	22.2	1	1.00	47.97	0.00	0.00	1.07	13.09	8.08
[COKA1] Collagen alpha-1(XX) chain	21.1	2	1.00	0.01	0.12	1.92	0.74	0.06	0.04
[COMA1] Collagen alpha-1(XXII) chain	32.3	1	1.00	3.09	4.86	6.25	5.36	9.72	3.67
[CO8A2] Collagen alpha-2(VIII) chain	29.3	2	1.00	0.28	5.88	2.92	2.79	5.70	3.07
[COBA2] Collagen alpha-2(XI) chain	30.1	1	1.00	0.00	0.13	0.00	0.01	0.00	0.01
[CO4A3] Collagen alpha-3(IV) chain	28.6	1	1.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
[CO6A3] Collagen alpha-3(VI) chain	40.2	2	1.00	3.35	2.94	0.16	12.68	12.67	1.75
[CO6A5] Collagen alpha-5(VI) chain	41.7	1	1.00	37.27	2.13	1.97	0.00	8.07	2.67
[CO6A6] Collagen alpha-6(VI) chain	59.0	1	1.00	30.00	7.27	0.14	1.45	8.50	7.01
[FINC] Fibronectin	385.0	23	1.00	1.80	0.19	0.33	0.22	3.38	0.51
[VTNC] Vitronectin	731.6	26	1.00	36.12	2.21	2.24	3.27	4.51	1.65
[VWA2] von Willebrand factor A domain-containing protein 2	25.4	2	1.00	0.01	0.01	0.00	0.08	1.15	0.03
[VWA3A] von Willebrand factor A domain-containing protein 3A	39.6	2	1.00	0.07	0.27	0.33	0.24	0.24	0.15
[VWF] von Willebrand factor	66.3	2	1.00	1.57	0.07	0.36	0.34	4.21	1.47

表11. 蛋白質比較定量解析結果:リポ蛋白質・エラスターゼ群 (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[APOA1] Apolipoprotein A-I	2276.7	52	1.00	2.58	0.99	0.13	0.15	0.72	0.55
[APOA2] Apolipoprotein A-II	1114.4	14	1.00	6.82	0.70	0.19	0.37	1.93	1.14
[APOA4] Apolipoprotein A-IV	2342.2	53	1.00	22.72	1.60	1.82	0.94	6.56	3.62
[APOA5] Apolipoprotein A-V	237.9	13	1.00	1.55	1.02	0.50	0.25	3.27	0.58
[APOB] Apolipoprotein B-100	4134.0	214	1.00	0.31	0.32	0.38	0.37	1.99	0.38
[APOC1] Apolipoprotein C-I	236.8	11	1.00	13.53	1.91	0.08	2.00	2.26	2.43
[APOC2] Apolipoprotein C-II	732.3	11	1.00	73.61	1.58	0.54	3.39	28.40	27.58
[APOC3] Apolipoprotein C-III	1628.8	10	1.00	7.42	0.14	0.07	0.56	0.85	0.98
[APOC4] Apolipoprotein C-IV	342.5	16	1.00	9.29	98.01	0.45	6.59	8.54	8.88
[APOD] Apolipoprotein D	267.7	7	1.00	1.87	0.31	11.54	0.10	1.24	0.19
[APOE] Apolipoprotein E	2322.5	48	1.00	2.58	13.53	4.02	1.10	7.45	1.26
[APOF] Apolipoprotein F	104.1	7	1.00	11.13	3.64	1.23	0.67	4.47	3.22
[APOL1] Apolipoprotein L1	277.0	12	1.00	1.94	2.42	0.93	1.00	3.14	1.96
[APOM] Apolipoprotein M	36.0	2	1.00	0.25	0.17	0.02	0.13	1.48	0.21
[APOA] Apolipoprotein (a)	218.1	7	1.00	0.56	1.30	0.60	0.86	4.99	1.17
[CLUS] Clusterin (Apolipoprotein J)	2341.6	45	1.00	12.45	3.80	1.37	0.35	3.90	1.04
[CETP] Cholesteryl ester transfer protein	1196.4	29	1.00	1.62	3.31	0.67	2.22	20.31	2.06
[LRP10] Low-density lipoprotein receptor-related protein 10	44.8	1	1.00	1.64	1.05	1.17	52.09	1.39	2.41
[LRP1B] Low-density lipoprotein receptor-related protein 1B	23.7	2	1.00	0.20	1.71	1.46	1.65	3.43	0.33
[MMP12] Macrophage metalloelastase	25.3	1	1.00	0.46	1.01	0.03	0.15	0.10	1.01

表 12. 蛋白質比較定量解析結果: サイトカイン群 (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[IRF2] Interferon regulatory factor 2	25.1	1	1.00	12.52	0.05	0.22	2.32	1.11	0.10
[IRF7] Interferon regulatory factor 7	37.8	1	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
[I20L2] Interferon-stimulated 20 kDa exonuclease-like 2	28.3	1	1.00	8.40	0.00	39.45	0.74	53.26	25.69
[ILF2] Interleukin enhancer-binding factor 2	30.5	1	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	51.15	10.94
[I10R2] Interleukin-10 receptor beta chain	17.6	1	1.00	1.52	0.00	0.00	2.14	3.84	0.86
[IL17F] Interleukin-17F	26.6	1	1.00	2.83	0.01	0.00	0.01	2.16	0.08
[IL4RA] Interleukin-4 receptor alpha chain	23.6	1	1.00	44.87	3.49	10.72	10.83	0.00	0.92
[IL5] Interleukin-5	30.3	1	1.00	87.35	0.00	11.09	1.77	30.67	9.36
[IL7] Interleukin-7	26.6	1	1.00	48.81	851.44	561.56	348.72	332.42	181.65
[TNR8] Tumor necrosis factor receptor superfamily member 8	27.3	1	1.00	5.35	0.06	0.82	0.69	1.03	2.44
[TNAP2] Tumor necrosis factor, alpha-induced protein 2	26.4	1	1.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

表 13. 蛋白質比較定量解析結果: 抗凝固作用蛋白質群 (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[ANT3] Antithrombin-III	414.7	23	1.00	0.08	0.01	0.03	0.02	0.05	0.03
[HEP2] Heparin cofactor 2	756.0	28	1.00	0.50	0.30	0.03	0.31	2.34	0.28
[PLMN] Plasminogen	307.1	24	1.00	0.22	0.04	0.07	0.05	0.13	0.02
[PLGB] Plasminogen-related protein B	52.3	3	1.00	0.07	0.01	0.02	0.01	0.00	0.02

表 14. 蛋白質比較定量解析結果: その他の関連因子群 (AP/PP比)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	Relative ratio (sample/plasma)						
			Plasma	PSF	C-PET	CTA	PS	PTFE	UHMWPE
[A2AP] Alpha-2-antiplasmin	191.1	18	1.00	1.38	0.09	0.17	0.25	1.02	0.09
[PLD5] Inactive phospholipase D5	24.8	1	1.00	14.49	28.69	49.53	61.06	74.46	4.41
[ITA1] Integrin alpha-1	32.5	1	1.00	8.50	33.61	3.78	90.73	90.23	47.63
[ITA3] Integrin alpha-3	18.2	1	1.00	0.31	1.13	0.26	1.12	7.06	0.59
[ITA4] Integrin alpha-4	18.3	1	1.00	0.14	0.00	0.26	0.00	0.31	0.06
[ITA7] Integrin alpha-7	27.7	1	1.00	0.00	8.61	2.60	11.00	0.17	1.18
[ITA9] Integrin alpha-9	30.6	1	1.00	6.16	41.42	36.99	25.40	78.96	0.54
[ITAM] Integrin alpha-M	30.6	1	1.00	1.37	5.39	11.92	0.00	0.15	6.81
[ITAV] Integrin alpha-V	27.4	1	1.00	0.05	2.67	1.16	1.03	4.36	0.73
[ILK] Integrin-linked protein kinase	52.2	2	1.00	8.81	9.32	13.15	2.54	5.24	0.65
[ITIH1] Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1	620.6	23	1.00	0.28	0.06	0.02	0.06	0.13	0.08
[ITIH2] Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2	829.4	40	1.00	0.58	0.16	0.14	0.16	1.30	0.10
[ITIH3] Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3	58.2	8	1.00	0.38	0.06	0.28	0.04	0.30	0.06
[ITIH4] Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4	2018.2	65	1.00	2.42	0.92	0.18	2.62	1.18	0.21
[ITH5L] Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein	24.3	1	1.00	7.94	17.04	1.30	7.60	8.11	0.86
[ZPI] Protein Z-dependent protease inhibitor	120.3	8	1.00	4.25	4.81	0.54	3.06	14.25	1.81

表15. 血液凝固関連蛋白質の分類

カテゴリー	蛋白質	カテゴリー	蛋白質
血液凝固因子	第I因子:フィブリノゲン 第II因子:プロトロンビン 第III因子:組織トロンボプラスミン 第IV因子:Ca ²⁺ 第V因子:不安定因子 第VI因子:欠番 第VII因子:プロコンパーチン 第VIII因子:抗血友病因子 第IX因子:クリスマス因子 第X因子:ステュアート因子 第XI因子:血漿トロンボプラスチンアンチシードト 第XII因子:ハーゲマン因子 第XIII因子:フィブリン安定化因子 フレチャー因子 フィッツジェラルド因子	血小板α顆粒 カリクレイン・キニン系 内因系血液凝固活性化リガンド ホスホリパーゼ アラキドン酸カスケード 炎症性サイトカイン エコノミークラス症候群	フィブリノゲン、フォン・ウィルブランド因子(VWF)、凝固第V因子、血小板第IV因子、P-セレクトリン、血小板由来成長因子(ΠΔΓΦ)、フィブロネクチン、α1-アンチトリプシン、β-トロンボグロブリン、トロンボスポンジン等 プレカリクレイン、高分子キニノゲン(Fitzgerald 因子) VWF、コラーゲン、フィブロネクチン、ビトロネクチン PLA ₂ :アラキドン酸合成、血小板活性化因子合成 PLC:イノシトール三リン酸合成 COXタンパク質:PGA ₂ ・PGE ₂ ・PGH ₂ 合成 TNFα、IL-1β:PAI-1及びactive PAI-1放出 赤血球膜第IX因子活性化酵素:エラスターゼ 内因系血液凝固活性化:レムナントリポ蛋白
血小板因子 (第1, 3-9 因子)	第3因子:血小板膜リン脂質 第4因子:Anti-heparin factor (CXC ケモカイン)		
補体関連因子	補体:C1-C9 抗体:IgG、IgM(古典経路) 補助因子:B、D、P 因子、C3Nef(第二経路) マンナン結合因子:MLB、MASP(レクチン経路) 制御系因子:C1INH、β1H、C4BP		

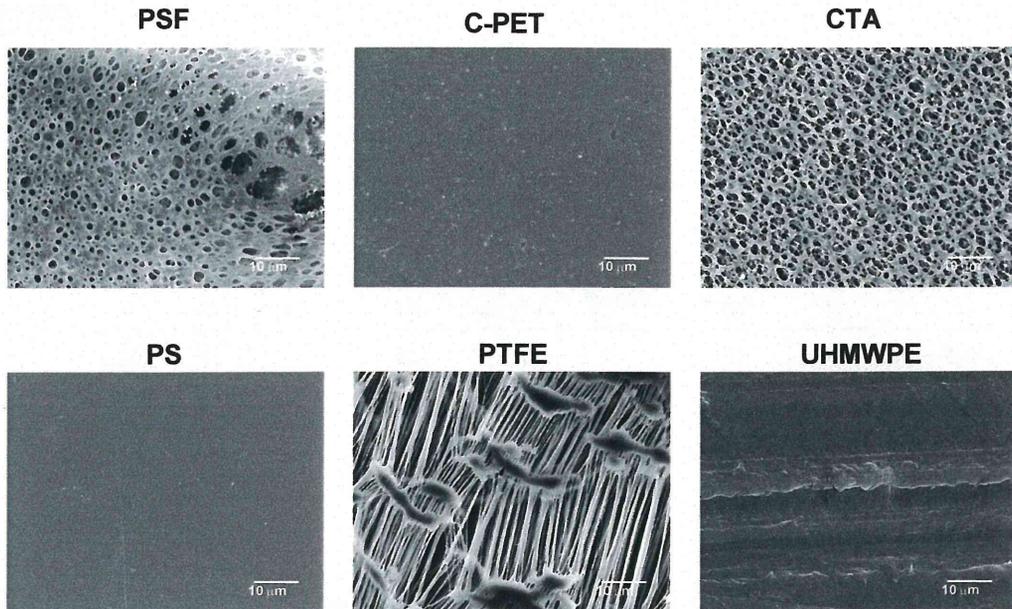


図1. 高分子材料の表面構造

分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

「材料／細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法の開発に関する研究」

分担研究課題名

自己組織化膜を利用したモデル表面材料調製と細胞機能を利用した細胞挙動解析

研究分担者 中岡竜介 国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部 室長

研究要旨

医用材料の生体適合性と材料特性との関連性を考察するため、材料表面特性が細胞に与える影響についての検討を *in vitro* での材料／細胞相互作用解析を通して行っている。今年度は、調製した2官能基モデル表面の特性変化制御について検討を加えるための自己組織化膜形成速度解析と、細胞占有面積が細胞間連絡機能変化に与える影響をさらに考察するためのモデル実験を行った。その結果、試薬に応じた反応速度定数の差は認められたが、最終的に形成される2官能基表面組成との関連性は認められず、2官能基表面組成制御のためには試薬の組合せに応じた反応条件と表面組成との関連性を逐一明らかにする必要性が認められた。一方、モデル実験結果は予測とほぼ同等の傾向を示し、昨年度の結果との比較検討から細胞間連絡機能を阻害しうる官能基の種類が示唆された。

A. 研究目的

医用材料の生体適合性は、種々の溶出物や残留物質等の毒性、微生物汚染に由来する感染因子のほか、材料表面の物理化学的特性に大きく影響される。これは医用材料が、細胞や組織のような生きた生体システムと接触した際、その界面で起こる分子間相互作用を介して生体に何らかの影響を及ぼすためである。医用材料は、生体内に埋植されるとその表面に水やイオンが速やかに吸着し、次いで生体蛋白質の吸着が起こ

る。その後、細胞が材料表面に接着することになるため、医用材料と細胞は吸着蛋白質層を介して相互作用することになる。よって、同蛋白質は材料の機能発現や生体適合性に大きく関与すると考えられる。また、初期のイオン吸着動態は蛋白質吸着のほか、アパタイト形成にも影響すると共に、材料表面の水和状態は血液適合性（抗血栓性）の要因である蛋白質吸着能や細胞接着能のほか、人工関節の耐摩耗性にも深く関与することが示唆されている。本研究は、材料