

科学研究費助成事業(基盤研究(S))公表用資料 [研究進捗評価用]

平成23年度採択分
平成26年3月20日現在

高分子の自己集合を用いる機能材料の創製と 生医学領域への応用

Creation of Functional Materials Using Polymer
Self Assembly and Biomedical Application

明石 満 (AKASHI MITSURU)

大阪大学・大学院工学研究科・教授



研究の概要

本研究では、当研究室が世界をリードしてきた交互積層法(LbL)技術、つまり、ファンデルワールス相互作用・たんぱく質の相互作用などの弱い高分子間相互作用を利用したLbL法を中核として、ナノ粒子やナノ薄膜などの様々な形態の高分子を創製する。これを生医学領域へ応用することを目的としたバイオマテリアル研究へ展開し、化学・高分子化学に立脚した臨床研究基盤科学技術を目指す。

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・高分子化学

キーワード：ナノ構造制御バイオマテリアル、高分子薄膜・表面、交互積層法

1. 研究開始当初の背景

一般的に交互積層法(LbL法)とは、互いに相互作用する高分子溶液へ基板を交互に浸漬することで、基板上にナノレベルの薄膜を調製する手法であるが、我々の研究グループでは、弱い相互作用をこのシステムに導入することに初めて成功した。低分子では弱い相互作用であっても、高分子となることで、分子間相互作用は強く発現する。このことを利用して調製したナノ粒子やナノ薄膜などはバイオマテリアル分野で重要な新しい材料・システムであることを示してきた。

2. 研究の目的

本研究では、世界に先駆けて開発した「弱い高分子間相互作用を利用したLbL法」に関する基礎研究と、これに基づいて高分子機能材料を創製する。また、生体適合性の合成高分子や天然高分子を素材に用いて構造を制御し、安全性が担保された新しい高分子バイオマテリアルへ展開する。さらに、種々の材料の機能評価の後、臨床応用を最終目的とした細胞実験、動物実験を行い、化学・高分子化学に立脚した臨床研究基盤科学技術を構築する。

3. 研究の方法

臨床研究の基盤となる材料を創出するために、弱い高分子間相互作用を示すポリマーを用いたLbL法や交互浸漬法ヒドロキシア

パタイト法を基盤技術として、ナノ構造体を創製したり、インクジェットプリンタを活用したりすることで、機能性バイオマテリアルや三次元細胞組織を構築する。

4. これまでの成果

まずLbL法から得られるナノ薄膜の基礎研究として、ポリメタクリル酸メチル(PMMA)のステレオコンプレックス化を利用したLbL薄膜のナノ構造維持に基板が果たす役割を示した。また、LbL法で調製されるナノカプセルの一次元融合によるナノチューブ形成について、ポリビニルアルコールへ展開した。温度・アセチル化度・膜厚などの諸条件がポリマーの運動性とチューブ形成に関与していることが示された。

また、弱い高分子間相互作用を適用したインクジェットLbL法では、PMMAやポリ乳酸(PLA)のステレオコンプレックス構造体形成に成功し(文献(5))、これにバイオメディカル分野への応用を図り、薬物担持材料に応用できることを示した(文献(2))。さらにレーザー光の技術と組み合わせ、新しいたんぱく質の結晶手法を考案した(新聞掲載)。

これまでにフィブロネクチンとゼラチンの弱いたんぱく質間相互作用を利用して、細胞表面上にナノレベルのLbL薄膜を構築することで細胞間接着させる三次元細胞積層化を報告しているが、ここにインクジェットシステムを適用し、高速で多量の細胞組織チ

ップを作製可能であることを示した（文献(3)）。

一方、ナノ粒子の化学修飾および表面被覆粒子についても成果が得られている。例えば、ボロン酸を表面修飾した疎水化ポリ(γ-グルタミン酸) (γ-PGA) ナノ粒子を用いることで、siRNA キャリア機能を果たすことを示した。次に、細胞内還元環境に応答する刺激応答性ユニマーナノ粒子を使って、抗がん剤キャリア機能を果たすことを示した。

さらに PLA-SC ナノ粒子のワクチンキャリア機能を評価し、細胞性免疫を優位的に誘導することが分かった。

これらに対して、生体適合性高分子素材開発の成果も得られている。例えば PLA-SC の両末端化学修飾をすることで、生分解性高分子素材の耐熱性を評価し、高熱殺菌に耐えることを示した（文献(4)）。さらにモノマーレベルの分子設計から、生体温度付近で応答する感熱応答性生分解性ホモポリマー（文献(6)）や表面の親水性に反応して表面成分が変化する素材を創製した。

また、三次元細胞組織に関して LbL 薄膜の効果を詳細に調べた。まず、基板上に接着した細胞の上にフィブロネクチンとゼラチンまたはデキストラン硫酸による LbL 薄膜を異なる膜厚で構築し、膜厚と生存率との関係を明らかにした。これに対して、単一細胞を LbL 薄膜で覆った場合、遠心分離などの力学的負荷に対して安定性を増すことを見出した。さらに、上述のとおり基礎研究で知見を得たインクジェット LbL 法を三次元細胞組織化へ適用した。また、構築された三次元細胞組織を用いて血管新生を報告した（文献(1)）。

実際に医師主導の臨床研究を行った。例えば、交互浸漬法を用いて調製したアパタイト/アガロースゲルでは、この材料自体が骨化の足場となり、骨に徐々に置換されていることが示唆される観察が得られた。実際に、臼歯部において 5 例、前歯部において 4 例、また上顎臼歯部の際ナスリフトにおいて 25 例の症例を実践し、いずれも経過良好である。

5. 今後の計画

まず基礎研究に関して、インクジェットとフェムト秒レーザーを組み合わせた新しい結晶化技術について、これまでのデータ解析から最適化して、現在よりも良質のたんぱく質結晶を得て、結晶構造解析を達成される見込みである。

また応用研究に関して、インクジェットプリンタを用いることで、PLLA/PDLA からなるステレオコンプレックスの結晶化度を制御することが可能となり、薬物徐放担体としての機能制御や様々な薬物への応用展開が期待される。また、インクジェットプリンタでは任意の溶液を使い、基板を問わず吐出可

能であることから、様々な性状を有する薬剤を用いた 3 次元構造体や鋳型を使った会合体形成にも応用でき、ワクチン抗原を含有したマイクロニードルなどへの適応が期待される。

さらに、LbL 薄膜を用いて種々の三次元細胞組織化を達成しつつあり、構築された組織を用いて臨床研究の基盤となる技術に貢献できる見込みである。

6. これまでの発表論文等（受賞等も含む）

- (1) Akihiro Nishiguchi, Michiya Matsusaki, Yoshiya Asano, Hiroshi Shimoda, *Mitsuru Akashi, “Effects of Angiogenic Factors and 3D-Microenvironments on Vascularization within Sandwich Cultures”, *Biomaterials*, in press.
- (2) Takami Akagi, Tomoko Fujiwara, *Mitsuru Akashi, “Inkjet printing of layer-by-layer assembled poly(lactide) stereocomplex with encapsulated proteins”, *Langmuir* **30**, 1669-1676 (2014).
- (3) Michiya Matsusaki, Kayo Sakaue, Koji Kadowaki, *Mitsuru Akashi, “Three-dimensional Human Tissue Chips Fabricated by Rapid and Automatic Inkjet Cell Printing”, *Adv. Healthcare Mater.* **2**, 534-539 (2013).
- (4) Hiroharu Ajiro, Yi-Ju Hsiao, Tran Han Thi, *Tomoko Fujiwara, *Mitsuru Akashi, “Stereocomplex of poly(lactide)s with chain end modification: simultaneous resistances to melting and thermal decomposition”, *Chem. Commun.*, **48**, 8478-8480 (2012).
- (5) Takami Akagi, Tomoko Fujiwara, *Mitsuru Akashi, “Rapid fabrication of polylactide stereocomplex using layer-by-layer deposition by inkjet printing”, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **51**, 5493-5496 (2012).
- (6) Hiroharu Ajiro, Yoshikazu Takahashi, *Mitsuru Akashi, “Thermosensitive Biodegradable Homopolymer of Trimethylene Carbonate Derivative at Body Temperature”, *Macromolecules*, **45**, 2668-2674 (2012).

他 査読付き論文 計 55 件、
著書 13 件、産業財産権等 15 件、
学会発表 109 件、招待講演 20 件
新聞掲載 3 件
ホームページ等

<http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/~akash-i-lab/>