

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：13903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K05878

研究課題名(和文) 生体内弾性物質エラスチンをベースとする形状記憶高分子に関する研究

研究課題名(英文) Study on shape memory polymers based on biological elastic material, elastin

研究代表者

猪股 克弘 (Inomata, Katsuhiko)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：80232578

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、生体内で弾性的性質を担うタンパク質であるエラスチンに、形状記憶能を付与する手法について検討したものである。形状が元に回復するための成分として架橋したエラスチンを用い、形状を室温で固定するための成分として、熱可塑性を示す高分子との複合化、あるいはエラスチンを疎水化修飾して自身の熱特性を変化させる手法を検討した。結果的にこれらの手法により、生体温度近傍で形状記憶特性を示すエラスチン含有形状記憶ハイドロゲルの調製に成功し、またエラスチンの存在により生体適合性も向上することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、エラスチンのような弾性的性質を有する生体由来物質に、形状記憶特性を付与する手法について検討したものである。本研究の成果から、生体由来物質に限らず、多様な高分子材料に「形状が変化する」という機能を付与する手法に関する知見を得ることができた。また、本研究で得られた生体適合性を持つエラスチン含有形状記憶ハイドロゲルは、生体温度付近で自発的な形状変化を制御することが可能であり、新規バイオマテリアルとしての利用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Novel shape memory polymers based on elastin, one kind of proteins and reveals elastic properties in biological tissue, was investigated. Shape memory characteristics, i.e., shape fixing ability and shape recovery ability, were successfully introduced onto elastin by following methods; (1) composite with acrylic polymers having high glass transition temperature, (2) increase glass transition temperature of elastin by modification of hydrophobic alkyl side chains. As a result, elastin-containing hydrogels showing shape memory characteristics around living body temperature were successfully obtained. Biocompatible characteristics of the hydrogel was improved by the introducing of elastin.

研究分野：高分子化学、高分子構造、高分子物性、形状記憶高分子

キーワード：形状記憶高分子 ハイドロゲル エラスチン 生体由来物質 相互侵入高分子網目

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

形状記憶高分子 (SMP) とは、成形時に与えられた永久形状とは別の形状に変形および固定が可能で、かつ、ある刺激をトリガーとして自発的に永久形状に回復する特性を有する高分子材料である。SMP においては、永久形状への自発的な回復を可能にする「弾性成分」と、一時的な変形形状が永久形状に戻らないように固定化する可逆的な「転移成分」が存在することが必要である [1]。このような特徴は、生体内で形状を変化させて低侵襲性医療を行うカテーテルやステントなどの分野で医療用高分子材料としての応用が期待される。

一方、生体内で弾性的な役割を担うタンパク質であるエラスチンは、その優れた伸縮性や生体適合性などから、組織工学の分野でも注目されている。エラスチン自身は、生体温度 (37 °C) で形状を固定できる特性は無いため、エラスチンを SMP として用いるためには、エラスチンの「弾性成分」としての特性は維持したまま、「転移成分」を導入することが必要である。

2. 研究の目的

本研究では、形状記憶高分子の弾性成分として、生体内タンパク質であるエラスチンを利用し、合成高分子と複合化することで、新規な形状記憶高分子を調製することを目指す。具体的には、以下の3点を研究期間内に明らかにすることを目的とした。

- ・生体内弾性物質と高分子物質との複合化
- ・形状記憶特性の発現機構
- ・調製した試料が示す生体適合性とその発現機構

3. 研究の方法

本研究では、生体内タンパク質であるエラスチンに形状回復成分の役割を担わせ、形状固定成分となる合成高分子を複合化したり、エラスチン自身の熱的性質を変化させたりすることで、形状記憶能を付与することを方針とした。具体的には、(1) 架橋エラスチンと架橋アクリルポリマーとで相互侵入高分子網目 (IPN) 構造を形成する手法、(2) 重合性官能基をエラスチン側鎖に導入してアクリルモノマーとともに重合して架橋させる手法、(3) エラスチンに長鎖アルキル鎖を導入してガラス転移温度 (T_g) を室温以上に向上させる手法、について検討した。

得られた試料の力学的性質や熱的性質、それらに基づく形状記憶特性について、様々な実験手法により明らかにした。また、一部の試料について、生体適合性を評価するために細胞毒性試験を行った。

4. 研究成果

(1) エラスチンとアクリルポリマーの IPN 化

生体由来のエラスチンは、架橋されたままの状態でも市販されている架橋エラスチンと、架橋部位を切断して溶媒に可溶なトロポエラスチンとして市販されている可溶性エラスチンの二種類が入手可能である。後者の方が構造が明確で扱いやすいが、コスト的に高価である。本研究では、両者を出発物質としてハイドロゲルを調製し、その形状記憶特性を評価・比較した。

(1)- 可溶性エラスチンの利用

市販の可溶性エラスチンを溶媒に溶解し、二官能のジイソシアネート化合物であるヘキサメチレンジイソシアネート (HMDI) を加え、エラスチン側鎖のアミノ基と反応させることで架橋した。その後溶液を加熱し、同時に仕込んであったアクリルモノマー (メチルメタクリレート (MMA) と 2-(2-エトキシエトキシ)エチルアクリレート (EEEE)) と架橋剤をラジカル共重合させることにより、架橋エラスチンと架橋アクリルポリマー (P(EEEE-MMA)) が相互に侵入しあった IPN 構造を有するハイドロゲルを得た。調製時の模式図を図 1 に示す。

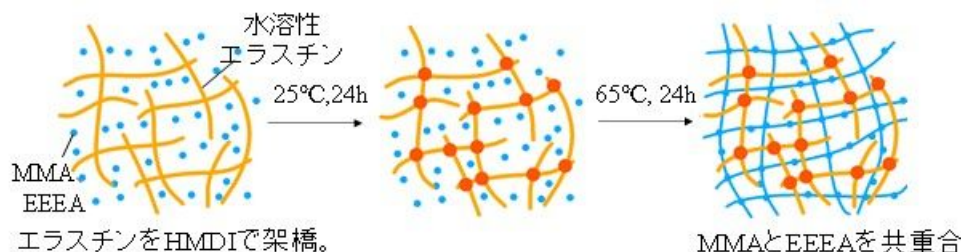


図 1 . 可溶性エラスチンとアクリルポリマーの IPN 化の模式図

エラスチンと P(EEEE-MMA) を IPN 化することで、 T_g を室温以上に有するエラスチン含有ハイドロゲルを調製することができ、その T_g は EEEA と MMA の仕込み重量比を変えることで制御できた。これらの試料は、冷却時のガラス化に伴うミクロブラウン運動の凍結と弾性率増加により形状が固定され、また昇温時の T_g 以上でのセグメント運動の開始と弾性率低下によりエントロピー弾性が発現し形状が回復するような、形状記憶特性を示した。エラスチン、EEEE、MMA の仕

込み比を適切に制御することによって、80~96%の形状固定率 (R_f) と 85~98%の形状回復率 (R_r) を示す、優れた形状記憶エラスチン含有ハイドロゲルを調製することができた。

これらのハイドロゲルは、純粋なエラスチンハイドロゲルの~3.1倍、純粋な P(EEEE-MMA)ハイドロゲルの~58倍の靱性を有していた。この原因として、ダブルネットワークゲルが示す犠牲結合によるものであると考察した。

さらに、ラット大動脈平滑筋細胞に対する細胞毒性試験を行い、生体適合性を評価した。エラスチンと P(EEEE-MMA) からなる IPN ハイドロゲル膜上に播種した細胞は、エラスチンを含まない P(EEEE-MMA)ハイドロゲル膜に比べ、24時間後の生存率が3.1倍向上したことから、エラスチンの存在によって生体適合性が向上したことが示唆された。

(1)- 架橋エラスチンの利用

市販の架橋エラスチンを、MMA、EEEE、架橋剤を含む溶媒で膨潤させ、加熱してラジカル共重合を行うことで、架橋エラスチンと架橋 P(EEEE-MMA) との IPN 化を行った。調製時の模式図を図2に示す。(1)- との違いは、ではまず可溶性エラスチン溶液を架橋させるため、溶液全体にエラスチンネットワークが広がった状態で P(EEEE-MMA) を重合するのに対して、(1)- では、架橋エラスチンは有限のサイズを有しており、それらが P(EEEE-MMA) ネットワーク中に分散しているような構造を取っていることである。

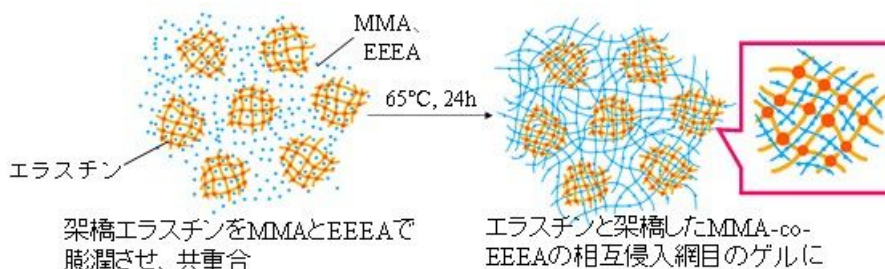


図2. 架橋エラスチンとアクリルポリマーの IPN 化の模式図

得られた試料は、(1)- の試料と同程度の R_f , R_r を示した。特に R_f は、(1)- よりも高い値を示した。これは、マトリックスとして存在している P(EEEE-MMA) が共連続的な構造を取っているため、この成分のガラス化が、系全体の形状を固定化するのに有効であったためと考えられる。このことから、低コストの架橋エラスチンを用いた場合でも、形状記憶特性を有するエラスチン含有ハイドロゲルが得られることが示された。

(2) エラスチンのアクリルポリマーによる架橋

可溶性エラスチンの側鎖に重合性のメタクリロイル基を導入し、溶媒に溶解後にさらに MMA を加え、メタクリロイル基とともに共重合することで、エラスチンがポリメチルメタクリレート (PMMA) で架橋されたゲルを得た。その後蒸留水中で膨潤させることでハイドロゲルを得た。調製時の模式図を図3に示す。

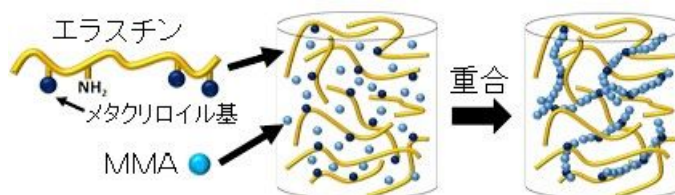


図3. エラスチンをアクリルポリマーで架橋する調製法の模式図

調製したハイドロゲルは、昇温時に広い温度範囲 (5 ~ 60) でガラス転移に伴う弾性率低下が見られたことから、ガラス転移がブロードに起こる系であることが分かった。

このハイドロゲルを 50 で延伸し、そのまま 5 まで冷却して応力を除荷した後の歪量から、形状固定率 R_f を算出した。その後、70 までの昇温過程で形状が自発的に変化する際の歪量から、形状回復率 R_r を算出した。その結果、高い R_f 値 (96~99%) と R_r 値 (78~98%) を有する優れた形状記憶ハイドロゲルが得られたことが分かった。

幅広いガラス転移を示す系で観測される挙動として、多段階の形状記憶挙動を示すことが分かった。図4に示すように、50 での変形を 25 で固定化し、更に、25 での変形を 5 で固定化した。その後昇温すると、25 で一旦二番目の形状に回復し、さらに昇温することで元の形状に完全に回復した。

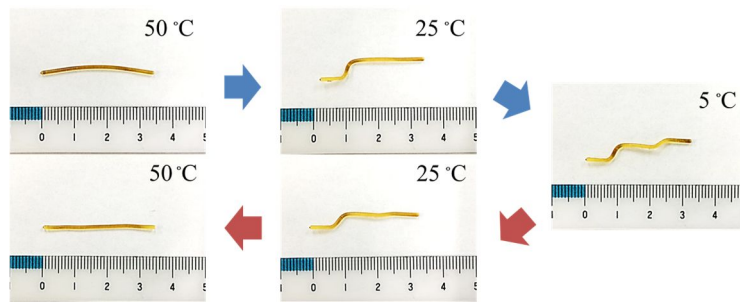


図4. エラスチン含有ハイドロゲルの二段階形状記憶挙動

この試料を、40～60 の任意の温度で変形し、5 に冷却して形状を固定後、歪みを一定に保ったまま 70 まで昇温した際に発生する回復応力を測定した。その結果、変形を行った温度において回復応力が最大値を示すという、温度を記憶する特性を持つことが分かった。このような特性は、ブロードなガラス転移を示す系で報告されているが、本研究のエラスチン含有ハイドロゲルでも同様な挙動を示すことができた。この特性により、ハイドロゲルの回復温度が変形温度により制御でき、また幅広い温度範囲での使用が可能となるため、様々な用途への応用が期待される。

本試料に対しても、ラット大動脈平滑筋細胞を播種した後の生細胞の数を調べたところ、エラスチンを含有することにより生細胞密度が約 4 倍増大したことから、生体適合性の向上が確認された。

(3) 長鎖アルキル鎖の導入

エラスチンを溶媒に溶解した後、二官能のイソシアネート基を有する HMDI にて架橋した。その後、溶媒で希釈した *n*-アルキルイソシアネート ($\text{H}(\text{CH}_2)_x\text{-N}=\text{C}=\text{O}$ 、アルキル基の炭素数 $x = 4, 8, 12$) の溶液に浸し、エラスチン側鎖にアルキル鎖を導入した。蒸留水中で十分に膨潤させてハイドロゲルを得た。模式図を図 5 に示す。

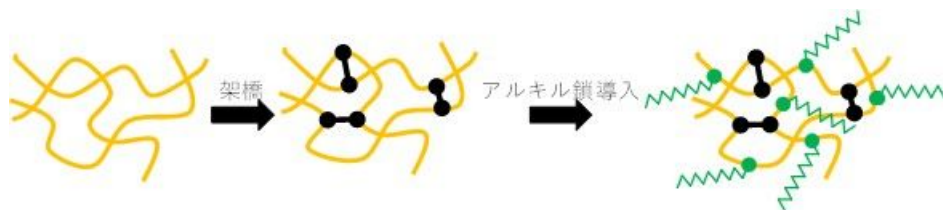


図5. エラスチン側鎖に長鎖アルキル基を導入する調製法の模式図

アルキル鎖の導入により、疎水部の体積分率が増加し、ハイドロゲルの膨潤度は低下した。また、導入前は測定可能温度 (5) 以下に見られたエラスチン主鎖のガラス転移温度 T_g は、アルキル鎖の導入により高温側にシフトし、20 付近に見られた。この結果を受け、以下の形状記憶試験を行った。ハイドロゲルを 50 の等温条件下で歪が 40% になるまで単純伸張し、その状態で 5 まで冷却した後、応力を除荷して測定した歪量から形状固定率 R_f を求めた。その後 50 まで昇温し、平衡に達した時の歪量から形状回復率 R_r を計算した。

結果的に、導入した側鎖アルキル基の鎖長が長いほど T_g が上昇する傾向にあり、そのため、5 で固定化する時の弾性率が大きいため、 R_f がより向上する傾向が見られた。

以上の(1)～(3)の結果から、当初の目的である、生体内タンパク質であるエラスチンを弾性成分として利用し、合成高分子と複合化などの手法により、新規な形状記憶高分子を調製することに成功した。また、形状記憶特性の発現機構や温度記憶特性についても明らかにした。さらに、調製した試料の生体適合性についても、エラスチンの存在により向上することを明らかにした。

本研究で得られた知見は、将来的に、エラスチンの生物活性と、生体温度付近での形状記憶特性を併せ持つバイオマテリアルとして展開可能であり、細胞培養の足場、組織修復材料、人工血管、ステント等への応用が期待される。

< 引用文献 >

[1] 猪股克弘, "形状記憶ポリマーの形状記憶機構と研究動向", 設計工学, 55(2), 92-97 (2020).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Ryuta Azumi, Shogo Nobukawa, Katsuhiko Inomata |
| 2. 発表標題 Shape memory properties of elastin-containing hydrogels |
| 3. 学会等名 IPC2018 (The 12th SPSJ International Polymer Conference) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 中山勇輝, 安住竜太, 信川省吾, 杉本英樹, 杉田修啓, 猪股克弘 |
| 2. 発表標題 エラスチンハイドロゲルの力学物性に及ぼす疎水化修飾の影響 |
| 3. 学会等名 第67回高分子学会年次大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 中山勇輝, 安住竜太, 信川省吾, 猪股克弘 |
| 2. 発表標題 アルキル鎖導入により疎水化したエラスチンハイドロゲルの調製と力学特性 |
| 3. 学会等名 2019年繊維学会年次大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 安住 竜太, 坂本 晃一, 信川 省吾, 杉本 英樹, 中西 英二, 猪股 克弘 |
| 2. 発表標題 エラスチンを用いたハイドロゲルの形状記憶特性 |
| 3. 学会等名 第66回高分子討論会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 安住 竜太, 信川 省吾, 杉本 英樹, 中西 英二, 猪股 克弘 |
| 2. 発表標題 エラスチンを用いた形状記憶ハイドロゲルの調製 |
| 3. 学会等名 第66回高分子学会年次大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Ryota Azumi, Koichi Sakamoto, Shogo Nobukawa, Hideki Sugimoto, Katsuhiko Inomata |
| 2. 発表標題 Shape memory effect of elastin-based hydrogel |
| 3. 学会等名 25th Annual World Forum on Advanced Materials (POLYCHAR 25) (国際学会) |
| 4. 発表年 2017年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|--------------------------------------|---------------------|
| 1. 著者名 猪股克弘 (分担) | 4. 発行年 2020年 |
| 2. 出版社 技術情報協会 | 5. 総ページ数 4 (担当分) |
| 3. 書名 自己修復材料、自己組織化、形状記憶材料の開発と応用事例 | |

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-----------|---|---|----|
| 研究 分担者 | 信川 省吾 (Nobukawa Shogo) (50609211) | 名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・助教 (13903) | |