

令和 3 年 4 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K12074

研究課題名(和文) 血管治療を目的とした生体親和性と界面水との相関理解に基づく分解性機能材料の開発

研究課題名(英文) Development of degradable functional materials based on elucidation of relationship between biocompatibility and surface hydration towards vascular treatment

研究代表者

福島 和樹 (Fukushima, Kazuki)

東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・准教授

研究者番号：70623817

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：生体親和性と生分解性を示す高分子材料は、吸収性の人工血管やステントへの応用が期待され、我が国の死因の上位を占める血管系疾患に対する治療を革新させる可能性がある。本研究では、生体親和性および生分解性の両方に水との相互作用が重要に関連している点に着目し、生分解性を示す従来の脂肪族ポリカーボネートに比べて、より高い血液適合性を示し、また酵素を必要としない加水分解性も示す新規ポリマーの開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では水との相互作用に視点を置いて、高い生体親和性と効率的な生分解性を示す高分子の創製を目標として、戦略的に分子の化学合成を進めた結果、当初計画からの変更もあったが、その過程でこれらの材料が抱える潜在的問題であった出発物質の天然・生体分子由来物質への置き換えが達成された。生体内動態の評価は今後必要であるが、これまでの石油由来の出発物質を用いた機能性脂肪族ポリエステル・ポリカーボネートに比べて、分解生成物に対する安全リスクが低減できる可能性があり、また現在の潮流となっている「脱炭素」社会への貢献にも寄与する技術の基盤としても期待される。

研究成果の概要(英文)：Polymeric materials that exhibit biocompatibility and biodegradability are promising as resorbable stents and artificial blood vessels, and they have a potential to develop more efficient treatments for vascular diseases that occupies more than 25% of cause of death in Japan. This study demonstrates the development of a novel polymer representing high biocompatibility and hydrolytic property with no need of enzymes based on a concept where water mediates interaction of materials and biological system and biodegradability.

研究分野：高分子合成

キーワード：生体親和性 生分解性 機能性材料 バイオマテリアル

1. 研究開始当初の背景

ポリ乳酸などの化学合成系の生分解性ポリマーは、組織の再生に伴って分解吸収される再生型人工器官への応用が長く研究されている。このうち、小口径の血管治療デバイスは、我が国の死因第2位の心疾患に対する治療の他、小児用血管や人工透析用シャントなどでニーズが高く、その開発・革新が求められている。ただし、従来の生分解性ポリマーは、成形加工性や化学修飾性、コスト面に利点があるものの、血小板粘着を抑制する機能(抗血栓性)をはじめとして生体親和性の改善事項が多く、次世代型として期待される再生型人工血管用材料としては、絹フィブロインや脱細胞組織などが先行している。

研究代表者は、抗血栓性に重要とされるエーテル基を側鎖に導入した生分解性ポリカーボネート PMEMTC (図1)を開発し、抗血栓性と生分解性、さらに血管細胞接着性との融合を達成し、再生型人工血管用の候補物質として提案してきた。^[1] また、この PMEMTC に、人工血管に必要なエラストマー特性を付与したポリウレタン PU-CME の開発も報告している。^[2] ただし、人工心肺のコーティングとして実用化されている抗血栓性ポリマー、ポリ(2-メトキシエチルアクリレート) (PMEA)や、血液適合性ポリマーの代表格であるポリ(2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン) (PMPC)と比較すると、その血小板粘着抑制レベルには到達できていない。

連携研究者 田中賢らは、材料界面近傍の水和が血小板や細胞、タンパク質の付着に関わる重要な因子と捉え、水和制御を生体親和性・抗血栓性ポリマーの設計指針としている。田中らは以前に、エーテル基と相互作用する水は抗血栓性に有利で、一方エステルなどのカルボニル基と相互作用する水は抗血栓性に不利な傾向があると報告している。^[3] つまり、主鎖にカルボニル基を繰り返して有する脂肪族ポリエステルやポリカーボネートでは、主鎖への水和が生体親和性には不利に作用している可能性がある。しかしながら、エステル・カーボネート結合は生分解性には必須なため、PMEMTC 以上の抗血栓性を達成するには、主鎖のエステル結合やカーボネート結合と相互作用する水を制御する新たな戦略が必要になると考えられる。

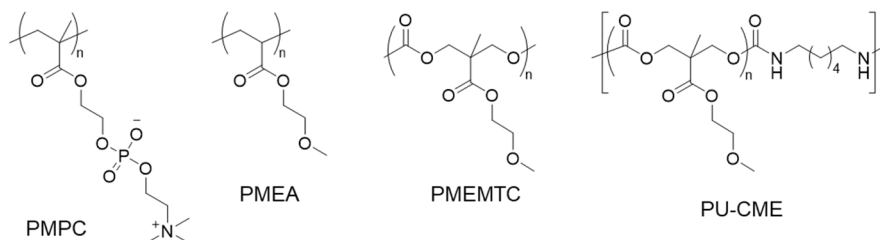


図1. これまでに報告されている血液適合性ポリマーの例

2. 研究の目的

本研究では、血管治療への応用を目指して、上市済みの血液適合性ポリマーである PMEA や PMPC に匹敵するかそれ以上の抗血栓性を示すような分解性ポリマーの開発を最終目標としている。この達成のため、生体親和性と界面水和の相関を理解し、その知見に基づいた材料設計を行う。合成化学的に実現性の高い、研究代表者が既に開発している PMEMTC を基軸とした誘導体を中心に合成し、水との相互作用および各種生物学的機能の評価を行う。そして、再生型の抗血栓性人工血管やステントへの実用的展開、およびそれによる血管治療の発展に貢献する。

3. 研究の方法

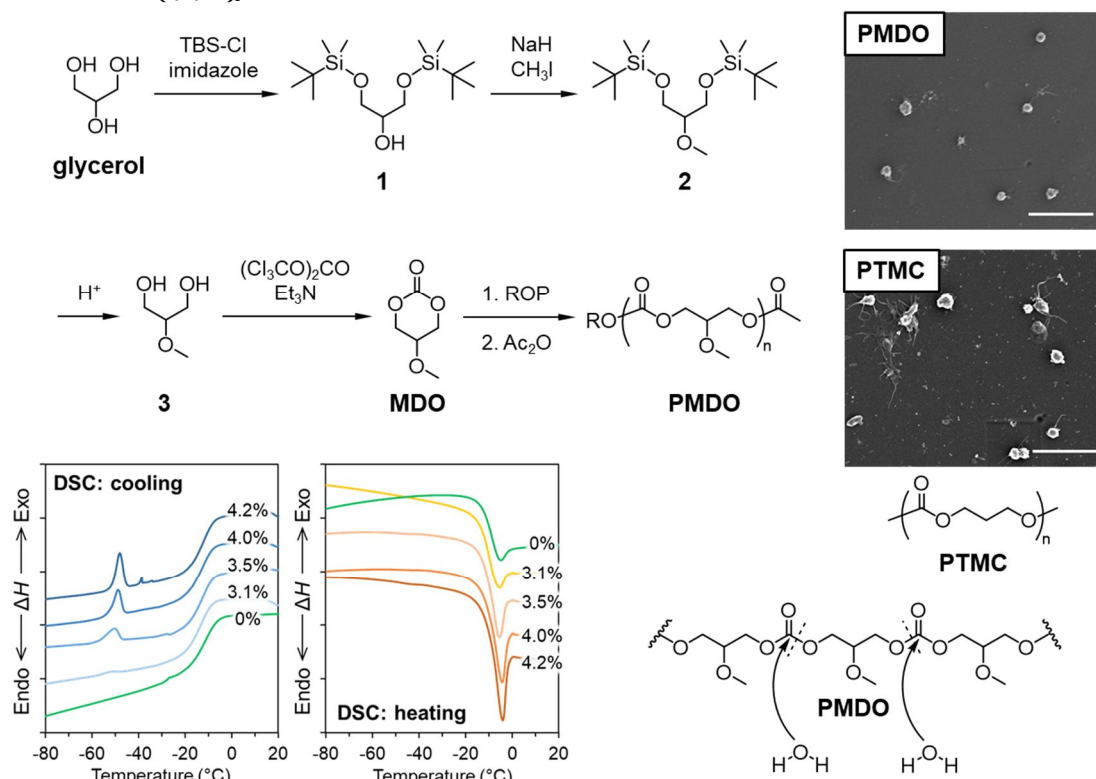
研究代表者がポリマーの設計と合成、および構造解析(NMR, GPC)基礎物性の評価(接触角, DSC)を行い、連携研究者の田中・村上(九州大)の協力の下、生物学的評価(血小板粘着試験, タンパク質定量)を行った。研究分担者 黒田および連携研究者 山下(山形大医)が一部のポリ

マースンプルの生体内動態の評価を行った。動物実験については、「山形大学動物実験規定」に従い、山形大学医学部動物実験センターの承認を受けて実施された。

4. 研究成果

(1) 新規ポリマーの合成

いくつかの検討の結果、天然・生体分子のビルディングブロックとして豊富に存在するグリセロールを出発物質として、側鎖に直接エーテル基を導入した環状カーボネート MDO の合成に成功し、またその有機触媒を用いた開環重合によって最大で数平均分子量 1.4 万の PMDO を得ることができた (図 2)。



ACS Biomater. Sci. Eng. 2021, 7, 472-481

図 2. 新規生体親和性ポリカーボネートの合成と血小板粘着性、含水状態の熱特性、加水分解性

血小板粘着試験の結果、側鎖のない PTMC に比べて、血小板粘着数は有意に減少し (33%)、また粘着血小板の形状は球形のものが多く、変性・活性化は抑制されている傾向が見られた (図 2 右上)。以前に開発した PMEMTC と比較すると血小板粘着数は高い傾向にあるものの、粘着血小板の活性化は低いことから一定の生体親和性を示すポリマーであると考えられる。乾燥状態では透明だが、含水すると白濁し、ある程度の含水性を有することがわかる。含水した PMDO の示差走査熱量測定を行うと、冷却過程において含水率の上昇とともにポリマーとの相互作用により遅延された水の結晶化が -50°C 付近に見られた (図 2 左下)。含水状態の PTMC の DSC 曲線においても同様の水の結晶化は見られるが、PMDO ではそれが $5\sim 10^{\circ}\text{C}$ より低温側に表れていることが分かった。また、より詳細に水と水の分類を行うと、PMDO はより強くポリマー鎖と相互作用する水 (結合水・不凍水) を多く含むことが明らかとなった。PTMC をはじめとして、脂肪族ポリカーボネートの加水分解には酵素の介在が必要で、その挙動は緩やかであると知られている。^[4] PMDO および PTMC をリン酸緩衝液中で 40°C 、2 週間処理した結果、有意な重量減少は確認できなかったものの、水相に PMDO の分解物に相当する低分子が溶出していることが確認された。一方で、PTMC では低分子分解物の溶出は確認できなかった。このことから、PMDO は側鎖のエーテル構造が主鎖のカルボニル基と協同的に水と相互作用した結果、主鎖に

近い位置で水が保持され不凍水量が増加し、またそれが加水分解性の向上にも作用したものと考えられる。

以上の結果は、水との相互作用に有利な置換基を主鎖に近い位置に置くことで主鎖のカルボニル基の水和状態を変化させられることを実証したものであり、今後の生体親和性ポリマーの設計にもフィードバックできる知見を得ることができた。^[5]

(2) PMEMTC 誘導体の合成と評価

生体親和性に有利とされるエーテル構造を主鎖にも導入するため、以前に開発した PU-CME (図1)の合成法^[2]を参考にして、両末端に水酸基を持つ PMEMTC オリゴマーとジエチレングリコールをジオール成分としたポリウレタンの合成を検討した。ポリマーの合成はできたものの、PMEMTC や PU-CME のような高い血小板粘着抑制効果は確認できなかった。

また、新たに1繰り返し単位の主鎖内に分解に寄与する構造と水和に寄与する構造を含み、さらに水和性の側鎖を導入した環状エステル系モノマーを設計・合成した。当初計画の複数の合成経路で問題が生じたが、1種、目標とする構造要素を含むモノマーの生成を確認し、現在、重合性の評価を実施中である。今後も継続的に進め、分子量1万程度のポリマーが得られれば生体親和性の評価と行っていく。

(3) PMEMTC の生体親和性評価

研究分担者 黒田, 連携研究者 山下らによって PMEMTC のラットへの生体内埋入試験を行った。当初はさらに複数のポリマー試料を試験する予定であったが、対象とするポリマーの多くはガラス転移温度が室温以下のため、自己支持性のある固体形状を持たず、ポリマー単体での埋入が難しく、取扱いの問題に直面した。試行錯誤の結果、これまでの *in vitro* 試験と同様に PET シートを下地としたスピンコート膜を埋入試験片として用いる評価系が確立できた。これまでに並行して調べていた埋入後の採血テストにおいて、埋入後1週間後における炎症や臓器障害のレベルが PMEMTC を塗布していない基板に比べて低くなる傾向が見られており、水和制御によって生体親和性を発現するポリマーの生体内における親和性についても期待できる結果が得られた。

参考文献

- [1] *Fukushima, K.; Inoue, Y.; Haga, Y.; Ota, T.; Honda, K.; Sato, C.; *Tanaka, M. “Monoether-tagged Biodegradable Polycarbonate Preventing Platelet Adhesion and Demonstrating Vascular Cell Adhesion: A Promising Material for Resorbable Vascular Grafts and Stents”, *Biomacromolecules*, **2017**, *18*, 3834–3843.
- [2] *Fukushima, K.; Honda, K.; Inoue, Y.; Tanaka, M. “Synthesis of antithrombotic poly(carbonate-urethane)s through a sequential process of ring-opening polymerization and polyaddition facilitated by organocatalysts”, *Eur. Polym. J.*, **2017**, *95*, 728–736.
- [3] *Tanaka, M.; Sato, K.; Kitakami, E.; Kobayashi, S.; Hoshihara, T.; Fukushima, K. “Design of biocompatible and biodegradable polymers based on intermediate water concept”, *Polym. J.*, **2015**, *47*, 114–121.
- [4] *Fukushima, K. “Poly(trimethylene carbonate)-based polymers engineered for biodegradable functional biomaterials”, *Biomater. Sci.*, **2016**, *4*, 9–24.
- [5] Montagna, V.; Takahashi, J.; Tsai, M.-Y.; Ota, T.; Zivic, N.; Kawaguchi, S.; Kato, T.; Tanaka, M.; Sardon, H.; *Fukushima, K. “Methoxy-Functionalized Glycerol-Based Aliphatic Polycarbonate: Organocatalytic Synthesis, Blood Compatibility, and Hydrolytic Property”, *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **2021**, *7*, 472–481.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Valentina Montagna, Junko Takahashi, Meng-Yu Tsai, Takayuki Ota, Nicolas Zivic, Seigou Kawaguchi, Takashi Kato, Masaru Tanaka, Haritz Sardon, and Kazuki Fukushima	4. 巻 7
2. 論文標題 Methoxy-Functionalized Glycerol-Based Aliphatic Polycarbonate: Organocatalytic Synthesis, Blood Compatibility, and Hydrolytic Property	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Biomater. Sci. Eng.	6. 最初と最後の頁 472-481
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsbiomaterials.0c01460	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 福島和樹	4. 巻 38
2. 論文標題 機能性脂肪族ポリカーボネートの設計と生分解性 バイオマテリアルへの展開（特集：2019年度日本バイオマテリアル学会各賞紹介 科学奨励賞）	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 バイオマテリアル -生体材料-	6. 最初と最後の頁 16-17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 3件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 福島和樹
2. 発表標題 機能性脂肪族ポリカーボネートの設計と生分解性バイオマテリアルへの展開
3. 学会等名 第41回日本バイオマテリアル学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福島和樹・高橋順子・Valentina MONTAGNA・箱崎俊太・羽賀悠太・Haritz SARDON
2. 発表標題 バルクバイオマテリアルへの応用を指向したエーテル型側鎖による脂肪族ポリカーボネートの生体親和性向上
3. 学会等名 第29回日本MRS年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuki FUKUSHIMA, Yuta HAGA, Mai SANO, Masashi OJI, Junko TAKAHASHI, Shigekazu YANO
2. 発表標題 Monoether-tagged biodegradable aliphatic polycarbonates as a highly biocompatible building block
3. 学会等名 The 16th Pacific Polymer Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋順子・Valentina Montagna・蔡孟諭・太田貴之・羽賀悠太・土屋遥・田中賢・Sardon Haritz・福島和樹
2. 発表標題 グリセロール由来の生体親和性・生分解性ポリカーボネートの開発
3. 学会等名 日本バイオマテリアル学会東北ブロック講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazuki FUKUSHIMA
2. 発表標題 Degradable functional biomaterials based on aliphatic polycarbonates and/or supramolecular chemistry
3. 学会等名 平成30年度化学系学協会東北大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazuki FUKUSHIMA
2. 発表標題 Functionalized Aliphatic Polycarbonates Towards Nano- And Regenerative Medicine
3. 学会等名 The 8th International Symposium on Polymer Chemistry (PC2018) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺 雄也・高岡 駿矢・羽賀 悠太・福島 和樹・鳴海 敦
2. 発表標題 分解性機能材料への応用に向けた六員環状カーボネートへの機能性官能基の導入に関する新手法の検討
3. 学会等名 日本化学会 第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福島和樹・上面雅義・三谷育恵・加藤隆史
2. 発表標題 生体親和性ポリカーボネート-ポリ乳酸ブロック共重合体の構造解析とバイオ機能との相関
3. 学会等名 第69回高分子学会年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福島和樹・上面雅義・三谷育恵・加藤隆史
2. 発表標題 生体親和性ポリカーボネート/ポリ乳酸トリブロック共重合体のバイオ機能の空間スケール理解に向けた微細構造解析
3. 学会等名 第69回高分子討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福島和樹
2. 発表標題 バイオ応用を指向した官能基化分解性ポリカーボネートの開発
3. 学会等名 繊維学会繊維学会関東支部2020年度 講演会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 福島和樹	4. 発行年 2020年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 560
3. 書名 生分解, バイオマスプラスチックの開発と応用 (第2章 1 6 節 脂肪族ポリカーボネートへの機能化付与と応用・生分解性)	

1. 著者名 Kazuki Fukushima	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Royal Society of Chemistry	5. 総ページ数 648
3. 書名 Organic Catalysis for Polymerization; Chapter 7 “ROP of Cyclic Carbonates”	

〔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	黒田 吉則 (Kuroda Yoshinori) (00534166)	山形大学・医学部・助教 (11501)	

	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
連携研究者	山下 淳 (Yamashita Atsushi) (30571682)	山形大学・医学部・助教 (11501)	
連携研究者	田中 賢 (Tanaka Masaru) (00322850)	九州大学・先導物質化学研究所・教授 (17102)	

6. 研究組織（つづき）

	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
連携研究者	村上 大樹 (Murakami Daiki) (80588145)	九州大学・先導物質化学研究所・助教 (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
スペイン	The University of the Basque Country			