

研究種目：基盤研究（B）  
研究期間：2007～2010  
課題番号：19300170  
研究課題名（和文） 刺激応答型ポリロタキサンを用いた多価リガンド運動性制御に基づく細胞代謝調節  
研究課題名（英文） Modulation of cellular metabolism based on controlling the mobility of multivalent ligands using stimuli-responsive polyrotaxanes  
研究代表者  
由井 伸彦（YUI NOBUHIKO）  
北陸先端科学技術大学院大学・マテリアルサイエンス研究科・教授  
研究者番号：70182665

研究代表者の専門分野：超分子バイオマテリアル  
科研費の分科・細目：人間医工学、医用生体工学 生体材料学  
キーワード：細胞工学、生体機能材料、リガンド導入ポリロタキサン、多価相互作用

### 1. 研究計画の概要

多数の生体認識リガンド導入 $\alpha$ -シクロデキストリン( $\alpha$ -CD)空洞部を貫通したポリエチレングリコール(PEG)-ポリエチレンイミン(PEI)・ジブロック共重合体両末端をキャップしたポリロタキサンを合成し、その外部刺激に応答した $\alpha$ -CD運動性のON-OFF調節から膜タンパク質との多価結合性を制御し、最終的にはリガンド運動性のON-OFF調節に基づいた細胞代謝機能の制御を目指す。線状高分子鎖とCDとの相互作用を任意に制御できる超分子構造因子を明らかにし、リガンド運動性のON-OFF調節とそれによるモデルレセプタータンパク質の分子認識性への影響を検討する。得られた知見をもとに、リガンド運動性調節可能なポリロタキサンの微粒化やナノゲル化などの3次元デバイス加工法を検討し、治療や診断応用可能な基礎的知見を得る。最終的には、外部刺激に応じた膜タンパク質とリガンドとの多価結合性のON-OFF調節によって、細胞内外代謝への影響を明らかにする。

### 2. 研究の進捗状況

これまでに、各種CDと線状高分子鎖との組み合わせからなる擬ポリロタキサンおよびその末端をキャップしたポリロタキサンを合成し、運動性制御の観点から解析を推進してきた。ただし、当初計画していたPEG-PEI・ジブロック共重合体は所望の合成がきわめて困難であることが判明したので、線状高分子鎖に沿ったCD運動性制御の観点から、 $\gamma$ -CDとPEGとからなるルーズフィット型ポリロタキサンを合成して、このポリロタキサンへの水溶性高分子鎖の包接による

CD運動性制御の方向で研究展開している。既に、 $\gamma$ -CDとPEGとからなるルーズフィット型ポリロタキサンの合成単離に成功し、これがPEGやPEIを溶液中で追加包接する可能性をNMRおよび滴定型熱量測定によって検討した。こうした知見は世界に先駆けており、ポリロタキサン of 新しい機能設計の提案として位置づけられるものである。

一方では、生体認識リガンドとしてマンノースを導入したポリロタキサンを合成し、その認識タンパク質であるコンカナバリンAとの多価相互作用を表面プラズモン共鳴分析によって解析した。更には、マンノースレセプターを高発現する細胞として炎症由来サイトカインにより刺激したマクロファージを作製し、マンノース導入ポリロタキサンとの相互作用を発現遺伝子の網羅解析に着目して検討した。こうした知見をもとに、ポリロタキサンを用いることによる多価相互作用性へ及ぼす影響を更に詳細に解明するとともに、リガンド導入ポリロタキサンによる細胞代謝の調節について解析していく。

また、ポリロタキサンのナノ微粒化については、 $\alpha$ -CDとポリ乳酸-PEG・トリブロック共重合体とからなるポリロタキサンの自己集合化による調製に成功し、その表面特性を解析した。

### 3. 現在までの達成度

#### ③ やや遅れている

(理由)

当初計画していたPEG-PEI・ジブロック共重合体の合成は困難であることが判明し、平成21年度中に設計の変更を行った。そのため、当初計画よりもやや遅れている。しか

しながら、平成 21 年度中には $\gamma$ -CD と PEG とからなるルーズフィット型ポリロタキサンの合成に成功し、この刺激応答機能の解析について現在ほぼ順調に進行している。

マンノース導入ポリロタキサンによる細胞機能の検討については、その予備実験がほぼ完了した段階にあり、これについても当初計画よりもやや遅れている。遅れの要因としては、これを研究課題としていた博士課程学生が退学したことによる影響が大きい。しかしながら、現時点では研究実施体制を再構築し、マンノース導入ポリロタキサンとレクチンとの多価相互作用の速度論的解析を進めるとともにマクロファージの応答を解析してきており、平成 22 年度中には計画通りの研究展開が可能であると考えている。

ポリロタキサンのナノ微粒子化については、 $\alpha$ -CD とポリ乳酸-PEG・トリブロック共重合体とからなるポリロタキサンの自己集合化によって調製に成功し、その表面特性を解析した。ただ現状では、表面にリガンドを導入する段階には至っておらず、計画よりもやや遅れていると考えている。

以上を総合して、研究の達成度はやや遅れていると判断した。

#### 4. 今後の研究の推進方策

ルーズフィット型ポリロタキサンの刺激応答機能を主に解析し、その細胞機能実験への適用可能性を検討する。また、マンノース導入ポリロタキサンによるマクロファージ機能調節の特異性を詳細に解析していく。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

- ① K. Nagahama, J. Ohmura, H. Sakaue, T. Ouchi, Y. Ohya, N. Yui, Preparation of nano-aggregates through self-assembly of amphiphilic polyrotaxane composed of PLLA-PEG-PLLA triblock copolymer and  $\alpha$ -cyclodextrin, Chemistry Letter, 39, 250-251, 2010, 査読有
- ② N. Yui, R. Katoono, A. Yamashita, Functional cyclodextrins polyrotaxanes for drug delivery, Advances in Polymer Sciences, 222, 55-77, 2009, 査読有
- ③ N. Yui, Supramolecular mobility in polyrotaxanes exploits biomedical functions, Macromolecular Symposia, 279, 158-162, 2009, 査読有
- ④ Y. Ohya, S. Takamido, K. Nagahama, T. Ouchi, R. Katoono, N. Yui, Polyrotaxane composed of poly-L-lactide and alpha-cyclodextrin exhibiting protease-triggering hydrolysis,

Biomacromolecules, 10, 2261-2267, 2009, 査読有

- ⑤ A. Takahashi, R. Katoono, N. Yui, Loose-Fit Polyrotaxane Composed of  $\gamma$ -CD and Single PEG Chain: Making Room in  $\gamma$ -CD Cavity for Additional Inclusion Complexation, Macromolecules, 42, 8587-9589, 2009, 査読有
- ⑥ 由井伸彦, ポリロタキサンの動的特性を活かしたバイオマテリアル機能設計, 高分子, 58, 678-681, 2009, 査読無

[学会発表] (計 12 件)

- ① N. Yui, Exploiting polyrotaxane structures as advanced biomaterials, JAIST-CNSI Workshop, 2010 年 1 月 18 日, 北陸先端科学技術大学院大学
- ② 由井伸彦, バイオマテリアルとしての動的表面設計, 第 10 回リング・チューブ超分子研究会, 2009 年 12 月 11 日, 東京大学柏キャンパス
- ③ 高橋明裕, 上遠野亮, 由井伸彦, PEG と  $\gamma$ -CD からなる 1 分子鎖 “すかさず” ポリロタキサン, 第 26 回シクロデキストリンシンポジウム, 2009 年 9 月 9 日, 宇都宮市民ホール
- ④ 大矢裕一, 長濱宏治, 高御堂成剛, 坂上浩美, 大内辰郎, 由井伸彦, ポリ乳酸を主軸とする生分解性ポリロタキサンのプロテアーゼをトリガーとした超分子解離による分解挙動, 第 38 回医用高分子シンポジウム, 2009 年 7 月 27 日, 東京大学先端科学技術研究センター
- ⑤ 齋藤祐介, 山口順, 上遠野亮, 三浦佳子, 由井伸彦, 糖鎖導入ポリロタキサンの多価相互作用への寄与, 第 38 回医用高分子シンポジウム, 2009 年 7 月 27 日, 東京大学先端科学技術研究センター

[図書] (計 1 件)

- ① 由井伸彦 (分担執筆), エスティーエス, 超分子サイエンス&テクノロジー (国武豊喜・監修), 2009 年, 1186-1191 (総ページ数 1340)