

機関番号：12601
 研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：平成19年度～平成21年度
 課題番号：19350075
 研究課題名（和文） バイオベース高分子の高強度繊維及びナノファイバーの作製と生体内及び環境分解性評価
 研究課題名（英文） Bioabsorption and environmental degradation of high strength fibers and nanofibers of bio-based polymers
 研究代表者
 岩田 忠久（IWATA TADAHISA）
 東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授
 研究者番号：30281661

研究成果の概要（和文）：糖や植物油などのバイオマスから生産される微生物産生ポリエステルおよびポリ乳酸を研究対象とし、新規成形加工法を開発することにより、高強度繊維およびナノファイバーを作製することに成功した。これらの繊維の機械的物性を評価するとともに、大型放射光(SPring-8)のマイクロビーム X 線回折や X 線トモグラフィーの手法を用いて、分子構造、結晶構造および内部構造の解析を行った。さらに、これらのマウスを用いた生体内吸収性試験および土中環境分解性試験を行った。

研究成果の概要（英文）：High tensile strength fibers and nanofibers were processed from microbial polyesters and poly(lactic acid) produced from renewable resources as sugar and plant oil. Mechanical properties were investigated and molecular, crystal and inner structures were analyzed by using micro-beam X-ray diffraction and X-ray micro-tomography techniques in SPring-8. Furthermore, bio-absorbability of nanofibers in rat and environmental degradability of monofilament in soil and were demonstrated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	7,800,000	2,340,000	10,140,000
2008年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2009年度	2,700,000	810,000	3,510,000
年度			
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：環境関連化学

キーワード：バイオベース高分子、生分解性高分子、高強度繊維、ナノファイバー、分子鎖構造、酵素分解、生体内分解、環境分解

1. 研究開始当初の背景

近年、大気中の二酸化炭素増大による地球温暖化、石油などの化石資源の枯渇、プラスチック廃棄物による環境汚染など、高分子材料が関係する地球環境と資源・エネルギーに関する諸問題が提起され、地球環境と調和する人間社会の形成に「環境循環型高分子の創成および高機能化」が世界的な課題となっている。これまで

プラスチックの廃棄問題を解決するための有力な方法は、自然環境中に存在する微生物により完全に水と二酸化炭素に分解される生分解性高分子の開発であった。しかし、これまで主に実用展開されている生分解性高分子の多くは、石油から合成されたポリエステルである。

有限化石資源の有効利用と環境保全の観点から、新たに開発すべき環境循環型高分子は、

単に自然環境中で分解されることにとどまらず、糖や植物油などの再生産可能資源（バイオマス）から生産できるバイオベース高分子でなければならない。さらに、環境循環型高分子の観点から、バイオベース高分子と生分解性高分子の両方の特性および機能を有する高分子材料の基礎、開発、実用化研究が今後最も重要な研究課題になると考えられる。研究開発当初から現在に至るまで、環境循環型高分子は、物性、材料への加工性、生産コスト、生分解性速度の制御など多くの課題を抱えており、これらを解決するための基礎研究が特に望まれている。

2. 研究の目的

現在研究開発が積極的に進められているバイオベース高分子は、トウモロコシなどのデンプンより、発酵合成と化学合成により生産されるポリ乳酸である。ポリ乳酸は、フィルムなどへの成形加工性、透明性など優れた特徴を有するが、融点（170℃）が低い、対衝撃性が小さい、生体内や高温多湿でのコンポスト中では分解するが、海水や土壌などの自然環境中では分解しないという様々な問題点も併せ持っている。

ポリ乳酸の耐熱性や耐衝撃性を向上させる方法として、ステレオコンプレックス化が挙げられる。立体規則性の異なる2種類のポリ乳酸（ポリ(L-乳酸)とポリ(D-乳酸)）を混合すると、結晶格子中に2種類の分子鎖が交互に配列し、融点が230℃にまで上昇する。しかしこれまで、ステレオコンプレックス結晶のみで形成される材料は作製されておらず、必ずホモポリマー結晶が混在し、不均質な材料となり、残念ながら物性の大幅な向上にはつながっていない。

ポリ乳酸に次ぐバイオベース高分子として、糖や植物油などのバイオマスを炭素源として微生物により生合成される微生物産生ポリエステル（ポリヒドロキシアルカン酸（PHA））が挙げられる。現在、炭素源の種類を変えることにより、長鎖の側鎖を有するものから芳香環を有するものまで150種類以上のPHAが報告されている。PHAは、自然環境中の微生物の分泌する酵素により、水と二酸化炭素にまで完全に分解されるが、材料への加工性に乏しく、高強度繊維やフィルムへの報告例は皆無に等しい。

研究代表者は、PHAの代表であるポリ[(R)-3-ヒドロキシブチレート]（P(3HB)）を遺伝子組み換え大腸菌を用いて重量平均分子量500万以上の超高分子量化し、冷延伸・二段階延伸法を開発することにより、手術用縫合糸や釣り糸に利用できる破壊強度1GPa

を越える高強度繊維の開発に成功した。

本研究では、ポリ乳酸ステレオコンプレックスと様々な側鎖構造、官能基、分子量を有する微生物産生ポリエステルを研究対象とし、新規な成形加工技術の開発による高耐熱性および高強度繊維の作製と医用材料への応用を目的とした電解紡糸法によるナノファイバーの作製を行うと共に、それらの生体内および環境中での分解性に関する基礎的知見を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

本課題は、大きく4つの研究から構成されている。

- (1) ポリ乳酸ステレオコンプレックスおよび微生物産生ポリエステルの高強度繊維の作製
- (2) ポリ乳酸ステレオコンプレックスおよび微生物産生ポリエステルのナノファイバーの作製
- (3) 高強度繊維およびナノファイバーの物性および構造解析
- (4) 高強度繊維およびナノファイバーの生体内および環境分解性の評価

4. 研究成果

- (1) 高強度繊維の作製と物性および構造解析
糖や植物油から微生物により発酵生産される微生物産生ポリエステルから新たに開発した微結晶核延伸法により、繊維中にマイクロポアを有する破壊強度1GPaを有する高強度繊維を作製した。この高強度繊維は釣り糸や手術用縫合糸としての利用が期待されている。
X線回折より、高強度繊維中には2種類の分子鎖構造（らせん構造と平面ジグザグ構造）が存在することがわかり、これまで明らかにされていない平面ジグザグ構造を有する分子鎖からなる結晶（β構造）の構造解析を世界に先駆けて行った。β構造は、結晶系は斜方晶系、格子定数は $a=0.528\text{nm}$ 、 $b=0.920\text{nm}$ 、 c （繊維軸） $=0.469\text{nm}$ 、単位胞中に2本の分子鎖を有し、計算値密度は 1.254g/cm^3 であることがわかった。

さらに、大型放射光（SPring-8）施設のX線トモグラフィの手法を用いて、マイクロポア形成機構の解明を行った。その結果、マイクロポアの占有率を考慮すると理論的な計算強度は実測値の2倍以上となることを見出した。

- (2) 高強度繊維の酵素分解性と環境分解性評価

微結晶核延伸法により作製した2種類の分子鎖構造を有する高強度フィルムを用いて酵

素分解実験を行い、分子鎖構造が酵素分解に及ぼす影響について検討を行った。その結果、平面ジグザグ構造の方がらせん構造より分解速度が速いことがわかった。

さらに、環境分解性試験として、高強度繊維の海水分解性評価を行ったところ、約1ヶ月で完全分解されることがわかった。

(3) 高強度繊維への薬物含浸と除放性

作製したマイクロポア繊維に薬物の含浸を試みた。抗生物質のひとつであるバンコマイシンをDMSO中に溶解させ、様々な条件下で繊維内部への浸透を試みた。その結果、温度を少しかけることでゆっくりではあるが薬物が浸透することがわかった。

この薬物含浸繊維を、微生物産生ポリエステル分解酵素で繊維を分解させることにより、薬物の除放性について検討を行った。薬物除放性については、分光光度計を用いてバンコマイシンの吸光度の時間的変化を観察することにより評価した。その結果、酵素により繊維が分解されるにつれ、薬物がゆっくり除放されることがわかり、目的とした効果を発現できることがわかった。

(4) ナノファイバーの作製

P(3HB)と3種類のP(3HB)共重合体から、エレクトロスピンニング(電解紡糸法)によりナノファイバーを作製した。ポリマー濃度を変えることにより、ナノファイバーの径を200~600nmでコントロールすることができた。さらに、一本のナノファイバーの電子回折から、ナノファイバー中で分子鎖が配向していることを明らかにした。

また、バイオベース高分子として最も研究が盛んに行われているポリ乳酸についてもナノファイバーの作製を行った。特に、通常のポリ乳酸より融点が50度近く高い、ポリ乳酸ステレオコンプレックスのナノファイバー作製に成功した。現在、ナノファイバーを用いた生体内分解性評価を行っている。

(5) ナノファイバーの生体吸収性評価

P(3HB)及びその共重合体から作製したナノファイバーマットをラットの背中に埋入し、一定時間経過ごとの分子量、形態、周辺細胞の炎症反応などを調べた。その結果、生体内吸収性速度は、共重合体の種類および組成によりコントロールすることが出来ることがわかった。さらに、埋入直後は周辺細胞に炎症反応が認められたが、ナノファイバーが吸収されるにつれ、炎症が治まることがわかった。生体適合性と生体吸収性速度の制御された優

れた材料を作製するための重要な知見を得ることが出来た。

(6) ナノファイバー1本の物性評価

これまでナノファイバーの物性は、ナノファイバーの直径がナノオーダーであるため、繊維一本の物性を測定することが出来ず、ナノファイバーマット全体の物性を測定することしかできなかった。今回我々は、原子間力顕微鏡のカンチレバーを用いて、ナノファイバー一本の物性を測定することに成功した。シリコンウエハ上に数マイクロメートルの溝を刻んだ基盤を用意し、その上でナノファイバーを作製した。カンチレバーの先端で溝にかかったナノファイバーの中心を押す三点曲げ試験を行うことにより、カンチレバーのフォースカーブから、単繊維の曲げ弾性率を測定することに成功した。その結果、直径が細くなるにつれ、急激に曲げ弾性率が上昇することがわかった。

5. 主な発表論文等

(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14件)

Left or right-handed lamellar twists depend on twist axis in poly[(R)-3-hydroxyvalerate] banded spherulite: Hai-Mu Ye, Jun Xu, Bao-Hua Guo, and Tadahisa Iwata; *Macromolecules*, **42**, 694-701 (2009).

In vivo tissue response and degradation behavior of PLLA and stereocomplexed PLA nanofibers: Daisuke Ishii, Tang Hui Ying, Atsushi Mahara, Sunao Murakami, Tetsuji Yamaoka, Won-ki Lee, and Tadahisa Iwata; *Biomacromolecules*, **10**, 237-242 (2009).

生分解性プラスチックとしてのセルロースのこれから: 岩田忠久; *木材工業* **64**, 160-165 (2009).

生分解性バイオマスプラスチックの高性能化に向けた材料設計: 岩田忠久; *未来材料* **4**, 18-23 (2009).

Biodegradability of poly(hydroxyalkanoate) materials: Keiji Numata, Hideki Abe and Tadahisa Iwata; *Materials*, **2**, 1104-1126 (2009).

Characterization and biocompatibility of biopolyester nanofibers: Daisuke Ishii, Tank Hui Ying, Tetsuji Yamaoka and Tadahisa Iwata; *Materials* **2**, 1520-1546 (2009).

ナノ構造制御による生分解性バイオマスプラスチックの高機能化: 岩田忠久; 日本接着学会, **45**, 357-364 (2009).

Scaffolds from electrospun polyhydroxyalkanoate copolymers: Fabrication, characterization, bioabsorption and tissue response: Tang Hui Ying, Daisuke Ishii, Atsushi Mahara, Sunao Murakami, Tetsuji Yamaoka, Kumar Sudesh, Razip Samian, Masahiro Fujita, Mizuo Maeda and Tadahisa Iwata; *Biomaterials*, **29**, 1307-1317 (2008).

Stereocomplex formation through reorganization of poly(L-lactic acid) and poly(D-lactic acid) crystals: Masahiro Fujita, Tomoharu Sawayanagi, Hideki Abe, Toshihisa Tanaka, Tadahisa Iwata, Kazuki Ito, Tetsuro Fujisawa, and Mizuo Maeda; *Macromolecules*, **41**, 2852-2858 (2008).

Sustainability of biobased and biodegradable plastics: Kumar Sudesh and Tadahisa Iwata; *Clean*, **36**, 433-442 (2008).

Morphological study, thermal treatment and degradation behaviors of solution-grown poly(L-lactide) single crystals: Won-ki Lee and Tadahisa Iwata; *Ultramicroscopy*, **108**, 1054-1057 (2008).

Mechanical properties and enzyme degradation for poly[(R)-3-hydroxybutyrate] fibers stretched after isothermal crystallization near T_g: Toshihisa Tanaka, Tomomi Yabe, Shinya Teramachi, and Tadahisa Iwata; *Polymer Degradation and Stability*, **92**, 1016-1024 (2007).

Analysis of inner structure in high-strength biodegradable fibers by X-ray microtomography using synchrotron radiation: Toshihisa Tanaka, Kentaro Uesugi, Akihisa Takeuchi, Yoshio Suzuki, and Tadahisa Iwata; *Polymer*, **48**, 6145-6151 (2007).

Fine structure and enzymatic degradation of poly[(R)-3-hydroxybutyrate] and poly(lactide) stereocomplex nanofibers: Daisuke Ishii, Won-ki Lee, Ken-ichi Kasuya, and Tadahisa Iwata; *Journal of Biotechnology*, **132**, 318-324 (2007).

[図書] (計 6 件)

Chapter 8: Nanotechnology on biodegradable polymers: Yoshihiro Kikkawa, Masahiro Fujita, and Tadahisa Iwata; *Bottom-up Nanotechnology: Supramolecules, Self-Assemblies, and Organized Films, Supermoleculae II*, edited by K. Ariga and H.S. Nalwa, pp. 223-244, American Scientific Publishers (2009).

Tadahisa Iwata and Toshihisa Tanaka: Plastics from Bacteria: Natural Functions and Applications, Microbiology Monographs, Chapter 11: Manufacturing of PHA as fibers, pp. 258-282, Ed. Guo-Qiang Chen, Springer (2009).

第 2 編 化学材料・プロセス編、第 14 章 微生物産生ポリエステル: 岩田忠久、柘植丈治; ホワイトバイオテクノロジー: エネルギー、材料の最前線、木村良晴、小原仁実監修、シーエムシー出版、pp. 142-157、2008 年発行

バイオプラスチックの高機能化・再資源化技術、第 1 編バイオプラスチックの基礎物性: 岩田忠久; エヌ・ティー・エス、63-76 (2008)

未来を拓く生分解性バイオマスプラスチック-微生物による生合成から生分解まで-、: 岩田忠久; 人と環境にやさしい材料化学、尾崎幸洋編、丸善、93-111 (2008).

第 25 章: バイオポリエステルの構造、物性および生分解性の制御: 岩田忠久; 植物由来プラスチックの高機能化とリサイクル技術、サイエンス&テクノロジー、pp.226-234 (

[学会発表] (計 16 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩田 忠久 (IWATA TADAHISA)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号: 30281661

(2) 研究分担者

山岡 哲二 (YAMAOKA TETSUJI)

国立循環器病センター・生体工学部・部長

研究者番号: 501243126

(2007 年度のみ)

(3) 連携研究者

なし