

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15343

研究課題名(和文)ポリグルタミン酸を用いた新規デュアル刺激応答性ハイドロゲルの創製

研究課題名(英文)Development of a novel dual stimulus-responsive hydrogel using polyglutamic acid

研究代表者

徐 于懿 (Hsu, Yu-I)

大阪大学・工学研究科・助教

研究者番号：10757678

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：刺激応答性ゲルを医療分野や環境関連分野に利用するためには、シグナルとなる分子を認識して体積変化する分子刺激応答性ゲルの開発が重要である。特に、生体内の各組織に対して機械的強度が異なるため、各組織に適用できる機械的強度を持つハイドロゲルの開発が必要となる。本研究では、納豆菌によって生産されたポリ- $\gamma$ -グルタミン酸(PGA)を基盤とした刺激応答性ハイドロゲルを創製し、注射可能な細胞スキャホールドへの応用を目指した。PGA主鎖に様々な機能団を搭載することにより、ゲル化時間とゲル強度を制御でき、良好な生体接着性を示した注射可能なハイドロゲルを創製した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではPGAを基盤とした新規デュアル刺激応答性ハイドロゲルを創出する。温度応答性と酵素応答性を搭載したPGAゲル前駆体は申請者独自の発想であり、導入した機能性分子の導入率あるいは刺激条件を制御することにより、ハイドロゲルのゲル化時間とゲルの機械的強度を簡単に制御できた。また、酵素応答と温度応答のデュアル刺激応答ハイドロゲルは中性領域で細胞に影響の少ない添加剤(ビスマレイミド)と酵素の添加や多少の加温でゲル化時間と機械的強度が制御できる。側鎖にカルボン酸を有するPGAを主鎖とすることで生分解性機能とゲル化時間・ゲル強度の制御機能を共にスキャホールドに搭載できる点も大きな特徴である。

研究成果の概要(英文)：To utilize the stimulus-responsive gel in the medical field and environment-related fields, it is important to develop a stimulus-responsive gel that recognizes a signal molecule to change its volume. Since the mechanical strength is different for each tissue in the living body, it is necessary to develop a hydrogel having controllable mechanical strength to applicate to each tissue. In this study, stimulus-responsive hydrogels were developed based on poly- $\gamma$ -glutamic acid (PGA) produced by *Bacillus subtilis* var. natto and aim to apply it to injectable cell scaffolds. By introducing various functional groups on the PGA main chain, injectable hydrogels having controllable gelation time and gel strength, good degradation behavior, peptide release behavior, and bioadhesion were developed.

研究分野：高分子合成

キーワード：ポリ( $\gamma$ -グルタミン酸) 注射可能なヒドロゲル 自己修復 生分解性 組織工学

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

納豆菌によって生産された PGA は分子量が数万から数百万と高く、PGA 塩は高水溶性、高親水性であり、優れた生分解性を示す。PGA 塩は分子量が高くなるほど粘度、吸湿性が高くなるため、食品分野での増粘剤、化粧品分野での保湿剤、医療分野でのドラッグデリバリーシステム(DDS)担体や創傷被覆材としての応用が期待される。本研究では PGA の用途拡大を目指し、PGA を基盤とした刺激応答性ハイドロゲルを創製し、インジェクタブル細胞スキャホールドへの応用を目指す。ゾル状態の細胞懸濁液は注射によって体内への注入でき、体内に入れるとゲルが形成して網目構造が細胞の足場になって細胞が増殖し、組織再生が可能となる。

ハイドロゲルは水に膨潤した物理的または化学的に架橋された高分子三次元網目構造であり、これまで報告されている刺激応答性ゲルの多くは pH や温度などの物理化学的な環境変化に応答するゲルである。しかし、刺激応答性ゲルを医療分野や環境関連分野に利用するためには、シグナルとなる分子を認識して体積変化する分子刺激応答性ゲルの開発が重要である。特に生体内の各組織に対して機械的強度が異なるため、各組織に適用できる機械的強度を持つハイドロゲルの開発が必要となる。本研究では生体応用できる刺激応答性ハイドロゲルを創出するため、主基材として PGA を選択し、その側鎖に機能団を導入する。異なる機能団を導入することにより、デュアル刺激応答性ハイドロゲル前駆体は異なる環境に応じてゲル化できるため、生体内で応用しやすい温度応答性と酵素応答性を利用する。温度応答性により瞬時ゲル化した後、酵素反応によりハイドロゲルの機械的強度を制御できるように設計する。このようなデュアル刺激応答性ハイドロゲルの前駆体構造や硬化条件を変えることでゲル強度を自在に制御し、広範囲に利用できるインジェクタブル細胞スキャホールドへの応用を目指す。

### 2. 研究の目的

本研究では PGA を基盤とした新規デュアル刺激応答性ハイドロゲルを創出する。温度応答性と酵素応答性を搭載した PGA ゲル前駆体は申請者独自の発想であり、導入した機能性分子の導入率あるいは刺激条件(温度、酵素濃度)を制御することにより、ハイドロゲルのゲル化時間とゲルの機械的強度を検討する。申請者グループの先行研究では、酸化還元酵素の一種である西洋わさびペルオキシダーゼ(Horseradish Peroxidase; HRP)を触媒に用いて種々のフェノール誘導体の酸化カップリングを行い、フェニレンユニットとオキシフェニレンユニットからなる新規フェノールポリマーを合成することに成功している。この重合は合成する際に毒性が問題視されているホルマリンを用いる必要がなく、このポリマーは従来の化学的な合成法では合成困難なものであることから、酵素触媒重合の有用性が示されている。また、この知見をバイオポリマーの架橋に展開している。フェノール基を導入した PGA は酵素触媒により瞬時に硬化し、膨潤率は最大 200 倍に達し、フェノール基の導入率や  $H_2O_2$  量でゲルの膨潤率や機械的強度を制御できた。本研究では納豆由来の PGA ハイドロゲルを生体内に應用できるように、酵素触媒(HRP/ $H_2O_2$ )によるフェノール基間の酸化カップリングに加え、フルフリル基とマレイミド基の Diels-Alder 反応を元に、酵素添加と温度刺激により瞬時にゲル化させるとともに機械的強度を自在に調整する。このようなデュアル刺激応答性ゲルの開発における申請者独自の分子設計の妥当性検証が最重要の目的となり、最終的に、広範囲にゲル化時間、機械的強度、膨潤率を制御でき、細胞スキャホールドに應用できるハイドロゲルの創製が本研究の最大の特徴になる。

### 3. 研究の方法

上記の PGA を基盤としたハイドロゲルを創製するため、(1)PGA 側鎖への機能団(フェノール基とフルフリル基)の導入率制御と両機能団を導入した PGA ハイドロゲルのデュアル刺激によるゲル化時間・温度、ゲルの機械強度・膨潤率の制御(2)ヒドラジド修飾 PGA および酸化コンドロイチン硫酸を使用して、アシルヒドラゾン結合およびカルボン酸基または硫酸基とカルシウムイオンとのイオン結合により自己修復可能で注射可能なハイドロゲルの作製、(3)PGA を基盤としたハイドロゲルの生分解性と組織接着性、の三項目を二年間で検討した。

#### (1)PGA 側鎖への機能団(フェノール基とフルフリル基)の導入率制御と両機能団を導入した PGA ハイドロゲルのデュアル刺激によるゲル化時間・温度、ゲルの機械強度・膨潤率の制御

カルボニルジイミダゾールを脱水縮合剤として用いることで、PGA のカルボキシル基をチラミン、フルフリルアミンと反応させることで側鎖に機能団としてフェノール基、フルフリル基を有する水溶性 PGA 誘導体(PGA-Fa-Tyr)を合成した。さらに、両機能団を導入した PGA への HRP/ $H_2O_2$  の添加量によるハイドロゲルの機械強度と膨潤率の制御、またはビスマレイミド化合物の添加・Diels-Alder 反応によるゲル化時間の制御を検討した。

#### (2)ヒドラジド修飾 PGA および酸化コンドロイチン硫酸を使用して、アシルヒドラゾン結合およびカルボン酸基または硫酸基とカルシウムイオンとのイオン結合により自己修復可能で注射可能なハイドロゲルの作製機械強度・膨潤率の制御

PGA をアジピン酸ジヒドラジドと反応させてヒドラジド修飾 PGA (PGA-ADH) を調製し、コンドロイチン硫酸塩 (CS) を過ヨウ素酸ナトリウムで酸化して酸化コンドロイチン硫酸 (OCS) を調製した。PGA-ADH と OCS 混合して  $\text{CaCl}_2$  溶液を添加することにより、アシルヒドラゾン結合とポリマー鎖の酸基の配位相互作用に基づくハイドロゲル (PCS-Ca) を開発した。さらに、 $\text{Ca}^{2+}$  の濃度変化によりハイドロゲルのゲル化時間、機械的特性、自己修復能力などの影響を検討した。

### (3) PGA を基盤としたハイドロゲルの生分解性と組織接着性

PGA を基盤としたハイドロゲルの生分解実験は、作製したハイドロゲルを凍結乾燥して秤量 (W1) した後、プロテイナーゼ K を含む PBS バッファーにサンプルに浸漬した。所定時間でサンプルを取り出し、再度凍結乾燥して秤量 (W2) した。ハイドロゲルの質量変化は “残留質量 =  $W2/W1 \times 100\%$ ” によって計算し時間に対する生分解により質量減少を評価した。

PCS ハイドロゲルのアパタイト形成 (バイオミネラリゼーション) について評価した。円筒形のハイドロゲルを 10mL の SBF 溶液に浸し、バイオシェーカー内で  $37^\circ\text{C}$  でそれぞれ 4 日間と 8 日間インキュベーションを行った。インキュベーション後、ミネラル化したハイドロゲルを脱イオン水で数回洗浄し、凍結乾燥して SEM により観察した。

PCS ハイドロゲルは骨組織との親和性があると期待しており、その組織接着性を評価するため、鶏軟骨または鶏足の骨に穴をあけて、ハイドロゲルの前駆体溶液を穴に注入した。酸化されていない CS 溶液と PGA-ADH を混合してハイドロゲルを作製し、コントロールとして用いて評価した。

## 4. 研究成果

### (1) PGA 側鎖への機能団 (フェノール基とフルフリル基) の導入率制御と両機能団を導入した PGA ハイドロゲルのデュアル刺激によるゲル化時間・温度、ゲルの機械強度・膨潤率の制御

異なる濃度の HRP および  $\text{H}_2\text{O}_2$  によって PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルのゲル化時間変化は図 1a に示した。 $\text{H}_2\text{O}_2$  と末端 Tyr ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Tyr}$ ) 比が 0.05 mol/mol の場合、HRP 濃度が 1.0 から 5.0 U/mL に増加すると、ゲル化時間が 280 秒から 55 秒に大幅に短縮できた。さらに、 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Tyr}$  比が 0.05 から 0.50 mol/mol に増加することに伴い、ゲル化時間が徐々に減少したことから、ゲル化時間は  $\text{H}_2\text{O}_2$  と HRP の濃度調整により制御できることが分かった。さらに、20 ゲージのダブルシリンジを使用することによって PGA-Fa-Tyr 溶液と  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{HRP}$  溶液が注射でき、様々な形状を形成することができた (図 1b)。

PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルに対する酵素架橋と DA 反応の効果を評価した。二重架橋の PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルは、単一の酵素架橋ハイドロゲルよりも高い貯蔵弾性率を示した。また、圧縮強度の結果では、酵素架橋ハイドロゲルの圧縮応力が 20.0 kPa、圧縮ひずみが 43.7% であるのに対して、二重架橋の PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルの圧縮応力とひずみはそれぞれ約 7.0 倍と 2 倍に上昇した。さらに、 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Tyr}$  比が同じ場合、Fa/Mal のモル比を増加することにより、PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルの圧縮強度が約 2 倍以上上昇していることを示した (図 1c)。圧縮ひずみが 50% の場合、単一の酵素架橋ハイドロゲルの形状が潰されたことに対して、二重架橋の PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルの形状が維持できた。以上の結果により、PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルは DA 架橋を導入することにより、抗圧縮ネットワークが形成され、外力を加えても形状が維持できることが分かった。

PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルの膨潤率評価では、 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Tyr}$  比を 0.05 から 0.50 に増加させると、ハイドロゲルの膨潤率を低下し、PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルの膨潤率はフラン/マレイミドまたは  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Tyr}$  のモル比によって調整できることを示唆した。凍結乾燥した PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルは、図 1d に示すように相互接続された多孔質構造を示した。 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Tyr}$  比が 0.05 から 0.50 に増加するにつれて細孔径が減少し、ハイドロゲルの架橋度が向上したことを示した (図 1e と 1f)。膨潤率はハイドロゲルの細孔サイズに関連し、より高密度の細孔サイズを持つことにより、ハイド

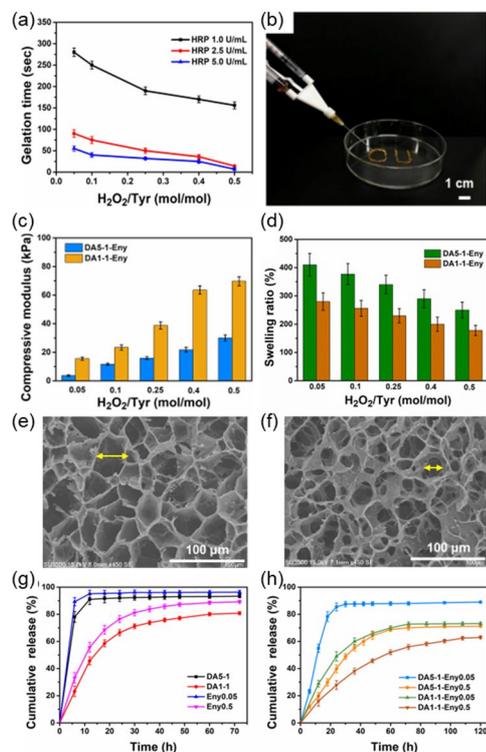


図 1. (a) HRP および  $\text{H}_2\text{O}_2$  の濃度に対するゲル化時間の变化、(b) 注入可能な PGA-Fa-Tyr、(c) PGA-Fa-Tyr の圧縮弾性率、(d) PGA-Fa-Tyr の膨潤率評価、(e) 凍結乾燥した PGA-Fa-Tyr ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Tyr}=0.05$ ) の SEM 観察、(f) 凍結乾燥した PGA-Fa-Tyr ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Tyr}=0.5$ ) の SEM 観察、(g) 単一架橋ハイドロゲルのタンパク質放出評価、(h) PGA-Fa-Tyr のタンパク質放出評価

ロゲルの膨潤率がより低いことが示唆された。

BSA を用いて、PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルのタンパク質徐放挙動の結果では、単一の酵素架橋ハイドロゲルや DA 架橋ハイドロゲルは、12 時間以内に 46% ~ 95% の BSA が放出されたことを示した (図 1g)。それに対して、12 時間で二重架橋の PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルから放出した BSA は 29% 未満であった (図 1h)。また、BSA の放出率は  $H_2O_2/Tyr$  比の増大とともに減少したことから、PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルからの BSA の放出挙動は架橋密度によって影響していることを示した。したがって、作製した注射可能な PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルは、ゲル化時間とゲル強度が容易に制御でき、組織工学の足場材料とタンパク質徐放に応用できることが示唆された。

### (2) ヒドラジド修飾 PGA および酸化コンドロイチン硫酸を使用して、アシルヒドラゾン結合およびカルボン酸基または硫酸基とカルシウムイオンとのイオン結合により自己修復可能で注射可能なハイドロゲルの作製機械強度・膨潤率の制御

アシルヒドラゾン結合と PGA 或いは OCS 鎖上の酸性基 (-COOH または -OSO<sub>3</sub>H) と Ca<sup>2+</sup> のイオン結合を用いて、CaCl<sub>2</sub> の存在下で PGA-ADH と OCS を混合することにより PCS-Ca ハイドロゲルを作製した。ゲル時間評価の結果 (図 2a) では、Ca<sup>2+</sup> を添加していない PCS ハイドロゲルのゲル化時間は約 42 秒であるのに対して Ca<sup>2+</sup> 濃度が 0.05 mol/L から 0.35 mol/L に増加すると、PCS-Ca ハイドロゲルのゲル化時間は 44 秒から 50 秒に増大した。さらに、Ca<sup>2+</sup> 濃度が 0.5 の場合、PCS-Ca-0.5 ハイドロゲルのゲル化時間は 67 秒まで増大した。Ca<sup>2+</sup> イオンと PGA-ADH のヒドラジド基の配位相互作用により、ヒドラジド基が一時的に占有されて Ca<sup>2+</sup> を添加するハイドロゲルのゲル化時間が長くなることが分かった。

ハイドロゲルの機械的特性に対する Ca<sup>2+</sup> 濃度の影響を評価するために、レオメーターによりハイドロゲルの貯蔵弾性率 (G') を測定した (図 2b)。Ca<sup>2+</sup> を添加していない PCS ハイドロゲルの G' は約 2100 Pa であるのに対して、濃度が 0.05 mol/L から 0.35 mol/L に増加することによって PCS-Ca ハイドロゲルの G' は著しく増加した。これはポリマー鎖と Ca<sup>2+</sup> イオンのイオン結合により、架橋密度が増加してハイドロゲルの貯蔵弾性率が増大したことを示した。しかしながら、Ca<sup>2+</sup> 濃度が 0.5 mol/L になると、PCS-Ca-0.5 ハイドロゲルの G' は減少し、PCS ハイドロゲルより低い G' を示した。過剰な Ca<sup>2+</sup> イオンは、PCS-Ca ハイドロゲルの形成を妨害し、機械特性に悪影響を与えると考えられる。また、組織工学使用される注射可能なハイドロゲルは不規則な部位に注射して、損傷した組織の構造的および機能的回復を達成するためにその場でゲルを形成することが不可欠である。20 ゲージのダブルシリンジを使用して PGA-ADH 溶液 (ローダミン B 染色) と OCS/CaCl<sub>2</sub> 溶液を注射すると、PCS-Ca ハイドロゲルはアシルヒドラゾン結合の形成に基づく急速にゲル化でき、さまざまな形状が形成できることを示した (図 2c)。

自己回復挙動を評価するために、ハイドロゲルサンプルは 50% のひずみ変形でロード/アンロードプロセスを 10 サイクルで測定した。図 2d に示すように、PCS-Ca ハイドロゲルの圧縮応力は 10 サイクルとも変化がなく、Ca<sup>2+</sup> イオンの導入がハイドロゲルの内部散逸エネルギーと機械的強度を改善できることを示した。さらに、PCS-Ca ハイドロゲルの自己修復は直接目で評価した。図 2e に示したように、PCS-Ca-0.35 ハイドロゲルディスクをローダミン B とメチレンブルーで染色してくさび形のカッターを使用してゲルを半分に切断した。2 つの半円をカットラインに沿って接着して 37 °C で 10 時間インキュベートした後、ハイドロゲルディスクは完全接着できて修復できた。修復したハイドロゲルディスクは圧縮および引張に対して断裂することなく十分に強度を持ち、優れた自己修復能力を示した。

### (3) PGA を基盤としたハイドロゲルの生分解性と組織接着性

PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルの分解挙動は、プロテイナーゼ K を含んだ PBS 緩衝液中でハイドロゲルをインキュベートすることによって評価した。プロテイナーゼ K を含まないコントロールハイドロゲルは、22 日に経っても分解しなかった。それに対して、同じ条件下でフラン/マレイミド比が 5 : 1 で  $H_2O_2/Tyr$  比が 0.05 の DA5-1-Eny0.05 ハイドロゲルは、プロテイナーゼ K の存在下でポリペプチド鎖の切断を介して 3 日で完全な分解を示した。さらに、フラン/マレイミ

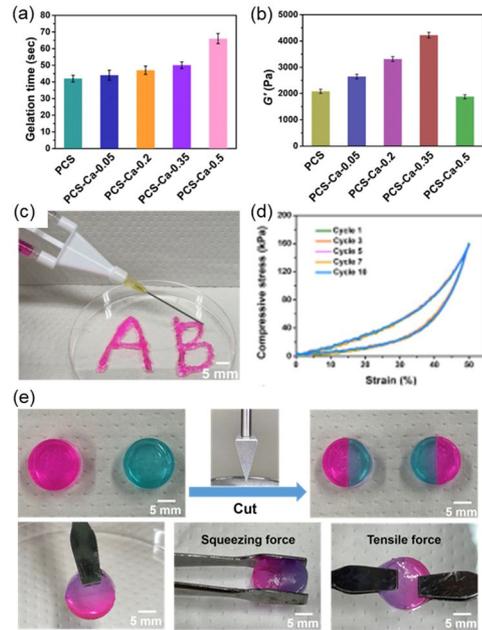


図 2. (a) PCS ハイドロゲルと PCS-Ca ハイドロゲルのゲル化時間評価、(b) PCS ハイドロゲルと PCS-Ca ハイドロゲルのゲル貯蔵弾性率評価、(c) PCS-Ca ハイドロゲルの注入可能性、(d) PCS-Ca ハイドロゲルの周期的圧縮応力-ひずみ曲線評価、(e) PCS-Ca ハイドロゲルの自己修復プロセス

ド比が 1 : 1 で  $H_2O_2/Tyr$  比が 0.05 の DA1-1-Eny0.05 ハイドロゲルはゆっくりと分解し、DA5-1-Eny0.05 ハイドロゲルと比較して、3 日後の残留質量は 97 % であった。フラン/マレイミドのモル比が 1 : 1 の場合、ハイドロゲルの架橋密度が高くて生分解効率に影響することを示した。同じフラン/マレイミド比で  $H_2O_2/Tyr$  比が異なる場合では、 $H_2O_2/Tyr$  比が高い DA1-1-Eny0.5 ハイドロゲルの分解速度は、 $H_2O_2/Tyr$  比が低い DA1-1-Eny0.05 ハイドロゲルの分解速度よりも明らかに低く、 $H_2O_2/Tyr$  比の増加によってハイドロゲルの架橋密度が高く、分解速度が遅くなることを示した。これらの結果は、 $H_2O_2/Tyr$  とフラン/マレイミドの比率を調整することにより、ハイドロゲルの架橋度を制御でき、PGA-Fa-Tyr ハイドロゲルの分解挙動を制御できと分かった。

PCS-Ca ハイドロゲルのバイオミネラリゼーションを調べた。ミネラル化前、すべてのハイドロゲルは滑らかな多孔質構造が観察された (図 3a-d)。SBF 溶液に 4 日間の浸漬後、ハイドロゲルの細孔にアパタイトの沈着が顕著に観察された (図 3e-h)。さらに、SBF 溶液に 8 日間浸漬すると、アパタイトの沈着密度は明らかに増加し (図 3i-l)、浸漬時間が長くなることに伴ってハイドロゲル内部のバイオミネラリゼーションが増加したことを示した。また、PCS-Ca ハイドロゲルの内部でのアパタイトの沈着は  $Ca^{2+}$  濃度の増加とともに増加した。浸漬時間と  $Ca^{2+}$  イオンの存在が、ハイドロゲルの内部でのアパタイト形成を誘導することを示した。ハイドロゲルでのアパタイト形成中の影響因子をさらに調査するために、ICP-AES により、ミネラル化ハイドロゲル中のアパタイトのカルシウムおよびリン濃度を測定した。PCS ハイドロゲルのカルシウム濃度は浸漬時間とともに増加したことに對して、PCS-Ca ハイドロゲルのカルシウム濃度は、初期段階 (1 日以内) では低下し、その後、浸漬時間とともにゆっくりと増加した。これは、初期段階ではハイドロゲル内に元々存在している  $Ca^{2+}$  イオンの一部が SBF に拡散することを示している。ミネラル化ハイドロゲルの表面の SEM 結果と比較して、アパタイト沈着形成はハイドロゲルから SBF への  $Ca^{2+}$  放出によって著しく加速された。さらに、ハイドロゲルに残っている  $Ca^{2+}$  イオンはハイドロゲルの細孔にアパタイト沈着の形成を促進する。一方、ハイドロゲルのリン濃度は浸漬の初期段階で著しく増加し、カルシウム濃度の増加に伴い、6 日間の浸漬後は平行になった。したがって、PCS-Ca ハイドロゲルのアパタイト含有量は PCS ハイドロゲルのアパタイト含有量よりも高く、特に浸漬の初期段階では、 $Ca^{2+}$  イオンの存在が主に初期のハイドロゲルのミネラル化速度を加速できることを示した。

ハイドロゲルの生体接着特性は、鶏の軟骨を使用して評価した。PCS-Ca ハイドロゲル中のアルデヒド基が存在しているため、軟骨組織のアミンと Schiff 塩基反応により接着できる。図 4a に示すように、コントロールハイドロゲルをのせた軟骨を曲げると、ハイドロゲルと軟骨が分離することに対して、PCS-Ca ハイドロゲルはしっかり鶏の軟骨に接着していることを示した。さらに、軟骨とハイドロゲルの接着面を SEM で観察した結果、コントロールハイドロゲルは二ワトリ軟骨との間に明らかな隙間 (図 4b) が見られ、PCS-Ca ハイドロゲルと軟骨との間は隙間がなく、密着していることを示した (図 4c)。さらに、ハイドロゲルと骨の生体接着特性を評価した。図 4d に示すように、コントロールハイドロゲルをピンセットで持ち上げると、骨組織に接着できなかったことに対して、PCS-Ca ハイドロゲルは骨への良好な生体接着を示した (図 4e)。以上に結果から、アルデヒド-アミン Schiff 塩基反応はハイドロゲルと骨組織の生体接着を可能にしたことを示し、作製したハイドロゲルは良好な組織接着特性を示し、そのような特性は骨組織工学足場材料に応用できると期待される。

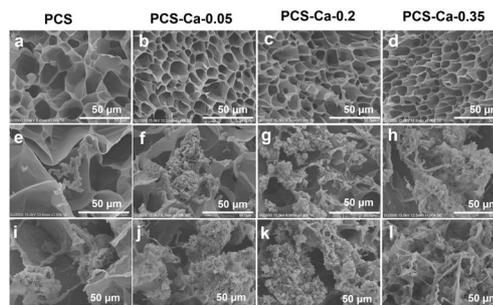


図 3. ミネラル化前 (a-d)、ミネラル化後 4 日間 (e-h) および 8 日間 (i-l) のハイドロゲルの断面の SEM 画像。

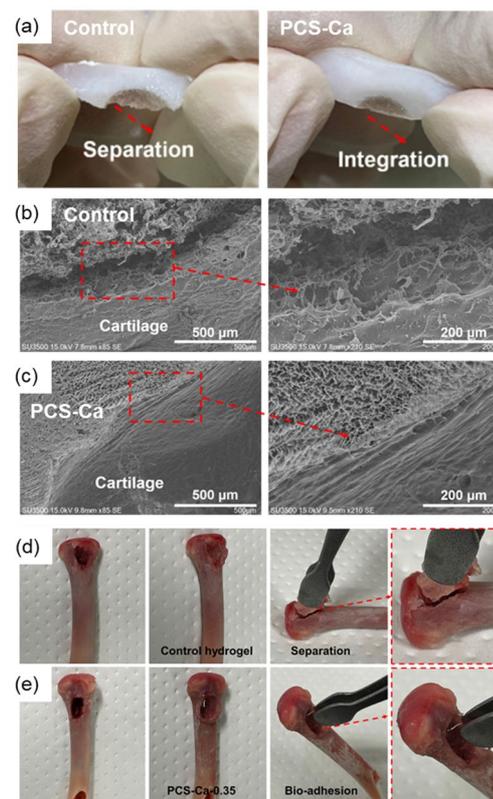


図 4. (a) コントロールハイドロゲルと PCS-Ca ハイドロゲルの軟骨接着性、(b) コントロールハイドロゲルと軟骨接着の断面観察、(c) PCS-Ca ハイドロゲルと軟骨接着の断面観察、(d) コントロールハイドロゲルの骨接着性、(e) PCS-Ca ハイドロゲルの骨接着性

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Wei Meng, Hsu Yu-I, Asoh Taka-Aki, Sung Moon-Hee, Uyama Hiroshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Injectable poly( -glutamic acid)-based biodegradable hydrogels with tunable gelation rate and mechanical strength	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Materials Chemistry B	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D1TB00412C	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 Wei Meng, Hsu Yu-I, Asoh Taka-Aki, Sung Moon-Hee, Uyama Hiroshi	4. 巻 5
2. 論文標題 Design of Injectable Poly( -glutamic acid)/Chondroitin Sulfate Hydrogels with Mineralization Ability	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Applied Bio Materials	6. 最初と最後の頁 1508 ~ 1518
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsabm.1c01269	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 Wei Meng, Inoue Tomonori, Hsu Yu-I, Sung Moon-Hee, Fukuoka Tokuma, Kobayashi Shiro, Uyama Hiroshi	4. 巻 8
2. 論文標題 Preparation of pH-Responsive Poly( -glutamic acid) Hydrogels by Enzymatic Cross-Linking	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Biomaterials Science & Engineering	6. 最初と最後の頁 551 ~ 559
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsbiomaterials.1c01378	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 Wen Hanyu, Hsu Yu-I, Asoh Taka-Aki, Uyama Hiroshi	4. 巻 166
2. 論文標題 Poly(methyl methacrylate) surface grafted with poly(2-ethyl-2-oxazoline) using tea polyphenol as linker molecule	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Progress in Organic Coatings	6. 最初と最後の頁 106796 ~ 106796
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.porgcoat.2022.106796	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 -

1. 著者名 Wen Hanyu, Hsu Yu-I, Uyama Hiroshi	4. 巻 15
2. 論文標題 Superhydrophobic PDMS-pCA@CNWF Composite with UV-Resistant and Self-Cleaning Properties for Oil/Water Separation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 376 ~ 376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma15010376	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 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Yu-I Hsu
2. 発表標題 Development of stimulus-responsive hydrogels using bio-based biodegradable polymers
3. 学会等名 48th Annual Meeting & International Symposium of The Korean Society for Microbiology and Biotechnology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徐 于懿, 魏 夢, 麻生 隆彬, 宇山 浩
2. 発表標題 ポリグルタミン酸を用いた注射可能なデュアル刺激応答性ヒドロゲル
3. 学会等名 第50回医用高分子シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yu-I Hsu, Meng Wei, Taka-Aki Asoh, Moon-Hee Sung and Hiroshi Uyama
2. 発表標題 Development of Injectable Dual Stimulus-Responsive Hydrogel Using Biodegradable Poly( -glutamic acid)
3. 学会等名 Joint Symposium sponsored by the Japanese Society for Biomaterials and the Society For Biomaterials (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Meng Wei, Yu-I Hsu, Taka-Aki Asoh, Moon-Hee Sung, Hiroshi Uyama
2. 発表標題 Development of Self-Healing Poly( -glutamic acid) / Chondroitin Sulfate Hydrogels with In Situ Mineralization Ability
3. 学会等名 Joint Symposium sponsored by the Japanese Society for Biomaterials and the Society For Biomaterials ( 国際学会 )
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yu-I Hsu, Meng Wei, Taka-Aki Asoh, Moon-Hee Sung and Hiroshi Uyama
2. 発表標題 Injectable poly( -glutamic acid)-based biodegradable hydrogels with tunable gelation rate and mechanical strength
3. 学会等名 the 8th Asian Biomaterials Congress ( 国際学会 )
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Meng Wei, Yu-I Hsu, Taka-Aki Asoh, Moon-Hee Sung, Hiroshi Uyama
2. 発表標題 Development of injectable poly( -glutamic acid) / chondroitin sulfate hydrogels with self-healing property
3. 学会等名 the 8th Asian Biomaterials Congress ( 国際学会 )
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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

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			
韓国	Kookmin University			