

(様式D-2)
(別 紙)

令和 4 年度 海外派遣研究員研究報告書

令和 5 年 4 月 6 日

日本大学理事長 殿
日本大学学長 殿

所 属 理工学部
資格・氏名 教授・青柳 隆夫

令和 4 年度海外派遣研究員 (短期 B) の研究実績を、下記のとおり報告いたします。

記

- 1 区 分 短期 B
2 研究課題

新規に設計された生分解性高分子材料の構造と機能発現メカニズムに関する研究

- 3 派遣期間 2023年2月25日 ~ 2023年3月23日
4 派遣先 ワルシャワ(ポーランド), ブルノ(チェコ), エドモントン(カナダ)
5 研究目的

生体内環境あるいは自然環境中で分解する生分解性材料は、疾病の薬物治療と地球環境を守るといった側面から、近年特に注目されている。基本的に脂肪族ポリエステル骨格を有しており、どの場所で分解されるかによって用途が異なっているだけである。当研究室では、生体材料および代替プラスチック材料という両用途への応用を目指し合成を中心に研究を遂行して来た。具体的には、セルロースやアガロース、グルコマンナンなどの多糖類と脂肪族ポリエステルからなる、生分解性複合材料の調製に成功した。これらの材料は、これまで問難であった共通の溶媒がないという困難さを克服した手法により調整に成功している。しかしながらその化学構造の解析が不十分であると共に、その特徴を活かした用途開発についても課題として残った。そこで連鎖構造解析の研究をワルシャワ工科大学の Wojciech Świążkowski 教授と共同で行う。具体的には Świążkowski 教授が主催するバイオマテリアル研究室において、Emilia Choinska 博士のサポートにより、高分子の熱分析装置や結晶解析装置、表面物性解析装置を用いて、材料の特徴を明確にする。さらに、チェコの St. Anne's 大学病院の Giancarlo Forte 博士およびアルバータ大学の Ravin Narain 教授とその応用や用途開発について議論することを目的とする。これらの成果を次年度以降の材料研究進展に資する。

6 研究概要

生分解性材料においては、化学合成系、天然物系、微生物生産系などに大別される。天然物由来の生分解性材料では高い分解性や高い強度が特徴であるが、その成形性が問題になることが多く、例えばセルロースの場合においては化学修飾や再生化反応後でない成型加工性に問題がある。一方、化学合成系の特徴はその重合反応のしやすさであり、天然物系とのハイブリッド化で高強度な材料調製が期待されている。これらの材料は、環境問題を解決するための代替プラスチックとしてばかりでなく、材質に基づく高い生体適合性と分解性ゆえの疾病治療に用いる薬物長期徐放担体としても極めて有望である。

当研究室では、超臨界二酸化炭素を用いた乾燥法によって、空気を媒体とする多糖類のエアロゲルの調製に成功して来ており、このゲルを構成するネットワーク構造の超微細化によって化学修飾を施さずに、その表面から直接グラフトすることによって、セルロースと合成系生分解性材料の複合化に成功した(Y. Kida, *SciFed J. Polym. Sci.* (2018))。さらにセルロース以外の多糖類も用いた応用研究も成功し、アガロースやグルコマンナンなどバイオマス資源の有効利用への繋がる可能性を見出している。また、以前より合成系の生分解性材料の特徴として、材料の結晶-融解に基づく形状記憶性についても研究を進めており(K. Uto, *Adv. Health. Mater.* (2017)など)、材料の温度変化に応答した細胞の接着性に関する成果も発表している(K. Iwamatsu, *Polym. J.* (2018))。この形状記憶性を有するポリエステルと、多糖類との化学合成系複合材料の構造と機能との関連をさらに追求するために、その詳細な物性の解析と、この材料のさらなる応用先を検討する必要があると考え、本共同研究を企画するに至った。

一般的に多糖類は、水にしか溶解せず、一方で脂肪族ポリエステルは有機溶媒にしか溶解しない、相反する性質をそれぞれ有する。従って多糖類にエチレンオキシドやプロピレンオキシドといった化合物との反応による化学修飾を施し、有機溶媒に可溶化させ、それにポリエステルの原料となるラクトンとを反応させることにより複合材料を調製する。この方法では、多糖類本来の化学構造に改変を加えることになり、その性質は変化せざるを得ない。そこで当研究室で多糖類と直接ポリエステルを複合化させる方法を検討し、多糖類のエアロゲルの調製を経由した方法を着想した。エアロゲルは、媒体を空気とするゲルの意味であり、ゲル特有のネットワーク構造を再現しつつ、水や有機溶媒に膨潤しているわけではない。その表面は分子本来の構造を維持していると考えられ、多糖類の特徴である水酸基を利用した脂肪族ポリエステルのグラフト化が可能であると推察した。そこでエアロゲルを調製後、環状モノマーであるカプロラクトンの開環重合を行い複合化に成功した。得られた精製物を有機溶媒中で激しく攪拌すると解繊現象が生起し、複合材料の懸濁液が調製できた。この懸濁液を用いてキャスト膜を調製することに成功した。

直接反応による複合化材料の製造に成功したがその構造が不明確であることから、構造解析に優れたワルシャワ工科大学でその測定を行い、さらにその材料の将来的な応用を著名なバイオマテリアル研究者らと議論した。

7 研究結果・成果

ワルシャワ工科大学のバイオマテリアル研究室の Wojciech Świążzkowski 教授と今回持参した、アガロース-ポリカプロラクトン、グルコマンナン-ポリカプロラクトンの2種類の複合材料の特徴やそのバイオマテリアル応用に関して議論した。ポリカプロラクトンに関しては、Świążzkowski 教授の研究室で多くの使用実績があり、その目的は主に、3Dプリンティング装置を用いた再生医療用の足場材料の製造である。その調製とともに、多くの機器分析によって詳細な物性解析を進めている。我々が持参した材料の特徴は多糖類と複合化させることで親水性の構造の向上が期待でき、また、通常のポリカプロラクトンとして特徴も併せ持つ。既に、アルカリ条件での分解評価加速実験を実施し、通常のポリカプロラクトンと比較して、加水分解性が格段に向上し分解が優位に早まることを確認している。一方、同時に持参した連鎖の構築構造が特徴的な形状記憶性を有するポリカプロラクトンについてもŚwiążzkowski 教授と討論し、将来的な展望についても議論した。

ポリカプロラクトンの足場材料への問題点として、疎水性がやや高いため接着性のタンパク質の吸着性に劣る点がある。今回の多糖類との複合材料では親水性が向上していることからこれらの材料の添加は、より高性能の足場材料になると考えた。そこで、通常のポリカプロラクトンと持参した複合材料を混合し3Dプリンティングにより、メッシュ状の足場材料の試作を目指すこととした。

持参した複合材料と市販のポリカプロラクトンを重量比10:90の割合で共通溶媒のヘキサフルオロイソプロパノールに溶解させ、キャストフィルムを調製し Emilia Choinska 博士の協力で熱重量分析(TGA)と示差走査型熱分析(DSC)測定を行った。まずTGAにおいて2種類の複合材料を混合するとポリカプロラクトン本来の重量減少温度よりも低温で分解が始まり多糖類であるアガロースあるいはグルコマンナンの存在が材料全体の物性に影響を与えると考えられた。さらに、DSCによりポリカプロラクトン由来の結晶-融解に基づくピークを追跡した結果、1回目のスキャンにおいては、複合材料を混合した試料においては、融点の低温側へのシフトが観察されたが、2回目のスキャンでは複合材料を含まないポリカプロラクトンと同じエンタルピー変化量、融点が観察された。これは、融解の履歴を経ることによって、連鎖が均質化することを示唆しており、アガロースやグルコマンナンといった多糖類が、構造の全く異なるポリカプロラクトンマトリックスに均一に存在できるという大変興味深い発見となった。

さらに、この複合材料を含むキャストフィルム表面の性質を評価するために、バイオマテリアル研究室の Davis Martinez 氏のサポートで接触角測定を行った。その結果、複合材料の10%添加によって、水の接触角は優位に低下しており、複合材料中の多糖類の重量比が約50%であることを考慮すると、全体としてわずか5%の多糖類の存在によって親水性を向上させることができることを意味している。そこで、このキャストフィルム(混合試料)を用いて3Dプリンティング装置に適應した。通常のポリカプロラクトン単独での条件での造形を試みたが、複合材料添加によって大きく粘性が増大しており、ニードルからの溶出が困難であった。

(様式D-2)

[7 研究結果・成果 (つづき)]

そこで、通常よりも高温での造形を試みたが、この場合も困難であった。わずか10%の複合材料の添加によって粘性が大きく増大する原因について Świążkowski 教授 Choinska 博士、Martinez 氏とも議論したが、おそらく多糖類の水酸基とポリカプロラクトン連鎖中のエステル基と水素結合による物理的な華僑構造の生成が考えられるとの結論に至った。3Dプリンティングが成功すると、用途開発の可能性を見出すことができたが、この実験を通じて、我々が開発した多糖類とポリカプロラクトンの特徴を明確にすることができたと考えている。すなわち、この複合材料が、ポリプロラクトンとの融解混合によって均一な材料になり得ること、さらに多糖類構造が均一に存在していること、混合によって強度の上昇が見込まれることが明らかになった。たとえば、脂肪族系ポリエステルに添加剤として用いることにより、分解性の向上と強度の増加が見込まれると考えられる。

ポリカプロラクトンベースの生分解性材料のバイオマテリアル応用について、チェコの St. Anne's 大学病院の Giancarlo Forte 博士とその研究グループを訪問、施設見学をすると共に、Forte 博士およびグループメンバーと議論した。ポリカプロラクトンの生体適合性や形状記憶性を鑑みるとメカノバイオロジー研究への応用展開は大変有望であること、メカノバイオロジーの最近の研究から、材料の強度を感知して発現するタンパク質を追跡することにより、細胞側のレスポンスを評価できることなどの情報を得ることができた。Forte 博士は9月より、イギリスのキングスカレッジオブロンドンへの異動が決まっているが、引き続き交流していくことを確認した。

カナダのエドモントンにあるアルバータ大学の Ravin Narain 教授を訪問し、ポリカプロラクトンを含めて生分解性材料のバイオマテリアル研究とその応用について議論した。Narain 教授は糖関連化学で大変著名であり、日本人研究者との交流も盛んである。今回我々が開発した多糖類とポリカプロラクトンとの複合材料のに関してその製造法も含めて大変評価してくれた。Narain 教授の研究室では、我々が最初手がけたバクテリアセルロースのバイオマテリアルへの応用研究を進めており、主に、ハイドロゲルとの複合化を検討しているとのことであった。多糖類単独ではなく、他の材料との複合化は実用的であるとの結論に至った。Narain 教授の研究室では創傷被覆材としての評価を行なっている。もし共同研究に発展できれば、我々の材料の用途として被覆材としての評価を行なってもらえるように約束した。

今回の海外派遣により貴重な研究成果を得ることができ、また著名な研究者との交流によって、今後の研究の大きな指針を見出すことができた。本派遣のサポートに対し日本大学に厚く感謝申し上げたい。

以 上