

氏名	しゅー ゆい <b>徐 于認</b>
学位(専攻分野)	博士(工学)
学位記番号	博甲第754号
学位授与の日付	平成27年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	工芸科学研究科 バイオベースマテリアル学専攻
学位論文題目	<b>Development of Novel Bioabsorbable Sol-gel Systems Based on Enantiomeric Block Copolymers of Polylactide and Poly(oxyethylene)</b> (光学異性のポリラクチド-ポリ(オキシエチレン)ブロック共重合体から形成される生体吸収性ゲルの開発と特性評価)
審査委員	(主査)特任教授 木村良晴 教授 櫻井伸一 教授 小原仁実 教授 山根秀樹

## 論文内容の要旨

現在、細胞成長因子や細胞の足場となる材料を利用して、欠陥組織を再生する組織工学の研究が盛んに行われている。特に、生体吸収性の足場材料を用いた細胞注入法により手術を回避できる新しい治療法が開発されている。即ち、ゾルーゲル転移を生ずる温度応答性ポリマー水溶液に細胞を懸濁させて体内に注入する方法であり、注入部で細胞懸濁液はゲル化を生じて細胞を固定化し、足場を提供するものである。本研究では、生体適合性の高いポリエチレングリコール(PEG)とポリ乳酸(PLA)のブロック共重合体からなる新規生体吸収性ゲルの開発、ならびにその温度応答性ゾルーゲル転移挙動の解明を目的としている。具体的には、PEGとポリ-L-乳酸(PLLA)もしくはポリ-D-乳酸(PDLA)のジブロック共重合体(PEG-PLA)およびトリブロック共重合体(PLA-PEG-PLA)を合成し、それらを水中に分散させたミセル溶液を作製した。そして、互いに光学異性のミセルを混合して昇温することにより、PLLA/PDLAブロック鎖間でステレオコンプレックス形成によるゲル化を引き起こす新しいゾルーゲル転移系を開発した。また、PEG-PLLAとPEG-PDLAジブロック共重合体の末端をフラン基で修飾してビスマレイミド化合物とDiels-Alder反応させることにより、ミセル間に化学結合を形成させて、架橋度の上昇とステレオコンプレックス形成能の向上を図り、ゲル強度を増大させることにも成功した。そして、それらの系のゲル化挙動について詳細な考察を行なうとともに、細胞注入に応用する際に必要な基礎データを得た。本論文は、研究の位置づけを述べた序章と次の4章からなる。

### 第1章 PLLA-PEG-PLLA/ PDLA-PEG-PDLA 光学異性トリブロック共重合体からなる混合ミセル系のゾルーゲル転移挙動

PLLA(A)とPEG(B)およびPDLA(A)とPEG(B)を単位とするABA型トリブロック共重合体を水中に分散した高分子ミセルの混合溶液が、PLLAとPDLAブロック間のステレオコンプレックス形成をすることにより、体温付近でゾルからゲルへ転移する現象を見出した。このゾルーゲル転移に対するPLLA、PDLA、及びPEG鎖長の影響について詳細に検討し、ゾルーゲル転移の可能な組成領域を決定した。また、ゲル化時間への影響についても検討した。

### 第2章 PEG末端にフラン基を有するジブロック共重合体F-PEG-PLAとトリブロック共重合体PLA-PEG-PLA混合物のD/L混合ミセル溶液のゾルーゲル転移制御

末端の一部にフラン基(F)を導入したPEGを用いてF-PEG-PLLAジブロック共重合体とPLLA-PEG-PLLAトリブロック共重合体の混合物および光学異性のF-PEG-PDLAとPDLA-PEG-PDLAの混合物を合成した。そして、各共重合体混合物をミセル化し、光学異性ミ

セルどうしを混合して混合ミセル溶液を作製した。PEG 末端へのフラン基の導入率によってジブロック/トリブロック共重合体比率を容易に制御することができ、その比率によって混合ミセルのゾル-ゲル転移挙動も容易に制御できること、また、生成ゲルの強度の増大も図れることが見出された。

### 第3章 PLA 末端にフラン基 (F) を有するジブロック共重合体 PEG-PLLA-F/ PEG-PDLA-F の混合ミセル溶液からなる新規生体吸収性ゲル：鎖延長反応によるゲル強度の上昇

PLLA、PDLA 側の末端にフラン基 (F) を導入した PEG-PLLA-F および PEG-PDLA-F ジブロック共重合体をミセル化し、両者の混合ミセルを作製した。この混合ミセルに両末端にマレイミド基を有する 1,8-bis(maleimido)diethylene glycol (BMG) を添加し末端フラン基と BMG の Diels-Alder カップリングにより鎖延長させることで、ゲル化を促進できることを見出した。この鎖延長反応により、共重合体間のステレオコンプレックス形成能が向上し、ゲル強度の増大がもたらされることを確認した。実際に生成したポリマーの  $^1\text{H}$  NMR スペクトルと GPC 測定結果から、末端 Diels-Alder 反応による鎖延長が効果的に進行すること、そして、ジブロック共重合体が連結した高分子量がミセル中で生成することを確認した。

### 第4章 PEG 末端にフラン基を有するジブロック共重合体 F-PEG-PLA とトリブロック共重合体 PLA-PEG-PLA 混合物の D/L 混合ミセル溶液の末端 Diels-Alder 反応によるゾル-ゲル転移制御

第2章で述べた PEG 末端にフラン基を有する F-PEG-PLA ジブロックおよび PLA-PEG-PLA トリブロック共重合体混合物からなる光学異性体混合ミセル溶液に BMG を加えて、末端 Diels-Alder 反応による鎖延長反応をさせ、ゾル-ゲル転移挙動の変化を検討した。その結果、フラン末端と BMG のカップリングを介して、PEG 末端基同士で結合が生じ、親水性領域で架橋度が上昇すること、そしてそれにより、ゲル強度が大きく増大することを確認した。生成ゲルの貯蔵弾性率は  $10^5$  Pa を越えることから、このゾル-ゲル転移系が細胞注入素材として有効に働く可能性が高いことを確認した。

以上の研究により、新しいヒドロゲル素材のゾル-ゲル転移挙動を解明するとともにその制御に成功し、種々の医療用途への展開が拓かれた。

## 論文審査の結果の要旨

申請者は、ポリエチレングリコール(PEG)とポリ-L-乳酸 (PLLA)のブロック共重合体の水分散ミセルとその光学異性体である PEG とポリ-D-乳酸 (PDLA) のブロック共重合体のミセル溶液を混合して、昇温することによりゲル化を引き起こす新しいゾル-ゲル転移系を開発した。そして、PEG-PLLA と PEG-PDLA ジブロック共重合体の末端をフラン基で修飾してビスマレイミド化合物と Diels-Alder 反応させることにより、ミセル間に化学結合を形成させて、架橋度の上昇を図る新しい方法を開拓した。このゲル系では、PLLA/PDLA ブロック鎖間のステレオコンプレックス形成による物理架橋と親水部での末端カップリングによる化学架橋の両方のメカニズムでゲル強度の増大が図られる。申請者は、これらの新しいゾル-ゲル転移挙動について詳細な考察を行なうとともに、細胞注入などの組織工学への応用展開に向けた基礎材料データを集積するに至った。このような、新しい機能性医用素材の構築は、生体材料の開発設計において重要な要素技術となるだけでなく、学術的にも重要な知見を与えるものであり高く評価される。本博士論文の内容は申請者を筆頭著者もしくは共著者とする次の論文に掲載されるか (3 報、印刷中の 1 報を含む)、投稿中 (1 報) である。

#### 公表論文

C. W. Lee, T. Manoshiro, Y.-I Hsu, Y. Kimura: Gelation Behavior of Bioabsorbable Hydrogels Consisting of Enantiomeric Mixtures of A-B-A Tri-block Copolymers of Polylactides (A) and Poly(ethylene glycol) (B). *Macromol. Chem. Phys.*, **2012**, *213*, 2174-2180.

Y.-I Hsu, K. Masutani, T. Yamaoka, Y. Kimura: Tuning of Sol-gel Transition in the Mixed

Polymer Micelle Solutions of Copolymer Mixtures Consisting of Enantiomeric Diblock and Triblock Copolymers of Polylactide and Poly(ethylene glycol). *Macromol. Chem. Phys.*, in press

Y.-I Hsu, K. Masutani, Y. Kimura, T. Yamaoka: A Novel Bioabsorbable Gel Formed from a Mixed Micelle Solution of Poly(oxyethylene)-block-poly(L-lactide) and Poly(oxyethylene)-block-poly(D-lactide) by Concomitant Stereocomplexation and Chain Extension. *Macromol. Chem. Phys.*, **2013**, *214*, 1559-1568

Y.-I Hsu, K. Masutani, T. Yamaoka, Y. Kimura: Strengthening of hydrogels made from enantiomeric block copolymers of polylactide (PLA) and poly(ethylene glycol) (PEG) by the chain extending Diels-Alder reaction at the hydrophilic PEG terminals. *Polymer*, submitted