

氏名	ちん せつひ CHEN XUEFEI
学位(専攻分野)	博士(工学)
学位記番号	博甲第978号
学位授与の日付	令和2年9月24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	Fabrication of collagen-based materials and analyses of the structure and properties (コラーゲンを素材とした材料の成形とその構造物性解析)
審査委員	(主査)教授 山根秀樹 教授 櫻井伸一 准教授 田中知成 助教 XU HUAIZHONG

論文内容の要旨

コラーゲンは、動物の組織中最も豊富に存在するタンパクであり、食品や化粧品だけでなく医療用材料としても活発に利用されてきた。本学位論文では、ウシ皮抽出コラーゲングルから成形したフィルムおよびブタ皮抽出コラーゲンの溶液から電界紡糸法により得られた細管の成形条件、後処理条件がフィルムや細管の物理的及び化学的性質に与える影響について詳細に述べられている。

まず、Introduction では、本研究の背景、研究の位置づけと目的について述べている。

第一章では、天然羊腸を原料とするソーセージ用ケーシングとウシ皮抽出コラーゲングルから成形されるフィルムとの高次構造の違いを電子顕微鏡 (SEM) および小角 X 線散乱 (SAXS) により解析しており、天然羊腸ケーシングでは太いコラーゲン繊維が長手方向に対して互いに 45 度傾いて織合わさっており、この構造が湿潤状態のケーシングに高い力学的性質と水に対する比較的低い膨潤性を与え、ソーセージに特有の噛み応えを与えていることを明らかにした。一方、ウシ皮抽出コラーゲングルから成形したフィルムでは、細かいコラーゲンフィブリルが分散して層を形成し、この層が大きなギャップを挟んで数枚重なった構造を持っている。この層を形成するコラーゲンフィブリルも長手方向に配向しているが、その配向度は低く、水に対する高い膨潤性がフィルム湿潤状態での低い力学的性質に反映していることが示されている。湿潤状態で低い力学的性質を示す人工コラーゲンフィルムにグルタルアルデヒド (GTA) 処理や真空状態での加熱処理である Dehydrothermal treatment (DHT 処理) により化学架橋を導入することにより、フィルムの水に対する膨潤性を抑制し、力学的性質を向上させることが可能であることを示した。

第二章は、DHT 処理条件と架橋導入率およびタンパク変性の程度との関係を IR、水中および尿素水溶液中での膨潤度測定などの化学分析により解析し、さらにそれらに伴う力学的性質と水に対する膨潤性の変化について調査している。まず、DHT 処理による架橋はコラーゲン中のカルボキシ基とアミン間に形成されている水素結合が脱水により共有結合に変化したものであることが水中および尿素水溶液中での膨潤度の比較により明らかになった。また、DHT 処理による架橋の導入は温度および時間と共に増大し、それに伴い力学的性質は向上する。しかしながら、さら

なる高温での DHT 処理はタンパクの著しい変性を引き起こし、力学的性質は逆に低下することが分かった。

第三章では、ブタ皮抽出コラーゲン溶液から電界紡糸法によりポーラスな細管を形成し、これに種々の後処理を施すことによる物理的及び化学的性質に与える影響について詳細に調査している。試料として用いたブタ皮抽出コラーゲンを高濃度の酢酸溶液とし、回転する細い金属パイプ上に電界紡糸法によりナノファイバーを堆積させることにより直径約 2 mm の細管が容易に形成された。しかしながら、溶液調製時にコラーゲンの 3 重らせん構造が一部破壊され、ゼラチン構造となっていることが IR 測定により明らかになった。このゼラチン構造への変化のため、成形した細管は水で著しく膨潤する傾向にあり、一部が水に溶解しているため、湿潤状態で非常に低い力学的性質を示した。これを改善するため、アンモニア処理、DHT 処理または GTA 処理を施した結果、GTA 処理が最も効率よくチューブの湿潤状態での力学的性質の改善と水膨潤度の低下をもたらすことが分かった。

General Conclusion には、本研究により得られた結論を述べた。

論文審査の結果の要旨

本学位論文は、動物から抽出されたコラーゲンから再生されたフィルムおよび電界紡糸法により得られた細管の構造と物性について述べられている。

天然羊腸を原料とするソーセージ用ケーシングとウシ皮抽出コラーゲングルから成形されるフィルムとの高次構造とそれによる力学的性質への影響を詳細に調査しており、天然羊腸ケーシングでは太いコラーゲン繊維が長手方向に対して互いに 45 度傾いたバイアス構造を有し、この構造が低い水膨潤性と湿潤状態での高い力学的性質を与えていることを明らかにしているが、ウシ皮抽出コラーゲングルから同様の構造と力学的性質を示すフィルムを得ることは困難であり、力学的性質の向上策として GTA 処理や DHT 処理による化学架橋の導入を示唆している。これは、人工コラーゲンフィルム開発の指針として非常に有意義である。

これらの処理の内、DHT 処理による架橋はカルボキシ基とアミン間の水素結合が共有結合に変化したものであることを水中および尿素水溶液中での膨潤度測定により明らかにしているが、DHT 処理による架橋の導入に対する最適温度と時間を決定しており、ウシ皮抽出コラーゲングルからの優れた力学的性質を有するフィルムの工業的生産を可能なものとしている。

さらに GTA 処理や DHT 処理を電界紡糸法により得られたブタ皮抽出コラーゲン細管にも適用し、GTA 処理がブタ皮抽出コラーゲン細管の力学的性質向上に最も効果的であることを示した。

本論文に述べられている結果は、天然材料の持つ特異な構造と優れた物性を、同じ化学構造を有する材料の再形成物で達成することは困難であるが、種々の架橋導入プロセスを施すことにより物性の向上が可能であることを示唆しており、十分な新規性と独創性ならびに高い学術的および工業的な価値があると認められた。

本論文の内容は、申請者を筆頭著者とする論文にまとめられ、レフェリーシステムの確立している学会誌に 2 報発表されている。なお、二重投稿等の研究者倫理に反する背徳行為のないことも確認した。

1. **Xuefei Chen**, Lingling Zhou, Huaizhong Xu, Masaki Yamamoto, Masaya Shinoda, Ikuhisa

Tada, Saori Minami, Kenji Urayama, Hideki Yamane, “The structure and properties of natural sheep casing and artificial films prepared from natural collagen with various crosslinking treatments”, *International Journal of Biological Macromolecules*, **135**, 959-968 (2019)

2. Xuefei Chen, Lingling Zhou, Huaizhong Xu, Masaki Yamamoto, Masaya Shinoda, Masanori Kishimoto, Tomonari Tanaka, and Hideki Yamane, “Effect of the Application of a Dehydrothermal treatment on the Structure and the Mechanical Properties of Collagen Film”, *Materials*, 2020, **13**, 377 (2020)