

氏名	そめかわ しょうた 染川 将太
学位(専攻分野)	博士(工学)
学位記番号	博甲第860号
学位授与の日付	平成29年9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	Therapeutic effects of poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol) gel on left ventricular remodeling after myocardial infarction (心筋梗塞後左室リモデリングに対するポリ乳酸-ポリエチレングリコールゲルの治療効果)
審査委員	(主査)教授 浦川 宏 教授 山根秀樹 准教授 青木隆史 国立循環器病センター研究所 生体工学部長 山岡哲二

論文内容の要旨

ゲル注入による心筋梗塞治療は、梗塞後のリモデリングの抑制や心機能改善に期待されており、これまでの治療方法である薬物治療、カテーテル(ステント)治療、外科的治療とアプローチが異なり、新たな治療方法として期待されている。近年、多数の報告がなされており、海外においてはヒトの臨床試験が開始され安全性が報告された。しかし、多くのゲルで治療効果が得られているものの、最適なゲル材料やその物性など不明な点は多い。本研究では、生体内での使用実績があり、生体適合性や安全性が担保されているポリ乳酸(PLA)とポリエチレングリコール(PEG)との共重合体からなり、ステレオコンプレックスを架橋点とする温度応答性ゲルの心筋梗塞治療用ゲルとしての有効性を調べるとともに、ゲル治療に最適な物性を調べるためのゲルの開発を行うことを目的とした。本論文は、その研究成果をまとめたものであり、序章および3章からなっている。

序章は、本研究の背景および目的について述べている。冒頭では、心筋梗塞治療の現状を概観し、心筋梗塞治療用ゲルの必要性について述べている。現在までに心筋梗塞治療用ゲルとして研究されているゲルについてまとめるとともに、現状の問題点を指摘している。さらに本論文で使用する PLA-PEG ゲルの開発例を提示しながら、このゲルの特徴を概観している。

第1章では、乳酸、PEG とコハク酸を p-トルエンスルホン酸と塩化スズ(II)の二元触媒を用いて、直接重縮合法にて PLA-PEG 共重合体の合成を行い、合成条件を検討した。その結果、PLA-PEG マルチブロックポリマーが容易に得られた。また、PLA/PEG 組成比および PEG ブロック鎖長の分子量を変えずに分子量制御ができた。得られたミセルの結晶化度はブロック数が増加するに従って低下し、粒子径はブロック数の増加とともに小さくなることを示した。

第2章では、第1章の合成方法で得られた光学異性の PLLA-PEG と PDLA-PEG ブロック共重合体の分散液を作製し、両者を混合することにより、体温付近でゲル化することを確認した。そして、このゲルの分解特性を調べるために、透析膜(分子量 50000 cut off)にゲルを入れ、37℃の水が入った恒温槽中で4週間の分解試験を行った。また、実際に PLLA-PEG/PDLA-PEG 混合ゲルをラット心筋梗塞モデルの梗塞部に注入した。注入には 32G 針を使用した。ゲル状態で容易

に注入でき、心筋組織からの漏れも軽微であった。混合ゲルを注入してから4週間後には左室内径短縮率が、対照実験として使用した生理食塩水と比較すると有意に改善し($p < 0.05$)、ヒトの臨床試験に使用されているアルギン酸ゲルと比較した場合は同程度の改善効果が示された。梗塞サイズは生理食塩水と比較すると PLLA-PEG/PDLA-PEG 混合ゲル($p < 0.05$)とアルギン酸ゲル($p < 0.01$)は有意に小さかった。左室内腔面積を比較した場合、混合ゲルはアルギン酸よりも縮小しており($p < 0.06$)、アルギン酸よりもリモデリングの抑制効果が高いことが示唆された。また、ゲルが心筋組織内に慢性的な炎症反応を起こしていないかを確認するために、CD68 の免疫染色を行った結果、マクロファージの浸潤がわずかであることを示した。これらの結果により、PLLA-PEG/PDLA-PEG 混合ゲルが心筋梗塞治療用ゲルとして有効であることが示された。

第3章では、PLLA-PEG-PLLA および PDLA-PEG-PDLA トリブロック共重合体の鎖延長法による PLLA-PEG および PDLA-PEG マルチブロック共重合体の合成並びにその混合ゲルの特性について検討した。従来の PLA-PEG ゲルでは、共重合体のブロック鎖長および組成を変えることによってゲル強度、ゲル化時間などを制御してきた。しかしながら、ブロック鎖長や組成変化は、親水・疎水性バランスにも影響を与え、ひいては細胞接着や組織応答も大きく変動する。そこでこれらのバランスを変えることなく、分子量制御が可能なマルチブロックコポリマーに着目し、新たな方法を用いて合成を検討したものである。まず、ラクチドの開環重合法で一定分子量の PEG ブロックと異なる分子量を有する PLA ブロックからなる PLLA-PEG-PLLA および PDLA-PEG-PDLA をそれぞれ3種類合成した。各共重合体にヘキサメチレンジイソシアネート(HMDI)を反応させてマルチブロック化させた。この際、HMDI の量比を変えて分子鎖内のブロック数を制御し、トリブロック体と合わせ12種類のマルチブロック共重合体を作製した。そして、光学異性の共重合体ミセルを混合して温度応答性ゲルを形成させ、そのゲル弾性率およびゲル化時間について調べた。このゾル-ゲル転移もステレオコンプレックス形成に起因し、ブロック数の増加に伴い貯蔵弾性率およびゲル化速度は上昇することが見出された。

論文審査の結果の要旨

本研究では、光学異性のマルチブロック型 PLLA-PEG と PDLA-PEG の混合ゲルの特性を明らかにするとともに、そのゲルの心筋梗塞治療への応用を検討した。その結果、この一連のゲルは温度応答性や生分解性を有しており、心筋梗塞治療用ゲルとして効果的であることを確認した。また、このゲル化システムは、カテーテル治療との組み合わせが可能であり、*in vivo* へのアプローチと治療用ゲルの問題点を改善できる有効な心筋梗塞治療法を提供するものである。また、このゲルの物性を制御する有効な方法も考案されたことで、これまで不可能であったゲルの弾性率やゲル化時間の治療効果への影響を調べ、その最適化を図ることが可能となった。今後のゲル注入治療方法に基づく新しいバイオエンジニアリングの発展に貢献するものと考えられる。

また、本論文の内容は、査読のある学術雑誌に申請者を筆頭著者とする次の2報としてまとめられている。

以上の審査結果より、本論文は博士論文として十分な内容を備えていると判定される。

公表論文：

- (1) Shota Somekawa, Kazunari Masutani, Yu-I Hsu, Atsushi Mahara, Yoshiharu Kimura, and Tetsuji Yamaoka, "Size-controlled nanomicelles of poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol) copolymers with a multiblock configuration", *Polymers* ,2015, **7**, 1177-1191;doi:10.3390/polym7061177,ISSN 2073-4360
- (2) Shota Somekawa, Atsushi Mahara, Kazunari Masutani, Yoshiharu Kimura, Hiroshi Urakawa, and Tetsuji Yamaoka, "Effect of thermoresponsive poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol) gel injection on left ventricular remodeling in rat myocardial infarction model", *Tissue Engineering and Regenerative Medicine* (Accepted)