

システム工学研究科

平成 26 年度

(論文提出による)

(平成27年3月)

光 田 益 士

学位論文審査結果の報告書

氏 名 光田 益士

生 年 月 日 昭和 54 年 9 月 21 日

本 籍 (国籍) 岐阜県

学位の種類 博 士 (工 学)

学位記番号 シ 第 20 号


学位授与の条件 学位規程第5条2項該当
(博士の学位)


論 文 題 目


側鎖の荷電構造を制御したポリマーバイオマテリアルの

調製と生体適合性及び抗菌活性に関する研究

審 査 委 員

(主 査) 白石 浩平 ① 

(副主査) 野村 正人 ① 

(副主査) 伊藤 一明 ① 

(副 査) 上嶋 繁 ① 

(副 査) ①

論文内容の要旨

高齢化社会からさらに進んだ高齢多死化社会へ急速に進行する我が国の現状では、病院機能の分担等の社会システムの再構築に付随させて、従来の診断や治療を中心とした医療のみならず、予防医療や、遺伝子治療、再生医療などの高度先進医療を含めた総合的な医療体制の充実が不可欠となる。この課題解決のためには、効率化、迅速化、低コスト化を実現しうる医療体制の高品質化、さらに、相互に連携した医療システムを構築し、持続的に発展させなければならない。診断・予防を含む薬剤、医療デバイス、介護・医療補助器具、ロボットなどの電子機械装置、並びに関連システムの開発が不可欠で、これらに利用されるバイオマテリアルの設計・合成法は最も進展が求められる重要な技術の1つとなっている。

本研究では、上記の未来医療体制に適合させやすいバイオマテリアルとして、力学的性能に優れ、低コストで大量に高品質な供給が可能な人工材料ポリマーバイオマテリアルを採用している。「特定のタンパク質を変性させることなく、高感度分析が可能な新規素材の提供」、「血栓溶解性能を含む、持続的に安定した抗血栓性を発揮できるポリマーバイオマテリアルの提供」、並びに「抗菌活性と生物学的安全性の両方に優れた材料を簡便に調製できるポリマーバイオマテリアルの提供」といった医療技術に密着した課題解決を目的としている。ポリマーバイオマテリアルのもつ自由度の高い設計・合成の特長を活かし、とくにポリマーバイオマテリアルの側鎖荷電構造の制御から、調製素材と生体分子及び含浸機能性素材間に最適な分子間相互作用を与えて、材料本来の性能に加えて、血液適合性及び抗菌活性といった新しい機能の付与に関する研究を行なった。

本論文は、上記課題を解決するポリマーバイオマテリアルの分子設計・合成及び機能・性能評価からなる5つの章から構成されている。

第1章では、両性イオン構造のポリマー鎖の外部環境変化に伴うコンフォメーションの変化に着目し、両性イオン構造poly(O-methacryloyl-L-serine) [poly(SerMA)]並びに疎水性蛍光プローブ分子をラベル化したpoly(SerMA-co-2-(Dansyloxy)ethyl methacrylate) [poly(SerMA-co-DnsEMA)]を開発について論述した。Poly(SerMA-co-DnsEMA)はpHによって変化する主鎖のコンフォメーションに同期した疎水性環境をプローブ分子が認識するpH応答性ポリマーで、血漿タンパク質との非特異的な相互作用が認められない。*in situ*生体環境下、高感度微量多検体分析への応用の可能性を明らかにした。

第2章では、血液線溶系因子プラスミノゲンとの特異的相互作用によって線溶活性を発現する血液適合性材料について論述した。プラスミノゲンがもつlysine binding siteに着目し、側鎖にL-リジン基を有する両性イオン構造poly(N α -methacrylamide-L-lysine) [poly(α -LysMA)]並びにpoly(N ϵ -methacrylamide-L-lysine) [poly(ϵ -LysMA)]を開発した。poly(α -LysMA)はプラスミノゲンとの特異的相互作用を示し、poly(α -LysMA)の存在下でプラスミノゲン/組織プラスミノゲンアクチベータによる血栓溶解活性が亢進することを示した。従って、poly(α -LysMA)は、血中の線溶因子を能動的に活用して抗血栓を持続的に発現する材料であることを明らかにした。

第3章では、抗菌剤として知られる銀(Ag)のポリマーからの放出制御を目的として、Ag含有ハイドロコロイド創傷被覆材(Biohesive Ag)を設計・合成について論述した。市販のAg含有創傷被覆材(Aquacel Ag, Algisite Ag, Mepilex Ag, Polymem Ag)を比較として、Agの放出試験、抗菌試験、及び細胞毒性試験を実施した。Biohesive Agは抗菌活性を示したが、細胞毒性は他のAg含有創傷被覆材と比較して最も弱かった。Agの放出特性を検討した結果、Biohesive Agは他のAg含有創傷被覆材と比較して放出量が少ない傾向にあることを明らかにした。

第4章では、ポリマーからの抗菌剤の放出制御を目的に、有機系抗菌剤cetylpyridinium chloride (CPC)を含有したpolyvinyl alcohol (PVA)を基材としたハイドロゲル(CPCゲル)を開発し、簡便かつ安全な調製法とその抗菌活性の評価について論述した。CPCゲル中のほとんどのCPCは、主としてPVAとの静電的な相互作用によって吸着していることを示した。CPCは、PVAへの静電的吸着あるいは γ 線照射による材料構造の変化は認められないことから、抗菌剤としての化学特性は維持している。CPCゲルからのCPCの放出量は僅かであり、その抗菌活性はCPCゲルと接触した部位のみで発現することを明らかにした。

第5章では、CPCゲルの抗菌特性、放出特性、細胞毒性の評価と動物を用いた創傷治癒実験から実使用への可能性について論述した。polyhexamethylene biguanide含有ハイドロゲル(PHMBゲル)を比較として評価した結果、CPCゲル及びPHMBゲルは、創感染の原因として知られる黄色ブドウ球菌と緑膿菌に対して強い抗菌活性を示した。一方、細胞毒性試験の結果、CPCゲルの細胞毒性は低かったが、PHMBでは強い細胞毒性を認めた。この結果は、CPCゲルの放出特性によって説明することができた。また、細菌の生育阻止円の形成が認められないことから、CPCゲルは材料表面のみで強い抗菌特性を発揮するが、その周囲には有害な影響を与えないことを示した。さらに、ラットを用いた創傷治癒実験によって、CPCゲルの創傷治癒性能は抗菌剤未含有のハイドロゲルと同程度であることを明らかにした。

以上の結果から、合目的なポリマーバイオマテリアルを簡便かつ生体分子や機能性素材との有効な相互作用を考慮してテラーメイドに調製する手法を提出し、得られたpoly(SerMA-co-DnsEMA)、poly(α -LysMA)、及びCPCゲルは、血液適合性あるいは抗菌活性に優れたポリマーバイオマテリアルであることを明らかにした。これらの素材の設計・合成法は、ポリマーバイオマテリアルの開発に広く活用できること、並びに産製品として使用しうる有用性を示した。

論文審査結果の要旨

高齢多死社会では、診断や治療を中心とした医療のみならず、予防医療や、遺伝子治療、再生医療などの高度先進医療を含めた総合的な医療体制の充実が必要となる。この課題解決のために、薬剤や医療機器が組み込まれたシステム開発の創製が不可欠である。医療の中核技術の1つであるバイオマテリアル開発では、様々な視点からポリマーバイオマテリアルの調製と評価が検討されているが、最適な材料設計・合成指針は未だに確立されていない。

本研究では、バイオマテリアルに関する中心的な課題である「特定のタンパク質を変性させることなく、高感度分析が可能な新規素材の提供」、「血栓溶解性能を含む、持続的に安定した抗血栓性を発揮できるポリマーバイオマテリアルの提供」、並びに「抗菌活性と生物学的安全性の両方に優れた材料を簡便に調製できるポリマーバイオマテリアルの提供」の解決を目的に、側鎖荷電構造の制御という視点から、バイオマテリアルを設計・合成し、その血液適合性及び抗菌活性の評価に関して、5つの章に亘って論述されている。

第1章では、両性イオン構造のポリマー鎖の生体適合性と外部環境変化に伴うコンフォメーションの変化に着目し、溶液中のpHやタンパク質の新しい検出素材への活用を基礎的な検証について論述している。両性イオン構造のpoly(0-methacryloyl-L-serine) [poly(SerMA)]並びに疎水性環境を認識する蛍光分子をラベル化したpoly(SerMA-co-2-(Dansyloxy)ethyl methacrylate [poly-(SerMA-co-DnsEMA)]を新規調製した。Poly(SerMA-co-DnsEMA)が、pHに同期して変化するコンフォメーションを疎水性環境プローブの蛍光強度に変えることに成功した。血漿タンパク質との相互作用を解析した結果、グロブリンやフィブリノーゲンとは非特異的な吸着がなく、血中濃度の高いアルブミンとの相互作用を見出し、アルブミン吸着により生体適合性が強化されることも示した。従って、poly(SerMA-co-DnsEMA)は、生体試料中、広範囲な*in situ* pHセンサーとして、高感度な蛍光検出法により、少量かつ多検体同時分析が可能な材料であることを明らかにした。

第2章では、プラスミノーゲンがもつlysine binding siteに着目し、側鎖にL-リジン基を有する両性イオン構造の新規poly(N α -methacrylamide-L-lysine) [poly(α -LysMA)]、並びにpoly(N ϵ -methacrylamide-L-lysine) [poly(ϵ -LysMA)]の開発と血栓溶解活性などについて論述している。プラスミノーゲン/組織プラスミノーゲンアクチベータを用いた酵素反応実験の結果、poly(α -LysMA)の存在下、血栓溶解活性の亢進した。また、分子間相互作用解析の結果、poly(α -LysMA)はプラスミノーゲンとの特異的相互作用があることを見出した。これらの結果は、poly(α -LysMA)を固定化した材料表面が、血液との接触によって、能動的に抗血栓性を与えるという新しい発想をベースとするもので、中・長期に亘り持続的かつ安定な抗血栓性を発揮するポリマーバイオマテリアルであることを明らかにした。

第3章では、抗菌剤Agのマトリックスポリマーからの放出制御を目的として、Ag含有ハイドロコロイド創傷被覆材(Biohesive Ag)の設計・合成及びその性能について論述されている。市販のAg含有創傷被覆材(Aquacel Ag, Algisite Ag, Mepilex Ag, Polymem Ag)を比較として、Agの放出試験、抗菌試験、並びに細胞毒性試験が実施された。Agマトリックスとなるポリマーバイオマテリアルの親・疎水性構造を制御したBiohesive Agは、抗菌活性を示したが、細胞毒性はその他のAg含有創傷被覆材と比較して最も弱かった。さらに、Agの放出特性をから、Biohesive Agはその他のAg含有創傷被覆材と比較してAg放出量が少ない傾向にあった。従って、Biohesive Agは抗菌活性と生物学的安全性の両方を兼ね備えたポリマーバイオマテリアルであることを明らかにした。

第4章では、有機系抗菌剤cetylpyridinium chloride (CPC)を含有したpolyvinyl alcohol (PVA) / polyvinyl pyrrolidoneハイドロゲル(CPCゲル)の簡便かつ安全な調製と機能評価について論述されている。CPCとの静電的及び疎水性結合できるマトリックスとして汎用樹脂PVAを選択した。PVAからのCPCの放出は、CPC/[$-OH$] in PVAのモル比が 4.1×10^{-2} より大きい時に起こり、ゲル中、殆どのCPCがPVAとの静電的な相互作用によって吸着していることを示した。また、CPCは、PVAへの静電的吸着と γ 線照射による滅菌工程中に作出される架橋構造によって放出が制御された。含浸CPCの γ 線照射による構造変化はなく、抗菌剤としての機能を維持している。さらに、CPCゲルからのCPCの放出量は僅かとなり、その抗菌活性はCPCゲルと接触した部位のみで発現することを見出した。従って、CPCゲルは抗菌剤の過剰な放出による組織障害のリスクが低いポリマーバイオマテリアルであることを明らかにした。

第5章では、CPCゲル及び比較として調製したpolyhexamethylene biguanide含有ハイドロゲル (PHMBゲル) の抗菌特性、放出特性、細胞毒性を *in vitro* で評価した後、動物を用いた創傷治癒実験から実使用への可能性が論述されている。CPCゲル及びPHMBゲルは、いずれも創感染の原因として知られる黄色ブドウ球菌と緑膿菌に対して強い抗菌活性を示した。一方、細胞毒性試験の結果、PHMBでは強い細胞毒性を示すのに対し、CPCゲルの細胞毒性は低く、0.08% CPCゲルではIC50値を示さなかった。また、細菌の生育阻止円の形成が認めないCPCゲルは、材料表面のみで強い抗菌特性を発揮するが、その周囲には有害な影響を与えないことを明らかにした。さらに、ラットを用いた創傷治癒実験から、CPCゲルの創傷治癒性能は抗菌剤未含有のハイドロゲルと同程度であった。従って、材料表面のみで、強い抗菌特性を有するCPCゲルは、創表面の正常細胞を大きく障害することなく治癒する抗菌活性と生物学的安全性の両方に優れたポリマーバイオマテリアルであることを明らかにした。

以上の結果から、本研究で調製したpoly(SerMA-co-DnsEMA), poly(α -LysMA), 及びCPCゲルは、理論的なポリマー側鎖荷電構造の設計から合目的的（血液適合性あるいは抗菌活性等）な機能を簡便に与え、実用性能をもつポリマーバイオマテリアルを調製している。新しい設計指針と調製法から作出された合目的的な機能及び性能をもつバイオマテリアルには、従来にない新規性並びに進歩性を認め、材料の簡便な調製法に及んだ設計・合成法はバイオマテリアル開発に関して幅広い課題解決を与えられられる。さらに、血液適合性材料あるいは創傷被覆材料としての一部実用化もされており、今後の産業応用への拡がりもある。

従って、本論文は、学術的にも工学的にも意義があり、博士（工学）の学位授与を相当と認める。