

学位論文の要旨

氏名	宮廻 寛
学位論文題目	新規な脂肪族ポリエステルへの再生医学用材料への応用に関する研究

本論文では医療現場などで用いられる生体材料、特に組織工学用材料の開発とその適性評価についてまとめたものである。今回は柔軟性に富み、生体適合性が良好な材料を調製するために、ポリマー合成から膜状や円柱状などアプリケーションへ適用できる形の材料の調製までを行い、その熱的特性、表面特性、モデル細胞やタンパク質を用いた生体適合性評価について検討した。

第二章では生分解性高分子としてよく知られている ϵ -caprolactone (CL)と lactide (LA)を用いてCLとLAの組成比が異なる分岐型共重合体を合成し、その末端にacryloyl基を導入することによって反応性の高い分岐型macromonomerの合成を行った。そして開始剤としてbenzoyl peroxide (BPO)を用いて80 °C、2時間反応することにより柔軟性に富み、成形安定性の高い架橋膜を調製した。さらに、これらの架橋膜の熱的特性、表面特性について評価した結果、共重合体中のCLとLAの組成比の変化に伴い熱的特性は変化したが生体適合性に違いはなかった。これらの結果から、分岐型を有すること、CLとLAを共重合させること、そして架橋構造を有することにより結晶性を低下させることができたため、このような柔軟性に富み、成形安定性や成形加工性に優れた材料を調製できたということが示唆できた。さらに、第二章では生体材料への応用展開を目指して、架橋膜の生体適合性についても検討した。モデル細胞としてヒト子宮癌細胞(HeLa細胞)を用いてin vitroでの細胞接着性・増殖性評価を行った。これより、それぞれの架橋膜で表面特性に差がなかったにもかかわらず、CL-LA70/30c(ここで、CL-LAX/YcはCL

がX mol%、LAがY mol%の組成を持つ分岐型macromonomerから調製した架橋膜を示す)はTCPSと同等の細胞接着性・増殖性を示した。さらに、FBS溶液中でのタンパク質吸着性について検討したところ、CL-LA7030cは最もタンパク質吸着量が多いことがわかった。これらの結果から、CL-LA70/30cは再生医学用材料として利用可能であることがわかった。

第三章では、第二章の応用展開として三次元多孔質材料を調製し、再生医学用材料としての適正評価を行った。第二章で調製し、生体適合性に優れていることがわかったCL-LA70/30m(ここで、CL-LAX/YmはCLが X mol%、LAがY mol%の組成を持つ分岐型共重合体から合成したmacromonomerを示す)を用いて多孔質材料の調製を行った。Porogenとしてふるいにかけた粒径の異なる4種類のNaClを用いて熱重合することによりscaffoldを調製した。調製した材料はスポンジのように柔らかく、また重量測定によって求めた空隙率、37 °C、PBS中での含水率試験、SEMによる内部観察の結果、今回調製した材料は多孔質構造を有し、含水率も非常に高いことから培地や栄養分等を多く含み、scaffoldの細孔内で細胞が生育しやすい環境を与えることが示唆できた。また、ヒト膀胱癌細胞(HBCC)を用いた生体適合性評価では、インキュベーション時間に伴い細胞が材料表面もしくは内部に浸透し、接着、伸展していることが明らかとなった。このようことから、CL-LA7030mから調製したscaffoldは組織工学などで用いられる足場材料として利用されることが期待できることがわかった。

第四章では新規な材料の調製方法として光架橋反応による材料の調製を行った。CL-LA70/30mと光開始剤を用いて光架橋膜を調製し、熱的特性、表面特性、生体適合性について検討した結果、非常に柔軟性に富み、生体適合性に優れた材料を調製することに成功した。

したがって、分岐構造を有する新規なCL-LA共重合体をベースとし、架橋反応によって調製した材料は、柔軟性に富み、生体適合性も良好であることがわかった。これらの材料は再生医学などで用いられるscaffold材料として利用されることが期待できる。

論文審査の要旨

報告番号	理工研 第282号	氏名	宮廻 寛
審査委員	主査	青柳 隆夫	
	副査	門川 淳一	鮫島 宗一郎
副査			
学位論文題目	Studies on Newly Designed Aliphatic Polyesters for Tissue Engineering Materials (新規な脂肪族ポリエステルへの再生医学用材料への応用に関する研究)		
審査要旨	<p>提出された学位論文及び論文目録等を基に学位論文審査を実施した。本論文は新規な脂肪族ポリエステルの再生医学用材料への応用に関する研究について述べたもので、全文5章より構成されている。</p> <p>第1章は（序章）である。第2章では生分解性高分子としてよく知られているカプロラクトン（CL）とラクチド（LA）を用いてCLとLAの組成比が異なる分岐型共重合体を合成し、その末端にアクリロイル基を導入することによって反応性の高い分岐型マクロモノマーの合成を行った。そして、熱増感剤としてベンジルペルオキシドを用いて80℃、2時間反応することにより柔軟性に富み、成形安定性の高い架橋膜の調製に成功した。さらに、これらの架橋膜の熱的性質、表面特性、および細胞やタンパク質を用いた生体適合性評価について検討した結果、CL-LA70/30c（ここで、CL-LAX/YcはCLがX mol%、LAがY mol%の組成を持つ分岐型マクロモノマーから調製した架橋膜を示す）は柔軟で生体適合性の良好な材料であることがわかった。これらの結果から、CL-LA70/30cは再生医学用材料として期待できることがわかった。</p> <p>第3章では、第2章の応用展開として三次元多孔質材料を調製し、再生医学用材料としての実用性について検討した。第2章で生体適合性に優れていることがわかったCL-LA70/30m（ここで、CL-LAX/YmはCLがX mol%、LAがY mol%の組成を持つ分岐型共重合体から合成したマクロモノマーを示す）と鋳型としてNaClを用いて、第2章と同様の方法で架橋反応した結果、柔軟な多孔質材料の調製に成功した。これらのscaffoldの空隙率評価、内部構造観察、そして含水率試験の結果、今回調製したscaffoldは培地や栄養分等を多く含み、scaffoldの細孔内で細胞が生育しやすい環境を与えることが示唆できた。また、ヒト膀胱癌細胞（HBCC）を用いた生体適合性評価では、インキュベーション時間に伴い細胞が材料表面もしくは内部に浸透し、接着、伸展していることが明らかとなった。このようことから、今回調製したscaffoldは組織工学などで用いられる足場材料として実用的であることが示唆できた。</p> <p>第4章では、第2、3章とは異なる新たなアプローチ方法として光架橋反応により材料の調製を行った。第2章で生体適合性の良好な材料が調製できることがわかったCL-LA70/30mと光増感剤を用いて光照射することにより光架橋膜を調製し、その架橋膜の熱的性質、表面特性および生体適合性について検討した結果、今回の調製法でも柔軟性に富み、生体適合性に優れた材料を調製することができることがわかった。従って、光架橋反応による調製方法でも再生医学等で用いられる足場材料としての応用展開が期待できることがわかった。</p> <p>第5章は（結論）である。</p> <p>以上本論文は新規な脂肪族ポリエステルの再生医学用材料への応用に関する研究で、分岐型を有するポリマーを合成し、そのポリマーを用いて様々なアプローチ方法により柔軟な材料を調製し、その熱的性質、表面特性および生体適合性について検討を行い、再生医学で用いられる足場材料として実用的であることを明らかにした。これは再生医学に貢献する新たな医用材料として大きく寄与する。</p> <p>よって、審査委員会は博士（工学）の学位論文として合格と判定する。</p>		

最終試験結果の要旨

報告番号	理工研 第282号	氏名	宮廻 寛
審査委員	主査	青柳 隆夫	
	副査	門川 淳一	鮫島 宗一郎
<p>2008年2月14日11時00分より理工系総合研究棟2階のプレゼンテーションルームにおいて、学位論文発表会が開催された。32名の出席者があり、本研究の背景、実際の研究の経緯、応用の可能性についての詳細な発表と質疑応答が行われた。具体的には、組織工学用の材料開発を目的に、生分解性脂肪族ポリエステル分子鎖の構造に特徴を持たせ、柔軟性と整形性に優れた材料の設計と調製、表面の性質を詳細に検討した。さらに市販の細胞培養皿に匹敵する細胞増殖性を明らかにし、細胞用蛍光物質を用いた実験を行ってその理由を考察した。さらに足場材料の作成、膀胱上皮細胞を用いた評価を行い、軟組織への可能性を言及した。その後、両副査を含め会場から研究全般にわたる質疑応答が行われた。おもな内容は以下の通りである。</p> <p>【質問】柔軟性のある材料を設計するのに分岐構造や共重合体を用いた理由は。</p> <p>【回答】従来の材料は結晶性が高く、堅い性質を示すので、結晶性を低下させることを目的とした。分岐構造は、分子鎖が並ぶ結晶形成を阻害し、結果として結晶化の度合いを低下させると考えられる。また、共重合体を用いたのも結晶性を低下させるためである。さらに、原料のラクチドもL体ではなく、D,L-体を用いて、できるだけ結晶性を低下させた。</p> <p>【質問】複合材料としているが、その比率の物性に及ぼす線形性が見られるか。</p> <p>【回答】表面物性を中心にそれらを検討したが線形性は無いようである。例えば、表面のESCA分析ではC、H、O元素の組成に変化が見られず、アルキル鎖が表面に濃縮されているような結果であり、カプロラクトン、ラクチドの組成を変化させてもそれらに差はなかった。</p> <p>【質問】NaClを用いて多孔性の足場材料を調製しているが、ポアサイズによって細胞の増殖性に差はないのか。</p> <p>【回答】粒径の異なるNaClを用いて、ポアサイズの異なる足場材料を調製したが、細胞接着性や増殖性を評価したのは1種類のみである。おそらくポアサイズが小さすぎると培地の浸透性や交換がうまくいかず、細胞増殖性が低下すると考えられる。</p> <p>【質問】細胞の接着性や増殖性が優れた材料表面ではタンパク質の吸着が増進しているという結果であるが、なぜ吸着量が多いのか。</p> <p>【回答】タンパク質吸着に影響するのに表面の濡れ性が考えられたので、それを確かめたが温度に対して濡れ性に差はなかった。この材料は融点が細胞培養温度よりも低く、おそらく表面が融解している状態である。その結果、表面の粗さが増して物理的に吸着量が増進したか、または構成している連鎖の運動性が向上し、タンパク質分子との相互作用が増してその結果、吸着量が増加したものと考えられる。</p> <p>【質問】同じ分岐型マクロモノマーを用いて架橋させるのに光照射と熱重合を試しているがそれらに差はあるのか。</p> <p>【回答】光架橋の方が極めて迅速に反応が進むこと、整形がしやすいといった特徴を有しているが、得られた材料間で根本的な差はない。細胞接着に置いても同様の結果が得られている。</p> <p>以上のように各質問に対して的確な回答が得られ、審査委員会は申請者が博士課程の修了者としての学力ならびに見識を有するものと認め、博士(工学)の学位を与えるに足りる資格を有するものと判定した。</p>			