

研究報告書

「ゲル化臨界クラスターを基盤としたゲルシステムの創製」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 26 年 10 月～平成 30 年 3 月

研究者: 酒井 崇匡

1. 研究のねらい

高分子ゲルは、高分子の三次元網目が最大で 99%以上の溶媒を含んで膨潤した物質である。溶媒として水を用いたものは高分子ヒドロゲルと呼ばれ、生体組織類似の組成に由来した生体適合性を持つ。そのバイオマテリアルとしての応用例はソフトコンタクトレンズ(SCL)であり、近年では、細胞足場材料や組織代替材料など広く応用研究がなされている。しかしながら一方で、現在においても SCL と同等に普及しているヒドロゲル製のバイオマテリアルは存在しない。つまり、SCL が開発された 1970 年代から SCL を超えるキラーアプリケーションが開発されていないと言い換えることもできる。

その要因の一つは、高分子ゲルの材料としての理解が十分ではなく、実用において求められる多くの特性を同時に満たすことが困難であるためであると考えられる。ヒドロゲルをバイオマテリアルとして用いる場合には、ゲル化や、力学特性、薬物放出特性、分解特性などを適切に制御する必要があり、その同時・独立制御は困難を極める。

本研究では、特に生体内において用いられるヒドロゲルに主眼を置き、生体内において任意の時間でゲル化させることが可能で、埋植された部位で形状安定性を持ち、任意の力学特性を持ち、任意の時間で分解させることが可能なゲルシステムを構築することを目的とする。

2. 研究成果

(1) 概要

ハイドロゲルは生体軟組織と非常に似通った組成・性質を有しているために、バイオマテリアルとして非常に有用であると考えられる。医療用ハイドロゲルを実用化するためには、ハイドロゲルが生体内で果たす機能だけではなく、ハイドロゲルを生体内に埋植する方法や、生体内における分解挙動についても考慮する必要がある。

例えば、分解について考えると、多くのハイドロゲルは、生体内では様々な要因により劣化し、膨潤の後に溶解するという挙動を見せる。ハイドロゲルの持つ膨潤圧は、生体を傷害する可能性がある程度に大きいため、閉鎖環境にゲルを埋植するような場合には、膨潤圧を減じるような設計を行う必要がある。また、完全に分解するまでの時間も、制御されるべき因子である。埋植する方法について考えてみると、ゲルをあらかじめ体外で作って体内に埋植することは、侵襲度が高いために、多くの場合好まれない。一方で、体内でゲル化するインジェクタブルゲルは注入が可能のために、侵襲度が低く、好ましい。インジェクタブルゲルにおいては、ゲル化するまでの時間の制御は重要となる。止血が目的であれば、ある程度速やかにゲル化する必要があるし、欠損部を埋めるような用途の場合には、数分程度でゲル化することが好ましい。このように、「つくる」→「つかう」→「こわす」を含む、ハイドロゲルのライフサイクル全体を設計する必要があると考えられる。本研究では、生体内において任意の時間で作製でき、か

つ、分解誘起膨潤を起こさないようなハイドロゲルを設計・作製した。また、うち、1つについては、実際に人工硝子体としての応用可能性についても示した。

(2) 詳細

研究テーマ A「Tetra-PEG ゲルのゲル化臨界挙動の理解」

本研究の根幹となる部分は、ゲル化過程を自在に制御することである。ゲル化過程において、物質は流動性のあるゲル状態から流動性を失ったゲルへ変化する(ゾル・ゲル転移点)。ゾル・ゲル転移点はゲル化臨界点とも呼ばれる。ゲル化のにおいて重要なパラメーターは、高分子濃度とゲル反応の反応率(結合率)の二つであるが、結合率の実測の困難さから、厳密な理論の検証は行われてこなかった。

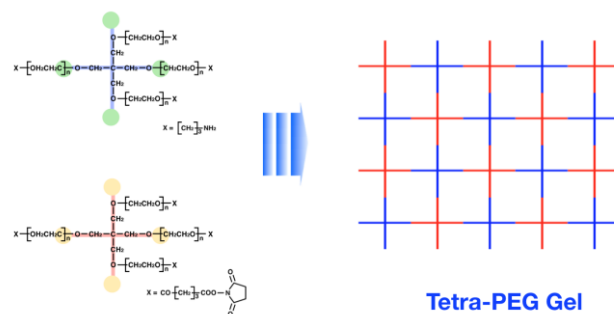


図1: TetraPEGゲルの模式図

近年我々は、末端にアミノ基と活性エステル基を有する4分岐ポリエチレングリコール (TetraPEG) 同士のcrosslink-couplingにより、TetraPEGゲルを作製した(図1)。これまでの研究で、TetraPEGゲルの末端間の反応率は赤外分光法により評価でき、その最終反応率は約95%と非常に高いことが分かった。本研究では、TetraPEG プレポリマーを非化学量論比で混合することによりゲル化臨界点近傍の溶液を種々の濃度で作製し、これらの臨界溶液において、ポリマー体積分率とゲル化臨界反応率の関係の調査を行うことを目的とした(論文5)。

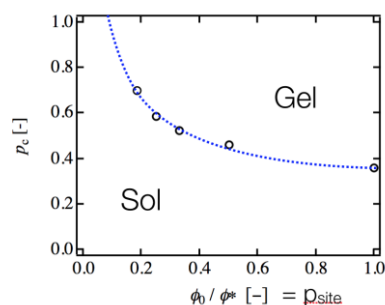


図2: TetraPEGゲルのゾル・ゲル転移の相図

各々のTetraPEGプレポリマーを様々な等量比で混合し、Winter-Chambonの条件に従い、レオメーターによるゲル化の判定を行った。その結果として、プレポリマー間のゲル化臨界比率を求めた。さらに、ゲル化臨界の溶液に対して、NMR測定を行うことによって、末端間の結合している確率(ρ_c)を実測した。 ρ_c はポリマー体積分率(ϕ_c)の増加に伴い減少した(図2)。これはポリマー体積分率の低下に伴って、網目構造を構築するために必要な結合率が増加することを示唆している。より詳細な考察を行うために、サイト・ボンドパーコレーションのシミュレーション結果との比較を行った。その結果、比較的高いポリマー体積分率では、実験値と予測値は

近い値を取り格子近似が成り立つが、低い体積分率領域でゲルを調製した場合、実験値は予測値よりも低い値を取り、パーコレーション理論が低濃度領域では成り立たないことが示唆された。このように、TetraPEGプレポリマーからなるゲル化過程の詳細を明らかにした。

研究テーマ B「低高分子濃度にも関わらず短時間でゲル化するゲルシステムの開発」

前述のように、ハイドロゲルは生体内で劣化し、膨潤の後に溶解するという挙動を見せる。よって、生体閉鎖環境にゲルを埋植するような場合には、膨潤圧を減じるような設計を行う必要がある。ゲルの浸透圧(π)を抑制する方法の一つは網目の体積分率(ϕ)を低減する方法である。濃度の低減は、浸透圧を抑制に直結するが($\pi \sim \phi^2$)、一般に、 ϕ を低減するとゲル化時間が劇的に長くなり、ゲル化する前に埋設箇所からプレゲル溶液が流出してしまうなどの新たな問題が誘起される。低濃度の高分子から速やかにゲルを作製するためには、新たな分子設計をする必要がある。効率的なゲル化のためには、プレポリマーの高い分子量と分岐数が必要である事が理論的に予測されている。

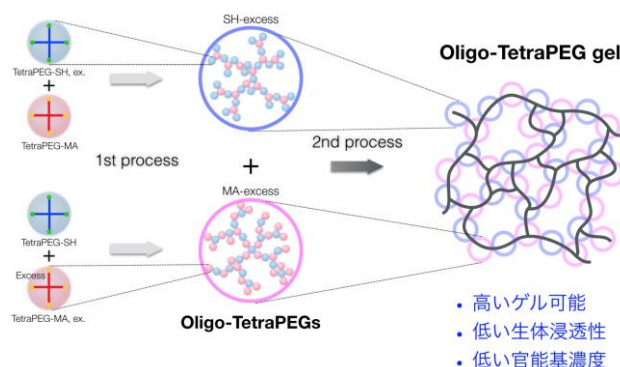


図3: oligo-TetraPEGゲルの作製スキーム

ゲル化臨界点近傍で得られるゲル化臨界クラスターは、多くの分岐を有する巨大高分子であり、上記の要件に叶うものである。そこで、ゲル化臨界クラスター(Oligo-TetraPEG)をプレポリマーとして用い、極めて低濃度の高分子成分からなるインジェクタブルゲル(Oligo-TetraPEGゲル)を創製することを目的とした(図3)。相互に結合可能な2種類の四分岐ポリエチレングリコール(Tetra-PEG)を、非等量で混合することにより、oligo-TetraPEGクラスターを得た。次に、逆の等量比で作製した2種類のoligo-TetraPEGクラスター溶液を任意の濃度(c)に希釈し、その後等量混合することにより、oligo-TetraPEGゲルを作製した。単純に、TetraPEG-SHとTetraPEG-MAの溶液を直接混合した際(Tetra-PEGゲル)のゲル化時間について見ると、 c の減少($c: 9 \text{ g/L} \rightarrow 6 \text{ g/L}$)に伴い、 t_g は5分から320分へ増加した。一方で、oligo-TetraPEGゲルは最短で1分($c = 9 \text{ g/L}$)、長くても15分以内($c = 4 \text{ g/L}$)にゲル化し、同濃度のTetraPEGゲルよりも短時間でゲル化可能であることが示唆された。さらに、弾性率について比較すると、oligo-TetraPEGゲルは同一濃度において常にTetraPEGゲルよりも高い弾性率を示した。TetraPEGゲルよりも、oligo-TetraPEGゲルの弾性率の方が高いという結果は、超多分岐・超巨大高分子間のAB型ゲル化反応が、効率的であることを強く示唆している。また、このような小さい濃度の変化に対し、得られた弾性率は $1 - 10^3 \text{ Pa}$ と、幅広い生体軟組織に適応可能なものであった。さらには、ゲルの膨潤圧を実測した結果、この濃度の範囲では、ゲルの膨潤圧はおおよそ 1 kPa 以下であり、眼圧($1.0 - 2.0 \text{ kPa}$)と比べても小さい値であった。この結果より、生体内に臨界ゲルを埋設した場合、膨潤による周辺組織への圧迫の影響は従来のゲ

ルに比べて極めて小さいと予想された。実際に、動物モデルを用いて、人工硝子体としての評価を行った結果、毒性や組織障害、眼内の混濁、眼圧の上昇を引き起こすことなく、長期安定的に機能することが明らかとなった。今後、広範な生体内閉鎖腔に対して適応可能なバイオマテリアルとしての応用が期待される。

3. 今後の展開

これまでの研究より、oligo-TetraPEG ゲルは人工硝子体として適応が可能である事が強く示唆され、現在では実用化を目指した研究も進んでいる。今後は、さらに薬剤を内包させることによる薬物徐放担体としての利用や、癒着防止剤、止血剤などの眼科領域以外への適用も期待される。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

本研究において最も重要だった点は、従来の技術では不可能であった「低高分子濃度のハイドロゲルを短時間で作る」ための方法論を構築し、分子技術まで昇華させることであった。本研究では、まず高分子ゲルのゲル化過程の精密な解析・理論化を行い、現象の理解に努めた。次に、得られた知見から新しいゲルのプレポリマーを設計・合成し、当初の目的であった「低高分子濃度のハイドロゲルを短時間で作る」事に成功した。本研究は、修士学生1名、博士学生1名の協力を受けて行った。最終的には、眼科医の協力も得て、人工硝子体としての応用例も示すことができたことから、当初の目的を十分に達成できたと自己判断している。

本研究で確立されたプレポリマーの分子形状によりゲル化過程を制御する技術は、他の物性とは独立にゲル化を制御できる方法論である。そのため、近い将来、超短時間でゲル化できる止血用ハイドロゲルや、超低刺激性の癒着防止用ハイドロゲル、薬物徐放用ハイドロゲルなど、様々な医療用ハイドロゲルの開発に資すると期待される。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

近年、新たな機能性ゲルや高強度ゲルが続々と開発される中で、本さきがけ研究者は高分子ゲルを生体内で用いるための必要最低限の機能を、「生体内に安全に留置でき、形状安定性を持ち、そして安全に壊すことが出来ること」と定義し、その機能を創出するための分子技術を展開した。本研究は、まずゲル化を物理的に理解し、得られた知見を持って、これまでに無い分子設計を提案し、最終的には求められた機能を実現した。そして、得られたゲルが人工硝子体として機能することを示し、網膜剥離を治療する事に成功するなど、当初の目標を超える成果を上げている。この成果は、初めてのハイドロゲルからなる人工硝子体としてプレス発表され、新聞記事として報道された。本研究における、問題点を抽出し、逆問題を解く形で必要な機能を選定し、その機能を汎用的な方法論を持って実現するという手法は、まさに分子技術の目指すものである。また、本さきがけ研究の成果が認められ、Gordon Research Conferenceに招待されるなど国際学会の招待講演が増え、本分野のトップランナーの一人として注目されるようになり、研究者としての飛躍につながっている。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表(以下を含む30報)

1. K. Khairulina, U. Chung, T. Sakai, “Hydrogels with tuned electro-osmosis: potential model system to understand electro-kinetic transport in biological tissues”, *Journal of Materials Chemistry B*, 5, 4526–4534 (2017).
2. X. Li, K. Hirose, T. Sakai, EP. Gilbert, M. Shibayama “SANS Study on Critical Polymer Clusters of Tetra-Functional Polymers”, *Macromolecules*, 50, 3655–3661.
3. K. Hayashi, F. Okamoto, S. Hoshi, T. Katashima, DC. Zujur, X. Li, M. Shibayama, EP. Gilbert, U. Chung, S. Ohba, T. Oshika, T. Sakai, “Fast-forming hydrogel with ultralow polymeric content as an artificial vitreous body” *Nature Biomedical Engineering*, 1, 0044 (2017)
4. H. Kamata, K. Kushiro, M. Takai, U. Chung, T. Sakai, “‘Non-osmotic’ hydrogels: a rational strategy for safely degradable hydrogels” *Angewandte Chemie International Edition*, 55, 9282–9288 (2016).
5. T. Sakai, T. Katashima, T. Matsushita, U. Chung, “Sol-gel transition behavior near critical concentration and connectivity”, *Polymer Journal*, 48, 629–634 (2016).
6. S. Kondo, T. Hiroi, YS. Han, TH. Kim, M. Shibayama, U. Chung, T. Sakai, “Reliable hydrogel with mechanical “fuse-link” in an aqueous environment”, *Advanced Materials*, 27, 7407–7411 (2015).

(2)特許出願

研究期間累積件数:1 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

招待講演(以下を含む国内 12 件、国際 6 件)

Takamasa Sakai, “Mechanical properties of polymer gels with controlled network structure”, Gordon Research Conference “Adhesion” Mount Holyoke College, Hadley, USA, July 25, 2017.

受賞

平成 29 年度 高分子学会 論文賞(ゼオン賞)

平成 29 年度 ブリヂストンソフトマテリアルフロンティア賞

平成 28 年度 東京大学工学系研究科長表彰

平成 28 年度 文部科学大臣賞若手科学者賞

著作物

酒井崇匡編, 高分子ゲルの物理学、東京大学出版会(2017)

プレスリリース

世界で初めて長期埋め込み可能な人工硝子体を開発(平成 29 年 3 月 10 日)