

N-8

## 正電荷を有するポリカプロラクトン膜材料の調製とバイオマテリアル応用 Preparation of Polycaprolactone Films with Positive Charge and Their Biomaterials Applications

○岩松晃平<sup>1</sup>・宇都甲一郎<sup>3</sup>・星徹<sup>2</sup>・青柳隆夫<sup>2</sup>  
Kohei Iwamatsu<sup>1</sup>, Koichiro Uto<sup>3</sup>, Toru Hoshi<sup>2</sup>, Takao Aoyagi<sup>2</sup>

**Abstract:** In this study, we prepared branched polycaprolactone macromonomers with both ammonio- and photo-reactive groups at each chain end. These macromonomers were cross-linked by light irradiation in the presence of photo-initiator. The surface of the materials enhanced adsorption of anionic model compound so effectively and they depended on the contents of the cationic groups. Moreover, we investigated the cells adhesion. As expected, they are promoted in the same manner of the low-molecular weight compounds. These results suggested these materials would be useful for the biomedical applications such as a scaffold or protein and cell separation.

### 1. 緒言

生分解性を有するポリグリコール酸, ポリラクチド, ポリカプロラクトン(PCL)およびこれらのコポリマーは, 脂肪族ポリエステルの中でも機械的強度, 合成の容易さなどの優れた特性のために, 多くのメディカル関連研究が行われ, 臨床応用もなされている. 我々は, PCL に分岐構造の導入によってその元々の融点を調節できることを見出し, 温度応答性材料や形状記憶材料への応用展開を図ってきている<sup>1,2,3</sup>.

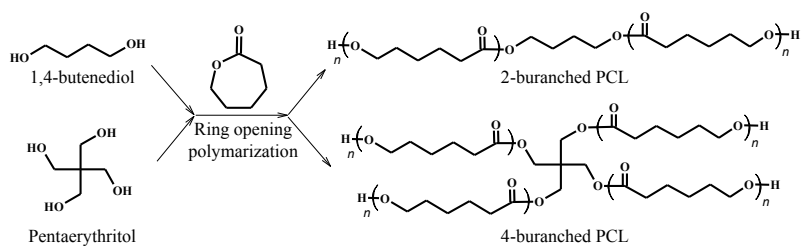
本研究では, PCL が有する結晶融解現象を保持しながらカチオン性基を有する PCL 膜材料の調製法を検討する. カチオン性基は, 細胞表面のシアル酸などのアニオン性基と容易に相互作用することができるため, これを有するポリマー材料は細胞や組織への強い吸着性を有する. タンパク質の固定化や核酸との強い相互作用も期待でき, タンパク質や遺伝子デリバリー用の担体への応用も可能である.

また, カチオン性基由来の強力な正電荷は, 抗菌活性を有することも知られており, 様々な応用が期待できる. その反面, 吸着した細胞や組織の構造を破壊する可能性がある. そこで, カチオン性ポリマー材料を調製するとき, その物性を大きく変化させず正電荷の強弱のみを制御する方法も検討する.

### 2. 実験

テトラメチレングリコールおよびペンタエリトリールを開始剤として 140°C で 4 時間, ε-カプロラクトンの開環重合を行い, 2 分岐または 4 分岐型の PCL-OH を合成した. 次に, 過剰量のブロモアセチルブロミドを反応させて, PCL-OH の末端水酸基をブロモメチル基に変換した(PCL-Br). 更に, この中間体に, 2,2-ジメチルアミノエチルメタクリレートを作用させて, PCL-Br の末端ブロモメチル基にジメチル, メタクリレートエチルアンモニウム基を導入した(PCL-DMAEMA). それぞれの原料や中間体の合成は <sup>1</sup>H-NMR 測定により確認した(Fig.3).

また, PCL-OH にメタクリロイルクロリドを反応させて, カチオン性基を持たない PCL-MA を調製した. PCL-MA と PCL-DMAEMA をテトラヒドロフランに任意の比率で溶解し, 光開始剤(2-ヒドロキシ-4'-(2-ヒドロキシエトキシ)-2-メチルプロピオフェノン)を用いて光架橋により, カチオン導入率を変化させた 5 種類の膜材料を得た. ここで, これまでの



Scheme 1 Synthesis of branched PCL.

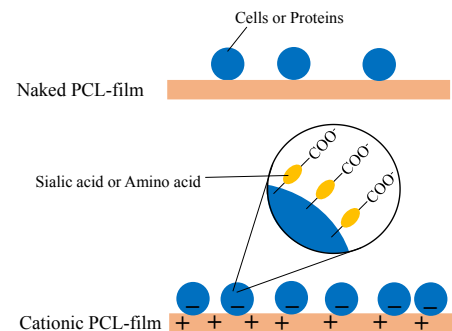


Fig. 1 Properties of cationic PCL.

1 : 日大理工・院(前)・応化, Graduate School of Science and Technology, Nihon Univ. 2 : 日大理工・教員・応化, College of Science and Technology, Nihon Univ. 3 : 物材機構, WPI-MANA

研究により、2 分岐および 4 分岐の PCL マクロモノマーを任意に混合することにより融点を調製できることを見出している。そこで、2,4 分岐割合を固定したまま、それぞれの PCL-MA と PCL-DMAEMA の割合を変化させることにより、全体のカチオンの割合を変化させることができるかの検討を行なった。また、それぞれのカチオン性 PCL 架橋膜の融点(軟化点)を DSC, 固体表面電位を ELS により測定した。また、電荷付与による物質の吸着・接着について検討するため、アニオン性色素である Acidred87 の吸着試験, ヒト間葉系幹細胞(hMSC)の接着試験を行った。

### 3. 結果・考察

Fig.3 より、すべての PCL マクロモノマーの合成を確認した。

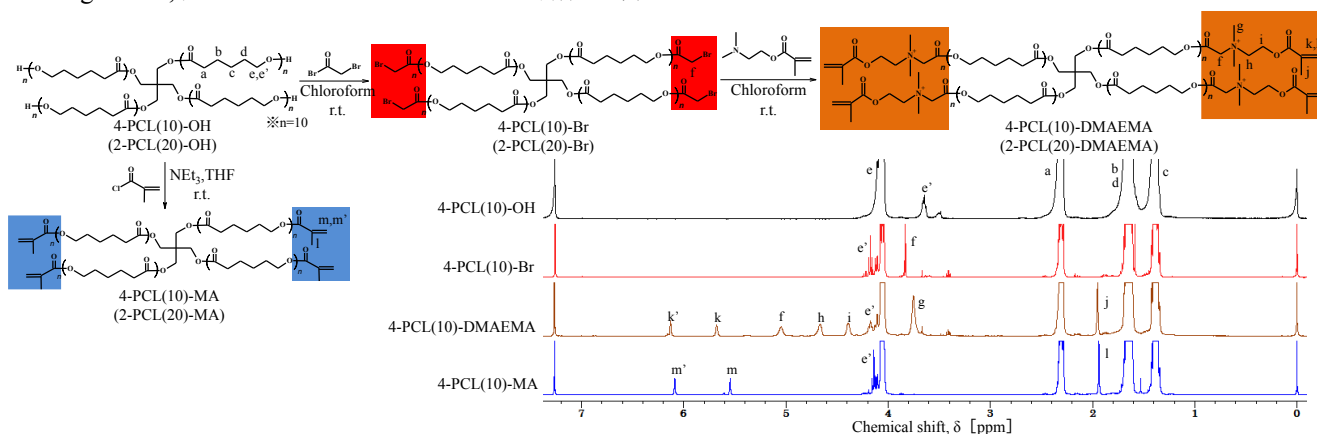


Fig.2 <sup>1</sup>H-NMR spectra of 4-PCL(10)-OH,-Br,-DMAEMA,-MA(400MHz, CDCl<sub>3</sub>).

得られた 5 種類の膜材料の軟化点は、それぞれ 40°C~45°C 付近であったため、カチオン導入率と軟化点に関係性が無いことが分かった。また、膜材料を軟化点以上に加熱した際に、表面電位の大幅な上昇が確認された。これは、軟化点以上に膜材料を加熱したとき、ポリマー鎖の移動が自由になり、正に帯電しているカチオン性基を持つ部分が界面に出現したためと考えられる。

カチオン性 PCL 架橋膜は、従来の PCL 膜材料よりも容易に色素吸着し、カチオン性基の導入率の上昇ともなって AcidRed87 の吸着量が向上することを見出した。また、hMSC の接着挙動はカチオン導入率が比較的少ない膜材料では、アクチン繊維が広く進展していることから、高い細胞接着性を有していることが観察できた。しかし、カチオン導入率 50%以上となると細胞の崩壊が観察された。これは、強力な正電荷により接着力が強く、細胞が形状を維持できなくなったためだと考えられる。

これらのことから、熱応答により膜材料の軟化性や表面電位の変化から、細胞分化の制御が行える可能性があり、再生医療の足場材料やメカノバイオロジー研究への応用が期待される。

### 4. 参考文献

- [1] K. Uto, K. Yamamoto, S. Hirase, T. Aoyagi : “Temperature-responsive cross-linked poly(ε-caprolactone) membrane that functions near body temperature”, Journal of Controlled Release, 110, 408(2006)
- [2] M. Ebara, K. Uto, N. Idota, J. M. Hoffman, T. Aoyagi : “Shape-Memory Surface with Dynamically Tunable Nano-Geometry Activated by Body Heat”, Advanced. Materials, 24, 273 (2012).
- [3] M. Ebara, K. Uto, N. Idota, T. Aoyagi.: “The Taming of The Cell: Shape-memory Nanopatterns Direct Cell Orientation”, Journal of Nanomedicine, 9, 117 (2014).

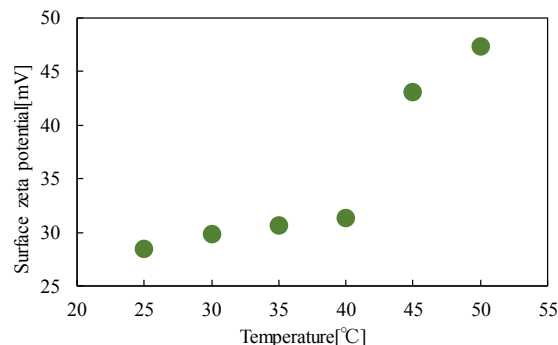


Fig.3 Temperature and solid surface potential of PCL film(100% cationized degree).

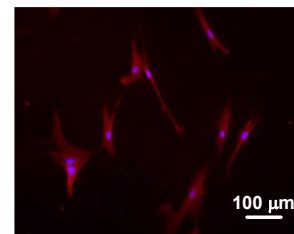


Fig.4 Adhesion test of MSC of PCL film(10% cationized degree).