バイオマテリアルにおけるナノスケールの科学

Nano Scale Science in Biomaterials

由 井 伸 彦

ナノスケールでの構造が特徴的な超分子材料設計のアプローチは、次世代のバイオマテリアルにとって多くの魅力をはらんでいる。分子間力を駆使した非共有結合の化学をもとにしたナノスケールの科学が生体機能設計に新たな局面をもたらせば、バイオマテリアルはまったく新しい人工臓器や製剤の開発など具体的なテクノロジーとして波及・発展するものと期待される。

1. はじめに

最近、ナノスケールでの構造が制御された分子や材料が各方面で注目されている。昨年春のクリントン大統領のナノテクノロジーに関する声明もあり、国内外で21世紀のサイエンス&テクノロジーと騒がれている。ナノスケールで材料設計を思考するには、超分子のアプローチが不可欠である。超分子化学 (Supramolecular Chemistry) は「共有結合の化学を超えた (beyond) 非共有結合の化学」と定義されているが¹⁾、ここでは種々の分子間力が構造形成を支配している。生体を構成しているタンパク質の機能や多糖との細胞間マトリックス構築、細胞や組織そのものが、超分子形成によってつかさどられている。生体を模倣した材料 (Biomimetic Materials) が提唱されて久しいが、最近では単なる生体の模倣に終わらず生体に学び (啓発され) 生体を超える材料 (Bio-Inspired Materials) が注目されている。言葉だけの問題でなく、次世代バイオマテリアルのための超分子のアプローチを真剣に議論する 때가 やって きたと 感じている。

2. バイオマテリアルにおけるナノスケールの意義

ファンデルワールス力、水素結合、イオン結合などの分子間力や水中での疎水性効果によるナノスケールでの構造や機能を意識して設計された材料には、興味深い特徴があ

る。以下に、いくつかのトピックスを紹介する。

2.1 多点相互作用による分子認識のナノ制御

生体系での情報伝達は多種多様なリガンドとレセプターとの多点相互作用によって行われているので、細胞への情報伝達や生体分子の認識を目指した材料設計では、ナノスケールでの多価性 (Multivalency) を考慮する必要がある。たとえばデンドリマーは、世代数 (分岐数) に応じて多くの官能基を表面に有する分子を設計できることから、生体との相互作用をナノスケールで制御することができる。K. Aoi らは分子認識能を有する糖を導入したデンドリマーを各種設計し、その生体との相互作用を検討している。ここでは、デンドリマーの分岐数を変えることによって、生体の有する糖鎖認識レセプターの間隔を考慮した末端糖鎖間隔を任意に制御することが可能である²⁾。

ヒドロゲル中に多価相互作用基を導入して、分子認識により誘起されるゲル変形が検討されている。T. Oya, T. Tanaka らは、温度応答性高分子と標的分子が多点吸着を生起される吸着分子とからなるヒドロゲルを調製し、ゲル収縮時に発現する可逆的な標的分子認識を可能にしている³⁾。ここでは、クーロン力による標的分子とゲル中吸着分子との多価相互作用を利用しているが、さらにさまざまな相互作用を有する分子種を導入することにより、特異的な分子認識をゲル変形により制御できる特徴を有している。

2.2 DNA との相互作用

DNA とカチオン性高分子とのポリイオンコンプレックスを用いた遺伝子送達に関する研究は、細胞核での遺伝子発現を目指して全世界的な潮流にある。高分子の構造的異質性が関与していることを示唆する研究として、T. Yamaoka らは各種カチオン性高分子とDNAとのコンプ

Nobuhiko YUI

北陸先端科学技術大学院大学材料科学研究科 (923-1292 石川県能美郡辰口町旭台 1-1)・教授、工学博士。

1985 年上智大学大学院理工学研究科博士課程修了。

専門は生医学高分子材料設計
(趣味) 武道、道具収集

レックスを介して遺伝子発現を誘導するに必須な高分子の条件を探索している⁴⁾。それによると、遺伝子発現の見られたポリオンコンプレックスには3級もしくは4級アミノ基とヒドロキシル基とからなる水溶性高分子が適しているという。機構として、傍証からイオンコンプレックスにおける含水性やDNA分子の易動性が関連していると推測されている。なおJ.-Y. Cherg, D. J. A. Crommelinらは、位相の異なる各種プラスミドDNAとカチオン性高分子とのポリオンコンプレックスの細胞移入効率を検討し、らせん(super coiled) DNAがもっとも効果的であることを示している⁵⁾。

特異的なDNA配列を相補的に認識する高分子-DNAコンジュゲートを利用して、診断への応用も試みられている。たとえば、D. Umeno, M. MaedaらはDNAをコンジュゲートした温度応答性高分子を設計し、DNA結合タンパク質がコンプレックスを形成したときだけ温度によって凝集沈殿する系を考案している⁶⁾。これは、ナノスケールでの遺伝情報をマクロな高分子系の凝集へ増幅させている好例であろう。

DNAは認識・構造変換など多彩な可能性を有する超分子であり、DNAを新しい機能素子としてとらえた研究も見られる。たとえばT. R. Strick, D. Bensimonらは、磁性微粒子を片末端に有するDNA鎖のもう片方をガラス表面に固定して、ATP存在下トポイソメラーゼの作用によるDNA鎖のらせん-弛緩挙動を検討し、DNA1分子のマイクロマニピュレーションに成功している⁷⁾。これはトポイソメラーゼ研究のツールとして報告された例であるが、バイオマテリアルやナノ素子としての応用展開も期待される。

2.3 ヒドロゲルにおけるナノ科学

架橋ヒドロゲルの膨潤-収縮挙動は架橋点間高分子鎖のコレクティブな拡散によって規定され、変形に要する時間はゲルの大きさの2乗に比例して長くなる。そこで薬物送達システム(DDS)におけるゲル膨潤あるいは収縮の高速化を目指して、ヒドロゲルの多孔質化に関するアプローチも検討されている。たとえばJ. Che, K. Parkらは、炭酸ガスの発泡により簡便に各種ビニルポリマーの超多孔質体を調製し、短時間(分単位)で膨潤するゲルによる腸内滞留型の薬物放出デバイスを目指している⁸⁾。一方、ゲルの微細加工化は高速応答性のデバイス設計の上で重要なアプローチとなっている。たとえばD. J. Beebeらは、ミクロンサイズのフォトマスクを介した光照射により*in situ*で重合架橋したアクリル酸架橋ゲルによって、高速な(秒単位の)pH応答性バルブシステムを考案している⁹⁾。このような刺激応答性ゲルのナノスケールでの構造制御は、今後のバイオマテリアル設計にも活用されるものと期待される。

刺激応答性ゲルは、生体内の情報を診断して薬物放出を

実行する新しいDDSデバイスとして期待されている。ヒドロゲルの刺激に応答した膨潤-収縮は構成高分子の水和-脱水和挙動によって生起するが、より特異的な応答を目指して生体高分子特異的なホールディングを利用したヒドロゲルも考案されている。C. Wang, J. Kopecekらは、超らせん(coiled coil)構造を有するタンパク質を導入した水溶性高分子によって、タンパク質の刺激に応答した協同的なコイル転移をもとにしたゲル収縮に成功している¹⁰⁾。ここで用いたタンパク質は超らせん状態では剛直な棒状であるが、ランダムコイル化によって流体力学的半径が減少してゲル収縮が生起する。この原理を利用すれば、さらなる超らせんの導入によって、異なる温度に段階的に応答するヒドロゲルの設計も可能になると期待される。

刺激応答ゲルはいずれも単一の刺激に反応して機能するものばかりであるが、実際の医療では複数の生体情報を統合して診断していることから、将来的には個々の生体情報の同調(synchronization)に反応する材料設計が重要視されるものといえる。筆者らは、異種高分子鎖のからみあいを制御することによって、異なる2つ以上の刺激のシンクロナイゼーションによってはじめて機能するヒドロゲルの設計を推進している。たとえば、ゼラチンとデキストランとからなる相互侵入高分子網目ゲルの加水分解は、それぞれを分解する2つの酵素が同時に存在してはじめて進行する¹¹⁾。また、温度応答性高分子をグラフトしたデキストランおよびゲルでは、温度応答性高分子の下限臨界溶液温度(LCST)以上の温度領域においてのみ酵素分解が進行する¹²⁾。すでにLCSTを有する架橋ゲルで、LCST以下の温度領域でのみ酵素分解が進行することも明らかにしているので、現在は異なるLCSTを有する2つの高分子をグラフト鎖および架橋点として導入することにより、2つのLCSTに挟まれた温度領域でのみ酵素分解が進行するゲルの設計を推進している。温度や酵素など異なる刺激によって分解する材料では、2つの高分子鎖間のナノスケールでのからみあいが深く関与している。

2.4 ナノスケールで制御された表面

ナノスケールで生体適合性表面を設計する意義は、先の多点相互作用による分子認識とも関連している。H. Shi, B. D. Ratnerらは、あらかじめタンパク質を吸着したマイカ表面を二糖でコーティングした後、フッ素系高分子で重合・固定してマイカ表面より剥がし取る手法で、各種のタンパク質をナノスケールで認識可能なインプリント・テンプレート表面を調製している¹³⁾。ここでは、タンパク質と相補的なインプリント領域の形状や多点での水素結合・ファンデルワールス相互作用がタンパク質認識の原理として利用されている。ちなみに“Bio-Inspired Materials”なる用語は、1999年春の米国化学会でRatnerが企画したシンポジウム・タイトルに用いられたのが最初であると記

憶している。

生体との理想的な界面を得ることは、各種医療用具開発のためにバイオマテリアル設計のうえで永年の目標である。細胞内カルシウム代謝や遺伝子発現に基づいた評価によって生体反応が詳細に解析できるようになり、それをもとに材料サイドでは生体と材料の界面における水の構造制御の重要性が指摘されている。たとえば、K. Ishihara らが設計した血液適合性リン脂質ポリマーは各種医療デバイスへの応用が展開されているが、ラマン分光分析から従来の水溶性高分子と比較して水のクラスター構造を破壊しない特徴も明らかにされている¹⁴⁾。今後、材料表面においてナノスケールで水の構造を制御する種々のアプローチが提案されてくるものと期待される。

バイオマテリアル表面設計ではないが、ナノスケールでの表面制御によってマクロな物質移動も可能となっている。K. Ichimura らは、アゾベンゼン基を有するカリックスアレン誘導体を表面に導入し、光による表面張力の傾斜によって表面においた液滴の一方向移動に成功している¹⁵⁾。ナノスケールで時間的あるいは位置特異的に変化する表面の設計は、生体との相互作用を制御するアプローチに発展する可能性もあり、今後の展開が期待される。

3. ポリロタキサンによる新しい生医学的機能

多数の環状分子を貫通した線状高分子の両末端にかさ高い基を導入したポリロタキサンには、ナノスケールの構造的魅惑と多くの応用可能性が秘められている。筆者らは、このバイオマテリアルとしての基礎研究を10年近く展開している¹⁶⁾。シクロデキストリン (CD) をベースにしたポリロタキサンの合成には、環状分子である CD と線状高分子との間に相補性が要求される。ここでは、(i) CD と線状高分子との立体的フィッティング、(ii) CD-高分子間ファンデルワールス相互作用や CD 間水素結合などのエンタルピー的利得、(iii) CD 内結合水の解放によるエントロピー的利得、が重要な駆動力として働いている。

3.1 棒状多官能性分子としてのポリロタキサン

α -シクロデキストリン (α -CD) とポリエチレングリコール (PEG) とからなる包接錯体の両末端にかさ高い置換基をペプチド結合を介して導入したポリロタキサンは、 α -CD によって PEG の屈曲性が制限されるため、結果的に生理環境下で棒状構造を保持していることが示唆されている。また末端ペプチド基の酵素的加水分解によって超分子構造が解離することから、生体内で分解する新しい素子として期待される¹⁷⁾。 α -CD には18個のヒドロキシル基があることから、 α -CD 貫通数20のポリロタキサンでは1分子あたり400個近いヒドロキシル基が配列していることになる。このヒドロキシル基に細胞やタンパク質との相互

図1 ポリロタキサン・ヒドロゲルにおける架橋点の解消

作用が期待されるリガンドを導入すれば、生体との多点相互作用が期待される。現在、スルホン基を導入したポリロタキサンの設計を推進しており、超分子構造による血小板活性化抑制機能¹⁸⁾とスルホン基による抗凝固機能とを兼ね備えた生体適合性分子を目指している。

3.2 ポリロタキサン・ベースの生分解性ヒドロゲル

ポリロタキサンにおける環状分子と線状高分子との機械的結合は、ナノスケールでの材料設計に意味をもつのであろうか。この問いに対して筆者らは、ポリロタキサンを架橋点とするヒドロゲル設計を推進している。このポリロタキサンには、生体内での非酵素的な加水分解を想定して α -CD と PEG との包接錯体の両末端にエステル結合を導入してある¹⁹⁾。CD どうしを水溶性高分子鎖（たとえば PEG）で連結して調製したヒドロゲルでは、ポリロタキサンの機械的結合を移動可能な架橋点として利用しており、末端エステル基の加水分解によって CD が PEG から脱離して架橋点が解消され溶解する（図1）。こうしたポリロタキサン・ヒドロゲルには、含水率増加とともに溶解時間が延長される興味深い特徴が見られる。架橋前のエステル末端型ポリロタキサンは生理環境下70時間程度で完全に分解・解離するのに対し、ポリロタキサン・ヒドロゲルでは α -CD への水溶性高分子鎖導入に応じて分解性が抑制され、含水率90%程度で3,000時間以上までゲル溶解時間を任意に設定できる²⁰⁾。 α -CD へ水溶性高分子鎖を導入したために CD 間水素結合性が低減し、CD が末端に位置しているエステル基へも移動できるようになり、結果として CD 包接によってエステル基の加水分解性が低下したのではないかと考えている。現在、ポリロタキサン・ヒドロゲルを3次元多孔質化して細胞培養スキャホールドとしての応用も検討しており、すでに軟骨細胞の培養にも成功している。

3.3 刺激応答性分子としてのポリロタキサン

筋肉組織の基本構造であるサルコメア中では、アクチンとミオシンとの2つのタンパク質が ATP エネルギーをもとにした滑り運動によって収縮を生起しており、合成系の刺激応答性高分子の機構とはまったく異なっている。筆者らは、筋肉組織の滑り運動に啓発された新しい運動機能素

図2 分子チューブ包接による超分子ネットワーク形成

子の創成を目指して、ポリロタキサン中での環状分子の線状高分子に沿った移動を制御する試みを展開している。たとえば、 β -シクロデキストリン (β -CD) とプルロニック (PEG とポリプロピレングリコールとの ABA 型ブロック共重合体) とからなるポリロタキサンを合成し、温度に応じて β -CD のプルロニック鎖に沿った分散-集合状態の制御を明らかにしている²¹⁾。この系では、昇温による β -CD の PPG 部分への集合は、疎水性効果として解釈される。筆者らは、 β -CD やプルロニック単独系で破壊されている水のクラスター構造がポリロタキサン系では保持されていることをラマン分光分析によって確認している。

また、 α -CD どうしを線状に架橋した分子チューブと両親媒性分子をグラフトした水溶性高分子との相互作用を検討し²²⁾、エンタルピー駆動型の分子チューブ中への両親媒性分子疎水部の侵入による超分子ヒドロゲルの形成に成功している (図2)²³⁾。こうした分子チューブによる包接は両親媒性分子疎水部 (アルキル鎖) の長さによって異なるので、分子認識ゲルへの展開も可能である。

4. 今後の展望

生体への応用を前提としたナノスケールのバイオマテリアル設計は、まだまだこれからである。神様かお釈迦様のような生体を相手にして、その巧妙かつ明快な機能・機構に圧倒されながら、ようやく既存の化学で対抗してきたのが 20 世紀であったように思う。一方では、超分子化学の体系化が飛躍的になし遂げられつつある。

歴史は、時代の転換が「思想提唱」と「革命実行」と「実務完遂」の 3 段階によって達成されることを示している。また、戦略的に裏付けされた革命の実行が、卓越した戦術の運用と兵站の確保を必要とするのも、事実である。今ま

さに 20 世紀に萌芽した超分子という思想的かつ理性的準備段階を経て、ナノスケールの科学というアウトレンジ戦法的な切り口をもって具体的な材料革新を実行していく正念場である。個人的には、21 世紀初頭に際しバイオマテリアル分野にあって、「雪の功山寺」のような心境でもある。

文 献

- 1) J.-M. Lehn: *Supramolecular Chemistry*, VCH, Weinheim (1995)
- 2) K. Aoi, K. Tsutsumiuchi, A. Yamamoto, M. Okada: *Macromol. Rapid Commun.*, **19**, 5 (1998)
- 3) T. Oya, T. Enoki, A. Y. Grosberg, S. Masamune, T. Sakiyama, Y. Takeoka, K. Tanaka, G. Wang, Y. Yilmaz, M. S. Feld, R. Dasari, T. Tanaka: *Science*, **286**, 1543 (1999)
- 4) T. Yamaoka, T. Kimura, R. Iwase, A. Murakami: *Chem. Lett.*, 118 (2000)
- 5) J.-Y. Cherng, N. M. E. Schuurmans-Nieuwenbroek, W. Jiskoot, H. Talsma, N. J. Zuidam, W. E. Hennink, D. J. A. Crommelin: *J. Control Rel.*, **60**, 343 (1999)
- 6) D. Umeno, M. Kawasaki, M. Maeda: *Bioconj. Chem.*, **9**, 719 (1999)
- 7) T. R. Strick, V. Croquette, D. Bensimon: *Nature*, **404**, 901 (2000)
- 8) J. Che, H. Park, K. Park: *J. Biomed. Mater. Res.*, **44**, 53 (1999)
- 9) D. J. Beebe, J. S. Moore, J. M. Bauer, Q. Yu, R. H. Liu, C. Devadoss, B.-H. Jo: *Nature*, **404**, 588 (2000)
- 10) C. Wang, R. J. Stewart, J. Kopeček: *Nature*, **397**, 417 (1999)
- 11) M. Kurisawa, N. Yui: *J. Control Rel.*, **54**, 191 (1998)
- 12) K. M. Huh, Y. Kumashiro, T. Ooya, N. Yui: *Polym. J.*, **33**, 108 (2001)
- 13) H. Shi, W.-B. Tsai, M. D. Garrison, S. Ferrari, B. D. Ratner: *Nature*, **398**, 593 (1999)
- 14) H. Kitano, K. Sudo, K. Ichikawa, M. Ide, K. Ishihara: *J. Phys. Chem. B*, **104**, 11425 (2000)
- 15) K. Ichimura, S.-K. Oh, M. Nakagawa: *Science*, **288**, 1624 (2000)
- 16) T. Ooya, N. Yui: *Crit. Rev. Ther. Drug Deliv. Syst.*, **16**, 289 (1999)
- 17) T. Ooya, M. Eguchi, N. Yui: *Biomacromolecules*, **2**, 200 (2001)
- 18) N. Yui, T. Ooya, T. Kumeno: *Bioconj. Chem.*, **9**, 118 (1998)
- 19) J. Watanabe, T. Ooya, N. Yui: *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **10**, 1275 (1999)
- 20) T. Ichi, J. Watanabe, T. Ooya, N. Yui: *Biomacromolecules*, **2**, 204 (2001)
- 21) H. Fujita, T. Ooya, N. Yui: *Macromolecules*, **32**, 2534 (1999)
- 22) T. Ikeda, E. Hirota, T. Ooya, N. Yui: *Langmuir*, **17**, 234 (2001)
- 23) T. Ikeda, T. Ooya, N. Yui: *Macromol. Rapid Commun.*, **21**, 1257 (2000)