ポリ乳酸系ソフトバイオマテリアル

大内 辰郎・有村 英俊

1. はじめに

近年、医療分野において生分解性高分子の重要性がますます高まってきており、分解制御型薬物放出デバイスや、縫合糸・骨固定材、体内での止血・接着剤、癒着防止膜、組織工学（再生医工学）用材料など、その材料が目的達成後生体内で酵素的もしくは非酵素的に加水分解を受け、分解物が代謝・吸収される生体内分解吸収性高分子からなる材料であることが望まれる用途は多い。

ポリ乳酸 (PLA) (ポリ-L-乳酸 (PLLA), ポリ-D-乳酸 (PDLA), ポリ-DL-乳酸 (PDLLA) のすべてを総称的に示す) は、分解物である乳酸が生体内で代謝吸収可能で、生体適合性、力学的強度などが比較的優れていることから、骨固定ピンや骨支持担体などに一部実用化されている^{1)~3)}。しかし、PLLA および PDLA は結晶性が高く分解速度の制御が難しいことや、PLA は疎水的で柔軟性に欠けるために生体の軟組織に対する適合性が低いこと、さらに分子中に存在する反応性官能基がわずかに存在する末端基のみであることから化学修飾が困難であることなど、その用途は限定されていると言える。PLA の優れた特性を維持あるいは向上させながら結晶性・疎水性に起因する問題を解決し、化学修飾による用途の拡張を図ることは、これからのポリ乳酸系バイオマテリアル設計において非常に重要な課題である。PLA 材料の諸問題を改善するためには分子レベルからの材料設計が不可欠である^{4), 5)}。本稿ではとくにポリ乳酸系ソフトバイオマテリアル開発に焦点を絞り、分子構造による整理を試み最近の研究の進展具合を紹介する。

2. ポリ乳酸系ランダム共重合体

PLLA は L-乳酸の環状 2 量体である L-ラクチドの開環重合あるいは L-乳酸の直接重縮合によって合成され、高結晶性・高強度の材料を提供することができる。PLLA の結晶性を低下あるいは消失させ、その力学的強度や生分解速度などを制御することを目的として、グリコール酸のダイマー (グリコリド) やエナンチオマーである D-ラクチド、他の脂肪族ラクトン類など、種々の環状モノマーとラクチドとの共重合体の合成が数多く検討されてきたが⁶⁾、軟組織に適合できるほどの柔軟性は獲得できておらず、反応性官能基をもたないので材料表面の化学修飾などが困難であるという問題は未解決であった。近年、反応性官能基を有する種々の環状モノマーが合成されている (図 1)。木村らはリンゴ酸とグリコール酸の環状 2 量体モノマー (BMD) を合成し、これと L-ラクチドとの共重合を行い、側鎖にカルボキシル基を有する PLLA 誘導体を合成し、そのカルボキシル基に細胞接着因子として知られる RGD (アルギ

図 1 反応性官能基を有する環状モノマー

OUCHI, Tatsuro (左)

関西大学工学部応用化学科 (564-8680 吹田市山手町 3-3-35)・教授、工学博士。1969 年 関西大学大学院工学研究科博士課程単位取得後退学。専門は高分子合成、機能性高分子、バイオマテリアル。

ARIMURA, Hidetoshi (右)

関西大学大学院工学研究科応用化学専攻 (同上)・博士課程後期課程在学中。専門は高分子合成、機能性高分子、バイオマテリアル。

Poly(lactide)-Based Soft Biomaterials

図2 さまざまな分子構造を有するポリ乳酸誘導体

ニン-グリシン-アスパラギン酸) トリペプチドを固定化することに成功し, RGD 固定化量の増大に伴い細胞初期接着が向上することを明らかにしている⁷⁾。Vert らはグリコール酸と D-グルコン酸から環状モノマー (DIPAGYL) を合成し, L-ラクチドとの共重合を行い側鎖に多数のヒドロキシル基を有するポリ乳酸系ランダム共重合体の合成に成功している⁸⁾。現段階では合成のみの報告になっているが, この共重合体中には多数のヒドロキシル基が存在するので, PLA にこの共重合体をブレンドすることで PLA 材料表面にぬれ性を賦与することが期待できる。

α -アミノ酸と α -ヒドロキシ酸の共重合体は総称的にポリデブシペプチドと呼ばれる。筆者らは, アスパラギン酸 (Asp), グルタミン酸 (Glu), リシン (Lys), セリン (Ser),あるいはシステイン (Cys) のように側鎖にカルボキシル基, アミノ基, ヒドロキシル基あるいはチオール基をもつアミノ酸とグリコール酸 (Glc) からなる環状デブシペプチドと L-ラクチドとの開環共重合をスズ系触媒存在下で行い, 側鎖にさまざまな反応性官能基を有するデブシペプチド-乳酸ランダム共重合体を合成することに成功した (図2)^{9)~12)}。得られたランダム共重合体は PLLA に比べて結晶性が低下し, デブシペプチドユニットの導入割合が高くなるほど生理条件下における分解速度が速くなり, 共重合による分解速度の制御が可能であることを明らかにした。また, デブシペプチド-乳酸ランダム共重合体をスポンジ状に成形し, その上での細胞の接着性, 増殖性およびマトリックスの分解性などについて調べた^{13), 14)}。その結果, 図3に示したように共重合体から調製したスポンジ上では細胞は接着後よく伸展していることがわかった。また, その増殖に関しては PLLA スポンジと同等の細胞増殖が観察され, 細胞培養下において共重合体スポンジは, PLLA スポンジより高い分解性を示し, その分解速度はデブシペプチドユ

図3 (上) デブシペプチド-乳酸ランダム共重合体から調製したスポンジ¹⁴⁾
(a) 全体写真, (b) 断面図の SEM 写真, (c) スポンジに接着した L929 細胞の SEM 写真
(下) (a) スポンジ上での L929 細胞の増殖, (b) L929 細胞培養下におけるデブシペプチド-乳酸ランダム共重合体スポンジの分解挙動

ニットの導入率によって大きく異なっていた。この結果は, 細胞増殖と足場分解をシンクロナイズさせることができる可能性があることを示唆している。このように, このデブシペプチド-乳酸ランダム共重合体が分解吸収性の組織工学 (GTR) 用素材として, 高いポテンシャルを有していることが示された。

また有機金属を用いずに酵素を触媒とした重合によりデブシペプチド-乳酸ランダム共重合体を合成する方法が Höcker らによって報告されている¹⁵⁾。この手法で得られた共重合体中には毒性のある有機金属が混在するという懸念はないので, 医用材料として好ましい。

3. ポリ乳酸系ブロック共重合体

PLLA の結晶性低下, 親水性・柔軟性の獲得, さらにミクロ相分離構造などのナノオーダースケールでの物性制御

図4 W/O/W エマルジョン法により調製したポリ乳酸ミクロスフェア断面のSEM 写真³²⁾
 (a) デブシペプチド-乳酸ブロック共重合体を添加したポリ乳酸ミクロスフェア
 (b) PEG-PLA ジブロック共重合体を添加したポリ乳酸ミクロスフェア
 (c) PVA を添加したポリ乳酸ミクロスフェア

にはポリエチレングリコール (PEG) などの親水性高分子とのブロック共重合が有用である。PEG と PLLA とからなるジブロック共重合体 (PEG-*b*-PLLA) は親水性の PEG セグメントと疎水性の PLLA セグメントからなる両親媒性構造を有していることから水溶液中において自己組織化し、PLLA をコア、PEG 鎖がシェルとなる数十ナノメートルスケールのコア-シェル型高分子ミセルを形成する^{16)~18)}。片岡らはこの高分子ミセルの生医学材料としての応用に関して広く検討を加えている^{17), 18)}。

PEG と PLLA もしくはポリ(乳酸-*co*-グリコール酸) 共重合体 (PLGA) とからなる ABA もしくは BAB 型トリブロック共重合体は温度に応答したゾル-ゲル転移を示すことが知られており、インジェクタブル材料としての検討が行われている。Kim らは PEG-PLGA-PEG および PLGA-PEG-PLGA トリブロック共重合体を用いてヒドロゲルを調製し、その薬物放出担体としての応用に関して検討を加えている¹⁹⁾。由井らは PLLA-PEG-PLLA とシクロデキストリンからポリ擬ロタキサンを調製している²⁰⁾。このような超分子的なアプローチによるポリ乳酸系バイオマテリアル設計は非常に興味深い。

PLLA と鏡像異性体である PDLA をブレンドすると単独結晶よりも安定なステレオコンプレックスを形成することが見いだされている^{21)~24)}。木村らは PEG-PLLA-PEG トリブロック共重合体と PEG-PDLA-PEG トリブロック共重合体を用いて PLA 部分のステレオコンプレックス形成を利用したヒドロゲルの調製を行っている²¹⁾。さらに、マルチブロック共重合体を利用したアプローチがあり^{25), 26)}、山岡らはプルロニック (PEG とポリプロピレングリコール (PPG) とからなるトリブロック共重合体) と PLLA との直接重縮合によりマルチブロック共重合体を合成し、軟組織適合材料としての検討を加えている²⁶⁾。このマルチブロック共重合体は体外排出効率の高い低分子量の PEG 鎖を用いており、高い PEG 組成においてもバルク材料としての使用に耐えうる強度と分子量を有する生体内分解吸収性材料を提供するという点で注目に値する。

筆者らは、PLLA に親水性の賦与および反応性 (イオン性) 官能基を導入することを目的として、デブシペプチド-

乳酸 AB ジブロック共重合体²⁷⁾、分岐ペプチド鎖末端ポリ乳酸²⁸⁾、アミノ酸-乳酸 AB ジブロック共重合体²⁹⁾などの合成を行っている (図2)。

通常、O/W エマルジョン法で PLA からミクロスフェア (MS) を調製する際には、ポリビニルアルコール (PVA) などの界面活性剤が乳化剤として使用されるが、筆者らが合成したデブシペプチド-乳酸 AB ジブロック共重合体や分岐ペプチド鎖末端ポリ乳酸を生分解性界面活性剤として添加して PLA から MS の調製を行うと、PVA などの非分解性の乳化剤を使用することなく、表面に高密度に正または負電荷を有する MS (PLA) を調製できることがわかった^{28), 30)}。さらに、反対電荷を有する MS (PLA) を混合するとポリイオンコンプレックス形成により即座に凝集し、水に不溶性のマトリックスを形成することが確認されている³¹⁾。このようなマトリックスは止血・接着材料に有用であると考えられる。また、デブシペプチド-乳酸 AB ジブロック共重合体を添加して W/O/W エマルジョン法によりタンパク質内包 MS を調製すると、ミクロスフェア調製時にデブシペプチドユニットの静電反発により内部水相が安定化し均一に分散することが示された (図4)³²⁾。この結果、MS 内部でタンパク質が均一に分布することにより、バーストを示すことなく MS からのタンパク質の徐放が達成され、かつ、タンパク質の変性が抑制されることが明らかとなった。

一方、デブシペプチド-乳酸 AB ジブロック共重合体およびアミノ酸-乳酸 AB ジブロック共重合体は、DMSO などに溶解し水に対して透析することで、水溶液中で自発的に会合して平均粒径が数十 nm で比較的単分散のコア-シェル型の生分解性高分子ミセルを形成することも明らかとなっている^{26), 28)}。とくにポリアスパラギン酸-ポリ乳酸 AB ジブロック共重合体から調製した高分子ミセルは pH に応答してその粒径が変化し、また親水性セグメントと疎水性セグメントの鎖長の比率によりその pH 応答性を制御できることが明らかとなり、pH-応答型薬物放出デバイスとして期待される³³⁾。

最近、温度応答性ポリマーであるポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド) と PDLA とのブロック共重合体が報告

された³⁴⁾。このようなインテリジェントポリマーとの組み合わせは新規なポリ乳酸系バイオマテリアル設計という観点から興味深い。

4. ポリ乳酸系グラフト共重合体

親水性のポリマーと PLA とのハイブリッド化において、親水性ポリマーを幹ポリマーとし、PLA 鎖をグラフト化する手法も有用である。

Hennink ら^{35), 36)}は多糖であるデキストランなどに、石原³⁷⁾は親水性で生体適合性の高いリン脂質ポリマー側鎖にそれぞれ PLLA オリゴマーおよび PDLA オリゴマーをグラフト化し、ステレオコンプレックス形成部位を物理的架橋点としたハイドロゲルの調製を行っている。この設計では、オリゴ乳酸の加水分解に伴い架橋点であったステレオコンプレックスが解離して幹ポリマーが溶解・消失する。

筆者らは、親水性の多糖類と PLA とのハイブリッド化による新しいポリ乳酸系ソフトバイオマテリアル設計を意図して、PLA グラフト化多糖類の合成についても検討を加えている(図2)。PLA グラフト化多糖では、親水性の多糖セグメントと疎水性の PLA セグメントの組み合わせによる両親媒性構造を有するため、主鎖(多糖)の分子量、グラフト鎖(ポリ乳酸)長、グラフト本数、といったパラメーターを種々変化させることで、モルホロジーを変化させることができ、さまざまな集合・組織化形態と分解挙動を示す生分解性高分子材料を得ることができると期待される。筆者らは PLA グラフト化多糖を合成するにあたり、2通りの合成方法を考案した。ひとつは多糖類(アミロース、プルラン、デキストラン)のヒドロキシル基の大部分をトリメチルシリル(TMS)基で保護して THF などの有機溶媒に可溶化させ、残存する未反応のヒドロキシル基を開始点として L-ラクチドをアニオン開環重合するという独自の手法により PLA グラフト化多糖を合成するものであり³⁸⁾、もうひとつの手法は PLA 鎖の導入本数を制御することを意図して、カルボキシメチル基で修飾したプルランに筆者らが独自に開発した片末端に 1 級アミノ基を有するポリ乳酸³⁹⁾とカップリングする手法である⁴⁰⁾。分子量 17,000 のデキストランを出発物として、種々のグラフト鎖(ポリ乳酸)長およびグラフト本数を有する TMS 化法により合成したグラフト共重合体をクロロホルムからキャストしたところ柔軟性のある透明なフィルムが得られた(図5)³⁸⁾。図5において PLA グラフト化デキストランは G-x-y-z というコードで表記しており、x はグラフト鎖の重合度、y は 1 分子中のグラフト本数、z は全体の多糖の含有率(重量%)である。DSC 測定結果の結果、PLA グラフト化デキストランは、15~20℃付近に T_g を示し、直鎖 PLLA と比較して T_g , T_m および ΔH , 結晶化度が低下・減

図5 PLA グラフト化デキストラン(G-55-12-16)より調製したキャストフィルム³⁸⁾

図6 ポリ乳酸グラフト化フィルム表面の細胞接着およびタンパク質吸着阻害の模式図⁴¹⁾

少することが確認された。さらに PLA グラフト化デキストランは T_g 以上になると、貯蔵弾性率、損失弾性率の両者とも大きく低下し、PLLA よりも小さな値を示すことがわかった。以上の理由により、PLA グラフト化デキストラン・フィルムは室温~体温付近の温度領域では、非常に柔軟な性質を示す。また、PLA グラフト化多糖から調製したフィルム上でのタンパク質吸着および細胞接着試験を行った結果、糖含有率が高くなるほどタンパク質吸着や細胞接着が抑制される傾向が認められた⁴¹⁾。これは、キャスト膜調製直後、膜の空気側界面はほとんどが疎水性の PLA 鎖に覆われているが、 T_g 以上である 37℃水中でアニーリングした後では、表面付近の多糖セグメントが移動し、表面が親水性に変わるために、細胞やタンパク質が接着しにくくなったものと考えられる(図6)。

5. 分岐型ポリ乳酸

結晶性高分子の結晶性を低下させ、柔軟性や可塑性を賦与する手法としては、分岐構造の導入も有効な手段であると考えられる⁴²⁾。

筆者らは、側鎖にヒドロキシル基を有するセリンを含むデブシペプチド-乳酸ランダム共重合体をマクロイニシエーターとして L-ラクチドをグラフト重合することにより、多数の分岐を有するくし形 PLLA を合成した(図2)⁴³⁾。また、二官能性モノマーである D,L-メバロノラクトンと L-ラクチドとの共重合によりハイパーブランched PLLA の 1 ポット合成も可能であることを示した⁴⁴⁾。直鎖

PLLA と比較して、得られた分岐ポリ乳酸は、分岐度が高いほど T_g , T_m および ΔH が低下・減少し、高い加水分解性と柔軟性を示し、分岐構造の導入によっても力学的特性や分解速度の調節が可能であることが明らかとなった。直鎖ポリ乳酸と比較して、これらの分岐ポリ乳酸は成形加工性と軟組織適合性といった点から興味をもたれる素材である。

6. おわりに

ポリ乳酸に親水性、反応性、イオン性や分岐構造を賦与した新しいタイプの生体内分解吸収性高分子は、その分解特性のみならず、力学的特性や化学修飾による機能賦与に興味をもたれ、ポリ乳酸系ソフトバイオマテリアルとしての利用が期待できる。生分解性材料を用いた生体自己修復機能を補助する技術や、ドラッグ・デリバリー・システム(DDS)を駆使した薬物治療技術は、人工物で生体機能を代替する技術や、外科的手術など従来からの治療方法と互いに相補的な役割を担っている。本稿で紹介した研究の多くは、官能基レベルあるいは高分子鎖レベルの親水性と疎水性を有する両親媒性高分子の物理化学的性質を活用した材料設計が基盤となっており、これからの医療用材料設計における高分子物理化学の基礎的知見のさらなる重要性を強く示唆している。

本稿を執筆にあたり、筆者らの共同研究者である関西大学工学部大矢裕一助教授から関連資料を提供していただいた。ここに深く謝辞の意を表したい。

文 献

- 立石哲也, 田中順三:「図解 再生医療工学」, 工業調査会, 2004
- 田畑泰彦編:「ここまで進んだ再生医療の実際」, 羊土社, 2003
- 筏 義人:「再生医工学—基盤技術の確立と臨床応用を目指して」, 化学同人, 2001
- 大内辰郎, 大矢裕一: 未来材料, **2**, 30 (2002)
- 大矢裕一: バイオマテリアル—生体材料, **22**, 24 (2004)
- A. C. Albertsson, I. K. Varma: *Biomacromolecules*, **4**, 1466 (2003)
- T. Yamaoka, Y. Hotta, K. Kobayashi, Y. Kimura: *Int. J. Biol. Macromol.*, **25**, 265 (1999)
- B. Saulnier, S. Ponsart, J. Coudane, H. Garreau, M. Vert: *Macromol. Biosci.*, **4**, 232 (2004)
- T. Ouchi, M. Shiratani, M. Jinno, M. Hirao, Y. Ohya: *Makromol. Chem. Rapid Commun.*, **14**, 825 (1993)
- T. Ouchi, T. Nozaki, Y. Okamoto, M. Shiratani, Y. Ohya: *Macromol. Chem. Phys.*, **197**, 1823 (1996)
- T. Ouchi, T. Nozaki, A. Ishikawa, I. Fujimoto, Y. Ohya: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **35**, 377 (1997)
- T. Ouchi, H. Seike, T. Nozaki, Y. Ohya: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **36**, 1283 (1998)
- Y. Ohya, H. Matsunami, T. Ouchi: *J. Biomed. Mater. Res.*, **65A**, 79 (2003)
- Y. Ohya, H. Matsunami, T. Ouchi: *J. Biomater. Sci. Polym. Edn.*, **15**, 111 (2004)
- Y. Feng, D. Klee, H. Höcker, *Macromol. Biosci.*, **4**, 587 (2004)
- X. Y. Xiong, K. C. Tam: *Macromolecules*, **37**, 3425 (2004)
- P. N. Huang, G. Csucs, M. Textor, N. D. Spencer, K. Emoto, Y. Nagasaki, K. Kataoka: *Langmuir*, **18**, 252 (2002)
- Y. Nagasaki, T. Okada, C. Scholz, M. Iijima, M. Kato, K. Kataoka: *Macromolecules*, **31**, 1473 (1998)
- J. Y. Kim, S. W. Kim, *ACS Symp. Ser.*, **833**, 300 (2003)
- S. H. Choi, T. Ooya, S. Sasaki, N. Yui, Y. Ohya, T. Nakai, T. Ouchi: *Macromolecules*, **36**, 9313 (2003)
- T. Mukose, T. Fujiwara, J. Nakano, I. Taniguchi, M. Miyamoto, Y. Kimura: *Macromol. Biosci.*, **4**, 361 (2004)
- S. Li, M. Vert: *Macromolecules*, **36**, 8008 (2003)
- H. Urayama, S. I. Moon, Y. Kimura: *Macromol. Mater. Eng.*, **288**, 137 (2003)
- T. Serizawa, S. Kamimura, N. Kawanishi, M. Akashi: *Langmuir*, **18**, 8381 (2002)
- H. R. Kricheldorf, S. Rost: *Macromol. Chem. Phys.*, **205**, 1031 (2004)
- 山岡哲二: バイオマテリアル—生体材料, **21**, 37 (2003)
- T. Ouchi, H. Miyazaki, H. Arimura, F. Tasaka, A. Hamada, Y. Ohya: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **40**, 1426 (2002)
- H. Arimura, Y. Ohya, T. Ouchi, H. Yamada: *Macromol. Biosci.*, **3**, 18 (2003)
- H. Arimura, Y. Ohya, T. Ouchi: *Macromol. Rapid Commun.*, **25**, 743 (2004)
- T. Ouchi, M. Toyohara, H. Arimura, Y. Ohya: *Biomacromolecules*, **3**, 885 (2002)
- H. Arimura, Y. Ohya, T. Ouchi, H. Yamada: *J. Colloid & Interface Sci.*, **270**, 299 (2004)
- T. Ouchi, M. Sasakawa, H. Arimura, M. Toyohara, Y. Ohya: *Polymer*, **45**, 1583 (2004)
- H. Arimura, Y. Ohya, T. Ouchi: *Macromolecules*, submitted
- S. Q. Liu, Y. Y. Yang, X. M. Liu, Y. W. Tong: *Biomacromolecules*, **4**, 1784 (2003)
- C. F. Nostrum, T. F. J. Veldhuis, G. W. Bos, W. E. Hennink: *Macromolecules*, **37**, 2113 (2004)
- S. J. de Jong, S. C. de Smedt, M. W. C. Wahls, J. Demeester, J. J. Kettenes-van den Bosch, W. E. Hennink: *Macromolecules*, **33**, 3680 (2000)
- J. Watanabe, T. Eriguchi, K. Ishihara: *Biomacromolecules*, **3**, 1109 (2002)
- T. Ouchi, T. Kontani, Y. Ohya: *Polymer*, **44**, 3927 (2003)
- T. Ouchi, T. Uchida, H. Arimura, Y. Ohya: *Biomacromolecules*, **4**, 477 (2003)
- T. Ouchi, T. Minari, Y. Ohya: *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **42**, 5482 (2004)
- T. Ouchi, T. Kontani, T. Saito, Y. Ohya: *J. Biomater. Sci. Polym. Edn.*, submitted
- M. Trollsas, B. Atthoff, H. Claesson, J. L. Hedrick: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **42**, 1174 (2004)
- F. Tasaka, Y. Ohya, T. Ouchi: *Macromolecules*, **34**, 5494 (2001)
- F. Tasaka, Y. Ohya, T. Ouchi: *Macromol. Rapid Commun.*, **22**, 820 (2002)