

論文の内容の要旨

論文題目 Development of Totally Synthetic Phenylborate-Based, Glucose-Responsive Polymer Gel. Glucose-Responsive Kinetics and Synthetic Methodology to Optimize the Operational Condition.

(フェニルボロン酸基含有型グルコース応答性高分子ゲルの動力的解析と分子構造制御による応答条件の最適化)

氏名 松元 亮

本研究は、糖尿病治療へ向けた新規な自律型インスリン投与デバイスへの応用を念頭に置き、フェニルボロン酸基含有型グルコース応答性高分子ゲルにおけるグルコース応答挙動の動力的解析と、分子構造制御による機能条件の最適化を図る方法論の確立を目的とする。

近年、刺激応答性高分子ゲルの研究が盛んに行われている。熱、pH、電場、光などの様々な刺激種によって、高分子ゲルの物理化学的特性変化を誘発する数多くの分子設計がなされ、“インテリジェントマテリアル”あるいは“スマートマテリアル”と呼ばれるような、種々の自律応答システムが実現されている。幅広く提案される応用領域の中でも特に、DDS (Drug Delivery Systems) を含めた医療分野への展開は、その潜在的有用性から、最も精力的に検討されている分野である。中でも、ある特定分子の濃度検知といった化学刺激に応答する材料の創出は、バイオフィードバック (生体自己制御) 機構を模倣した、パルス型応答システムの構築の観点においても意義深い。そのような濃度検知手法の確立が望まれ、医療分野への応用の観点においても重要な分子の一つはグルコース (血糖値変化) であろう。事実これまでに、糖尿病治療のための自律応答型インスリン投与デバイスの構築を目指した、種々のグルコース応答性ポリマー (ゲル) システムが提案されてきた。その代表的な手法としては、グルコースオキシダーゼ (GOD) とグルコース分子間の酵素反応の利用するもの、また、糖結合性レクチンであるコンカナバリン A (Con A) を用い、糖化インスリンとグルコース間での (Con A に対する) 競争的な結合の置き換えりを利用するものが良く知られる。これらのシステムについては、*in vitro*、*in vivo* (前者) での動作確認、生理活性評価等、多角的に検討され一定の成果を見たものの、共に key material として生体由来の材料 (タンパク質) を用いることから、その毒性 (特に後者)、また長期使用や保管に際し、タンパク変性による不安定な機能保持性などが重大な懸念となる。

このような文脈において、グルコース認識素子として、(生体由来でない) 合成物質を用いる高分子ゲルの設計は、上述のような問題を回避する可能性を秘め、より望ましいシステム構築の観点においても追究すべき課題である。本研究では、グルコース認識部位として、グルコースとの可逆的な共有結合能を有するフェニルボロン酸基に着目した。フェニルボロン酸基は、水中において非荷電、荷電型形態との平衡で存在しており、グルコースなどの多価水酸基の添加によって荷電型形態との間で起こるコンプレックス (荷電型) 形成により、結果として、より荷電型形態側へと平

衡を移動させる。非荷電型形態とグルコース間のコンプレックスは、容易に加水分化を受け、水中では不安定であることが知られている。このような性質のフェニルボロン酸基を、適当な水溶性高分子ゲル母材に導入することで、グルコース濃度変化に応答した非荷電型-荷電型間の平衡移動に基づく、対イオン圧力変化に同期した可逆的な体積相転移が引き起こされる。例えば、フェニルボロン酸基含有モノマーとして 3-acrylamidophenylboronic acid (AAPBA)、母材として poly(N-isopropylacrylamide)：PNIPAAm からなる共重合ゲル (NB ゲル) は、適当な pH、温度条件下において、そのような挙動を明確に示し、内包されたインスリンのパルス型放出制御も可能である。

本論文の内容を、以下章ごとに要約する。

第一章では、まず一般的な高分子ゲルの分類、物理化学的性質、材料として用いられる形態などについて述べた上で、高分子ゲルを刺激応答性材料として位置付け、DDS 分野への応用を念頭になされてきた数々の試みを系統的にまとめた。その中で、本研究の背景となる歴史、基礎技術、また、本研究の目的を達成することで得られる技術的有用性について、詳細に記述した。

第 2 章では、フェニルボロン酸基含有型高分子ゲルの、グルコースに応答した膨潤収縮挙動の動力学的解析を行った。高分子ゲルの動力学解析に際して問題となるのが、その応答の遅さである。高分子ゲルの応答性は形状やサイズ (二乗根に比例) に大きく依存し、また、著しく異方性を持つ形状の場合、歪みエネルギーによる影響も関与してくる。そこで、本研究では、逆相懸濁重合法により、等方性形状でマイクロオーダーサイズの、球状 NB ゲル (ゲルビーズ) を作成し、種々条件下でのグルコースに対するサイズ変化を追うことで、定量的な動力学評価を行った。まず、グルコース応答挙動の熱力学的理解のため、種々温度、グルコース濃度下での平衡膨潤体積を求め、酸塩基滴定から得られたフェニルボロン酸基の解離挙動と相関付けた。ついで動的な膨潤・収縮挙動を、刺激種 (温度、pH、グルコース濃度変化)、グルコース濃度変化の大きさ、ビーズサイズなどの観点で系統的に評価した結果、グルコースに応答した膨潤挙動は、ポリマー鎖の緩和が律則となる、Case-II transport に従う過程であることが明らかとなった。また、収縮過程の初期においては、ゲルが緩やかに収縮した後、ゲル表面の脱水収縮層 (スキン層) 形成による溶質分子の拡散性低下による停滞 (体積一定状態) 領域が観測された。一定時間経過後、激しい形状変化を伴いながら再び緩やかに収縮し、最終的にすべての相が収縮相へと転移するが、グルコース濃度変化による収縮過程では、温度や pH 変化に伴う過程に比べて、顕著に長い停滞 (体積一定) 領域が観測された。これらの観測から、フェニルボロン酸基含有型高分子ゲルを用いることで、長期間に渡り、臨界のグルコース濃度を連続的に検知しながら薬物放出制御を行う、グルコース応答システムとしての有用性が示された。

第3章では、本システムの人体への応用の際必要となる、生理条件下(pH 7.4、37°C)での機能発現を図る種々分子設計を行った。すなわち、より低いモノマーpKaを有することから、生理的 pH 下でのグルコース応答性が期待される新規なフェニルボロン酸基含有モノマーとして 4-(1',6'-dioxo-2',5'-diazia-7'-oxamyl)phenylboronic acid(DDOPBA)を合成し(pH 条件の改善)、また、これまで母材として用いた PNIPAAm よりも高い相転移温度を発現する poly(N-isopropylmethacrylamide (PNIPMAAm))に着目し(温度条件の改善)、これらから得られる一連の共重合体、および更なる温度条件の改善を目的としてカルボキシル基含有ユニットであるメタクリル酸の導入効果について、グルコース応答挙動の評価に加え、フェニルボロン酸基の解離挙動への影響の評価、さらには、蛍光修飾したインスリンを内包させ、そのリリース挙動について従来型の構造と比較しながら、分子構造による機能性制御のための方法論確立を目的とした。その結果、意図した構造要因と相関し、応答条件の顕著な改善が得られ、生理的な pH 条件下でのグルコース応答性が確認された。

第4章では、第3章で行ったポリマーでの評価結果を踏まえ、新規な種々構造からなるゲルを調製し、温度、pH、グルコース依存的なゲルの体積変化(平衡状態および動的変化)の評価を行った。ポリマーでの結果と対応し、各構造的要因を反映した応答条件の改善が得られた。また、導入されたカルボキシル基がもたらす主鎖(相転移挙動)への影響を抑制する目的で、カルボキシル基含有ユニットとして 2-Carboxyisopropylacrylamide (CIPAAm)を新たに用いた結果、比較的高い含率においてもシャープで、顕著なグルコースに対する体積変化が観測され、生理的 pH、温度条件下(pH 7.4、37°C)での応答性が確認された。

第5章は総括とした。本研究では、フェニルボロン酸基含有型高分子ゲルの、グルコースに応答した膨潤収縮挙動の動力学を明らかとした。また、一連の分子構造制御を系統的に行うことで、生理条件下において機能するシステムの構築に成功した。

本研究の遂行により、従来型の生体由来材料に立脚したシステムに対して、完全合成系からなる自律型グルコース応答性材料として、フェニルボロン酸基含有型高分子ゲルの有用性を示したものと考える。