

Title	組織工学応用のためのソフト生体適合性両性電解質高分子ハイドロゲル
Author(s)	Jain, Minkle
Citation	
Issue Date	2016-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/10119/13535
Rights	
Description	Supervisor: 松村 和明, マテリアルサイエンス研究科, 博士

氏 名	MINKLE JAIN
学 位 の 種 類	博士(マテリアルサイエンス)
学 位 記 番 号	博材第 389 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 28 年 3 月 24 日
論 文 題 目	SOFT BIOCOMPATIBLE POLYAMPHOLYTE HYDROGELS FOR TISSUE ENGINEERING APPLICATIONS (組織工学応用のためのソフト生体適合性両性電解質高分子ハイドロゲル)
論 文 審 査 委 員	主査 松村 和明 北陸先端科学技術大学院大学 准教授 海老谷 幸喜 同 教授 山口 政之 同 教授 金子 達雄 同 准教授 藤田 聡 福井大学 准教授

論文の内容の要旨

Introduction

Regenerative medicine and human tissue engineering are the two newly developed fields in medicine. Tissue engineering has emerged from the field of biomaterials and involves the combination of scaffolds, cells and biologically active compounds in functional tissues. The wider goal of regenerative medicine is to restore the normal function of the body tissues, which can be successfully achieved by repairing or replacing dysfunctional tissues. Hydrogels are attractive substitutes for tissue engineering as they meet many of these requirements such as resemblance to natural extracellular matrix (ECM), ability to absorb large quantities of water, improving biocompatibility over bulk polymers. Due to the immense importance of hydrogels in the field of tissue engineering, in my doctoral research I developed various kinds of hydrogels based on polyampholytes. Previously in my group, cryoprotective property of poly-L-lysine based polyampholyte was elucidated. In my research, I developed new polymer-based cryoprotectants and also employed these polyampholytes as one of the components in the fabrication of hydrogels. Hydrogels were prepared by chemical and physical cross-linking. Each hydrogel so developed have very unique applications in the field of tissue engineering.

Results and Discussion

Firstly in **chapter 2**, I developed cryoprotective hydrogels based on dextran polyampholyte. Hydrogel was fabricated using Cu-free Click chemistry. Cu-free Click cross-linking made this system a good candidate for injectable hydrogels. Hydrogels with cryoprotective property are very essential in the current scenario for the preservation of 2D or 3D tissue engineered constructs.

In next **chapter 3**, I developed thixotropic hydrogel based on poly-L-lysine polyampholyte and laponite. It is a very simple and effective method to fabricate injectable hydrogel using physical cross-linking. My major target was to cryopreserve the cells using polyampholyte and formulates it into hydrogel (using laponite as cross-linker) after thawing without washing out cryoprotectant. These kinds of hydrogels are very important for tissue engineering applications, as firstly it eliminates the need of cell harvestment and cell maintenance and secondly, due to its thixotropic nature, it is very useful as an injectable hydrogel. Thixotropic nature of the hydrogel prevented the unnecessary loss of the effective biomaterials to the unaffected areas after injection.

After the development of this type of hydrogel, in **chapter 4**, I introduced chemical cross-linking in this system using 4-arm polyethylene glycol amine as a cross-linker. This led to the development of hydrogel with tuneable mechanical properties. Mechanical stiffness of the substrate plays a crucial role in regenerative medicine and tissue engineering. Substrate stiffness decides the fate of cell differentiation. The hydrogels so developed with varied mechanical properties can have potent applications.

The last material, which I developed in **chapter 5**, is based on dextran hydrogel, which incorporates the nano-assemblies. This hydrogel shows controlled codelivery of hydrophobic drug and growth factors. It is very useful for topical wound healing applications.

Conclusion

In conclusion, I believe I was able to successfully fabricate different hydrogels with various unique applications using polyampholytes. Besides their cryoprotective property, in my study I was able to utilize their behavior of charge tuneability for the development of hydrogels by the incorporation of laponite as a cross-linker. Due to the presence of charge on both the components, numerous combinations were obtained. To my knowledge, no such work has been reported before which describes the interaction of polyampholyte with laponite. The beautiful interaction of the two by changing various parameters has opened up new avenues in the field of tissue engineering. These systems can be potentially useful in the fields of stem cell based therapies (where substrate stiffness plays crucial role in cell differentiation), pH-triggered cell delivery, drug delivery applications, etc.

Keywords: Polyampholyte, hydrogels, laponite, cryopreservation, thixotropic.

論文審査の結果の要旨

本論文は、両性電解質高分子化合物が持つ特性を利用した新規ハイドロゲルを作成し、その組織工学的応用を目指した研究である。両性電解質高分子は、その分子内にプラスとマイナスの両方の電荷を持ち、

pH や塩により電荷を調整できる事などから近年、スマートマテリアルとしての応用に期待されている。バイオマテリアル分野においては、細胞やタンパク質との低い相互作用が報告されており、タンパク質低付着表面や血液適合表面への応用が期待されている。また、近年、細胞の凍結保護作用が報告されるなど、特異的な機能が注目されている電解質高分子である。本研究では、両性電解質高分子のこれらの機能性を利用し、凍結保護作用を持つハイドロゲル、細胞増殖用足場材料としてのハイドロゲル、ドラッグデリバリー基材としてのハイドロゲルなど、種々の組織工学的応用を目指したゲルを創出し、評価を行い、以下の様にまとめた。

まず、天然由来多糖類であるデキストランにポリリジンを結合させ、さらにそのアミノ基を一部カルボキシル基に変換することで高分子量の両性電解質高分子とした。この高分子に縮合反応によりアジド基を導入し、一方でジベンジルシクロオクチンを導入したデキストランと混合することで、銅触媒を介さないクリックケミストリー反応でゲル化させることに成功した。この系は、細胞存在下でも毒性無くゲル化が可能であり、ゲル自体が凍結保護活性を持つ事を確認した。次に、ナノクレイを物理架橋点とすることで、細胞を含有したままチキソトロピー性を持ったゲルを作成した。このようなゲルはインジェクタブルゲルとしての用途が考えられる。これは、病変部に幹細胞などを投与する細胞治療の際に、細胞を病変部位に滞留させるために投与後速やかに細胞を含んだままゲル化する機能が要求される。その後、細胞が増殖し、組織の治癒と共にゲルが分解することが望まれる。本論文では、両性電解質高分子とナノクレイを組み合わせることで、一旦凍結しておいた細胞を、解凍後、洗浄操作無しに、ゲル化させる事でインジェクタブルゲルとしての用途が期待出来る。また、適した化学架橋剤を選ぶことでその力学強度、生体内分解性、細胞接着性を制御出来る事を示した。さらに、疎水性デキストランナノ粒子に疎水性薬物を包含し、ナノクレイ導入両性電解質ゲルに分散させることにより、ナノクレイの電荷を利用したペプチド医薬の徐放と、疎水性ナノ粒子からの疎水性薬物の徐放を異なるタイミングで制御することが可能となった。これにより新しいドラッグデリバリー基材としてのハイドロゲルが期待出来る。以上、本論文は、組織工学的応用を目指した両性電解質高分子を用いたハイドロゲルについて、構造と機能の制御を明確にしたものであり、学術的に貢献するところが大きい。よって博士（マテリアルサイエンス）の学位論文として十分価値あるものと認めた。