

Title	セルロースナノファイバーの表面修飾による生体材料の開発
Author(s)	袁, 喜達
Citation	
Issue Date	2022-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/10119/17763
Rights	
Description	Supervisor:松村 和明, 先端科学技術研究科, 博士

氏 名	YUAN, Xida		
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 525 号		
学 位 授 与 年 月 日	令和 4 年 3 月 24 日		
論 文 題 目	Development of functional biomaterials using surface modified cellulose nanofibers		
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	教授
	金子 達雄	同	教授
	松見 紀佳	同	教授
	都 英次郎	同	准教授
	吉川 千晶	物質・材料研究機構	主幹研究員

論文の内容の要旨

Cellulose nanofiber (CNF) is the most abundant and renewable natural polymer on the planet. Nowadays, since the environmental problems are becoming severe every year, the development of materials based on green materials such as CNF is of great significance. Because of its unique properties such as high specific surface area, high mechanical strength, reactive surface, biocompatibility, biodegradability, and non-toxicity, CNF has become a very attractive biological material. [1] The surface reactivity allows surface modification, hence the modification of cellulose to improve biocompatibility is a very attractive solution. In this dissertation I have used two methods to modify CNF to enhance its adhesion to cells and biodegradability and analyzed the principles of these two methods in order to achieve precise control.

The first method is the grafting of concentrated polymer brushes onto CNF. Polymer brush grafting is a practical surface grafting technique that can easily alter the physical and chemical properties of the surface, such as hydrophilicity, elasticity, and cell adsorption. Concentrated polymer brushes (CPBs), that is, grafted chains at very high concentrations which exhibit unique entropic properties, and CNF grafted with CPBs (CNF-CPBs) can flocculate with cells to form flocs, [2] which is promising as a 3D culture system. There is a possibility that this flocculation phenomenon can be explained by the Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) theory that guides colloidal flocculation, but further proof is needed. According to the DLVO theory, the flocculation phenomenon is influenced by the surface charge and spatial location. Therefore, in Chapter 2, CPBs with different charges were introduced on the CNF surface and co-cultured with cells. The results demonstrated that larger flocs could be obtained at appropriate zeta potentials. In Chapter 3, CNF-CPBs with different fiber lengths were synthesized, and flocculation of the three cell types was observed. Larger flocs are formed in samples of CNF-CPBs with shorter fiber lengths. Equally important was the fact that all three cells exhibited the same flocculation phenomenon. The results proved that flocculation based on CNF-CPBs, and cells can be explained by the DLVO theory and has the potential to be applied to a broader range of cell lines.

In conclusion, this is the first time the DLVO theory has been used to explain the flocculation phenomenon in cells and CNF-CPBs.

The degradability of materials is also an essential indicator of the adaptability of biomaterials. [3] In this study, the Malaprade reaction introduces dialdehyde into CNF, which can be degraded by the Maillard reaction triggered by the Schiff base reaction of dialdehyde CNF with amino acids in the body. Furthermore, the effect of reaction conditions on the reaction rate, CNF molecular weight, and crystalline index in this series of reactions was systematically investigated in order to better understand and control the degradation behavior of CNF. Briefly, the molecular weight decreased in both the oxidation and decomposition reactions. Crystalline index studies demonstrated that the Malaprade reaction occurred in crystalline region, which leads to a decrease in the crystallization index. While the degradation reaction occurs mainly in the amorphous region, hence the increase in a crystalline index after the degradation reaction.

In this thesis, the biocompatibility of CNF was enhanced by surface grafting of CPBs and triggering the Maillard reaction for CNF based on oxidation of CNF, and the principles of the reaction were explored for precise control.

Keyword: *cellulose nanofiber; concentrated polymer brush; flocculation; DLVO theory; surface charge; fiber length; Malaprade reaction; Maillard reaction*

論文審査の結果の要旨

植物細胞壁から単離されるセルロースナノファイバー（CNF）は、その高い結晶化度に起因する高弾性率と高強度を示すため、補強ナノ繊維として大きな注目が集まっているだけでなく、生体適合性・再生産可能性・低毒性などの観点からバイオメディカル応用に注目されている。CNF から構成されるハイドロゲルを足場とした 3D 細胞凝集塊や CNF を分散させた培養液を用いた間葉系幹細胞の浮遊 3D 培養など、木材由来 CNF の足場材料としての応用にも大きな注目が集まっている。一般に、表面処理の施されていない CNF を用いた場合、細胞と CNF 表面はほとんど相互作用しないため、CNF は足場材料にならない。そこで本研究では、CNF 表面に濃厚ポリマーブラシをグラフトし、CNF とタンパク質および細胞との相互作用を変化させることにより得られる細胞凝集体形成機能について評価した。表面開始原子移動ラジカル重合の手法を用いて CNF 表面にカチオン性およびアニオン性の濃厚ポリマーブラシをグラフトした。XPS や GPC により算出した表面占有率から、グラフトしたポリマーが濃厚ポリマーブラシであることを確認した。細胞はカチオン性ポリマーブラシをグラフトした CNF 上ではその毒性から死滅してしまうことが分かったが、アニオン性の表面では細胞接着性が高く、CNF 濃度に依存して凝集体が形成されることを見いだした。次に、長さの異なる CNF にポリアニオンの濃厚ポリマーブラシを重合した場合、長さが長いほど形成される凝集体が小さくなることが分かった。電荷と濃度による凝集体の形成は、細胞と CNF をコロイド粒子と見なすことで Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) 理論により、静電相互作用とファンデルワールス力の兼ね合いから説明が可能であるが、CNF の長さの影響は、新たに CNF による立体斥力を考慮することで説明可能であった。さらに、遺伝子解析により ポリマーグラフト CNF が HEPG2 細胞の機能を向上させることも確認している。この事実は CNF の 3D 足場材料と

しての有用性を示すものである。次に、生体材料として応用するためには、生体内での分解の制御が重要である。CNF は生体内では分解しないため、再生医療用材料としての利用には制限がある。過去に、過ヨウ素酸酸化により多糖類にアルデヒドを導入することで生体内のアミノ酸と反応して主鎖が分解することを示したが、同じ反応を CNF に対して行うことで生体内分解性の CNF 足場材料の創出を目指した。結果として、酸化 CNF の分解を確認することが出来、将来的には濃厚ポリマーブラシングラフト CNF の生体内分解性につながる知見が得られた。以上、グラフト CNF と細胞が形成するユニークな凝集体の形成機序を議論することで新しい 3D 細胞培養足場として、創薬スクリーニングや再生医療用足場などへの展開が期待できる点は学術的にも応用的にも優れていると判断した。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。