

Title	N-イソプロピルアクリルアミド共重合体を側鎖に有するデキストランヒドロゲルの温度応答型酵素分解の精密制御
Author(s)	熊代, 善一
Citation	
Issue Date	2001-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/2795
Rights	
Description	Supervisor: 由井 伸彦, 材料科学研究科, 修士

N-イソプロピルアクリルアミド共重合体を側鎖に有する
デキストランヒドロゲルの温度応答型酵素分解の精密制御

熊代 善一 (由井研究室)

[緒言] 近年、生体内で疾患時の刺激に反応して薬物を放出する担体の研究が注目されている。中でも生体内の電気、pH、温度等に対して、高い応答性を有する材料が期待されている。一方、実際の医療における薬物投与は、複数の体内変動を総合的に診断することによって行われている。そこで、次世代の材料として複数の体内変動に同調(シンクロナイズ)する材料が求められている。これまでに当研究室では、温度応答型高分子である N-イソプロピルアクリルアミドの共重合体をグラフトしたデキストランの三次元架橋ヒドロゲルを設計し、温度上昇により、多糖マトリックスの酵素分解が促進される二重刺激応答機能を見いだした¹⁾。これは、グラフト鎖の脱水和による収縮に伴った、多糖マトリックスとの絡み合いが減少することにより発現する機能と考えられているが、その酵素分解を制御する要素は明確ではない。そこで本研究では、多糖マトリックスのグラフト鎖の分子量とグラフト鎖数を任意に制御したグラフトコポリマーを合成し、グラフトコポリマーの温度に反応した酵素分解挙動を、溶液系で粘度測定と GPC による定量により確認し、そのグラフト鎖の分子量とグラフト鎖の導入量の相関性を明らかにした。さらに、このグラフトコポリマーを三次元架橋することによってグラフト鎖長もしくは導入量を制御したヒドロゲルを調製し、温度にシンクロナイズした分解機能を制御するソフトマテリアルとしての評価を行った。

[実験] 既報¹⁾により、グラフトコポリマーを合成した。合成したグラフトコポリマーを、リン酸緩衝溶液(PBS, pH=7.4)に溶解させ、Cannon-Fenske タイプの粘度計を用いて下限臨界溶液温度(LCST)以下と以上の温度で、デキストラナーゼ(0.5U/ml)による酵素分解挙動を観察した。酵素分解挙動の確認を GPC を用いて、デキストラン最終分解生成物であるオリゴ糖の面積比により確認した。次に、p-ニトロフェニルクロロフォルメートにより活性化したグラフトコポリマーをヘキサメチレンジアミンにより架橋し、三次元架橋ヒドロゲルを調製した。ヒドロゲルの含水率を、乾燥時と平行膨潤時の重量から算出した。ヒドロゲルを PBS 中に浸し、デキストラナーゼ(0.5U/ml)存在下での分解を行った。酵素分解の進行は、所定時間ごとにヒドロゲルの重量変化を測定することによって評価した。

[結果と考察] ¹H NMR により、グラフト鎖長とグラフト鎖数を任意に制御できることを確認した。グラフト鎖の分子量を 1,510、3,800、9,140 の三種類を合成し、グラフト鎖数は仕込量によって変化させることが可能となった。グラフト鎖の分子量が 9,140 の時に、LCST 以下の温度で酵素分解が抑制される挙動が観察された (Figure 1)。一方 LCST 以上の温度では、全てのグラフトコポリマーが不均一条件下にも関わらず、デキストランと同じように分解することが観察された。以上のことは、LCST 以下でのグラフト鎖とデキストラン主鎖との絡み合いが、デキストラナーゼのデキストラン主鎖への接近を立体的に抑制し、LCST 以上では、グラフト鎖が脱水和収縮して絡み合いが解消されることにより、デキストラナーゼがデキストラン主鎖へ接近できるものと考えられる。

グラフトコポリマーの架橋反応により、透明な三次元架橋ヒドロゲルを調製することが可能となった。ヒドロゲルの分解挙動は、LCST 以下の温度でグラフト鎖の分子量が 9,140 の時に最も著しく酵素分解が抑制された。この結果は水溶液中での結果と対応しているが、グラフト鎖の分子量が 3,800 の場合、溶液の場合と比較して有意に分解が抑制されている傾向がみられた (Figure 2)。デキストラン主鎖を三次元架橋することにより、グラフト鎖はヒドロゲルの体積範囲内に密に存在すると予想される。従って、架橋による顕著な分解の抑制は、グラフト鎖の分子量が短いにも関わらずヒドロゲル中もしくは表面において物理的な絡み合いの程度が増大し、結果的に酵素の接近を抑制したものと考えられる。一方 LCST 以上の温度では、ヒドロゲルが不均一状態にも関わらず、酵素分解が進行することが確認された。以上のことから、グラフトコポリマーの三次元架橋の効果により物理的な絡み合いを増大させるとともに、温度にシンクロナイズした分解をグラフト鎖長と架橋状態から制御可能であると結論した。

References: 1) M. Kurisawa, and N. Yui, *Macromol. Chem. Phys.* **199**, 2613 (1998).

2) K. M. Huh, Y. Kumashiro, T. Ooya, and N. Yui, *Polymer Journal* **33**, 108 (2001)

Key Words Dextran graft copolymer, Stimuli-responsive polymer, Hydrogel, Enzymatic degradation

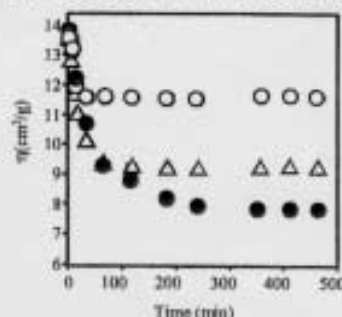


Figure 1 Enzymatic degradation of dextran grafted with poly(NIPAAm-co-DMAAm) below LCST; (●) is control and molecular weights of grafts are 3,800(△) and 9,140(○).

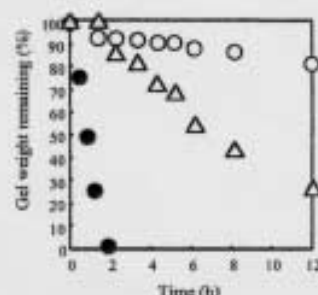


Figure 2 Enzymatic degradation of dextran hydrogel grafted with poly(NIPAAm-co-DMAAm) below LCST; (●) is control and molecular weights of grafts are 3,800(△) and 9,140(○).