組織表面に接触すると自己被膜化する新奇メディカルデバイスの挙動解析

1, 2松井直・1長崎健・2山岡哲二

1大阪市立大学　工学研究科化学生物系専攻・2国立循環器病研究センター研究所　生体医工学部

**A novel injectable biomaterial enabling gelation upon contact with soft tissue surface**

Sunao Matsui1,2, Takeshi Nagasaki1, Tetsuji Yamaoka2

1Department of Applied Chemistry and Bioengineering, Graduate School of Engineering, Osaka City University, 2National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan

Injectable hydrogels that gellate in response to temperature, light, or pH are not necessarily suitable for in vivo usage. One of the good challenges is the material which transform into a gel by reacting with glucose in the body fluid, but the authors are concerned about the cytotoxicity of generating hydrogen peroxide during the gelation. In this study, we use phenylboronic acid to develop a new injectable hydrogel which gellates by contact with soft tissue surface. Phenylboronic acid binds to molecules with 1,2-cis-diol and 1,3-diol, (ex. Glucose (Glu) or polyvinyl alcohol (PVA) etc.). phenylboronic acid group-bearing polymer (BAAm) and PVA are not crosslinked in the presence of high Glu concentration, while they gellates at low Glu concentration. We are proposing here a novel system in which a mixed solution of BAAm, PVA, and Glu gellates upon contact with the soft tissue surface, Glu in the solution would permeate into the tissue, and the glucose concentration at the tissue interface would drastically decrease, resulting in the formation of a thin film on the tissue surface. In the presentation, we will introduce *in vitro* experiment in detail.

1．　はじめに

　刺激に応答してゾルゲル転移するインジェクタブルハイドロゲルが数多く研究されている。例えば、温度や光、pHなどの人工的刺激によりゲル化するハイドロゲルがあるが[1][2]、生体環境での使用条件が限定されるという問題点がある。一方、体液中のグルコース(Glu)と反応してゲル化するインジェクタブルハイドロゲルも報告されているが[3]、過酸化水素を発生するため、細胞毒性が懸念されている。本研究では、軟組織との接触が誘発するより温和な新しい刺激を見出すことを目指した。

フェニルボロン酸は、pH8.0-9.0でGluやポリオール化合物が有するジオール基と結合する[4]。先行研究で、高Glu濃度溶液中では、フェニルボロン酸基を導入したポリマー(BAAm)とポリオール化合物であるβ1,3-グルカンの架橋が抑制されてゾルになり、低Glu濃度溶液中ではBAAmとβ1,3-グルカンが架橋するゲル化システムを開発した。本研究では、ポリオール化合物としてβ1,3-グルカンより粘性が低いポリビニルアルコール(PVA)を用いることで、組織表面で被膜を形成させることを考えた。BAAm, PVA, Gluの混合溶液が軟組織に接触すると、溶液中のGluが軟組織内に速やかに浸透し、組織界面のGlu濃度が低下することで、組織表面にBAAmとPVAの架橋被膜が形成すると考えられる。発表では、軟組織表面を再現した*in vitro*モデル実験、ミニブタ心臓組織表面での被膜化を評価した結果を報告する。

Figure 1 Sol/gel transition in response to glucose concentration.

2.　実験

　異なる組成および分子量を有するBAAmをフリーラジカル重合によって合成した。組織中のGlu濃度(1.0 mg/mL)、およびその10倍濃度(10 mg/mL)でBAAmとPVA(けん化度 98%, 重合度580)が架橋するかを試験管転倒法によって評価し、組成を最適化した。BAAmが10 mg/mL、ＰＶＡが5 mg/mL、Gluが15 mg/mLとなる混合溶液をリン酸緩衝液(pH8.0, イオン強度 0.15M)で調製し、組織接触時のGlu濃度減少を再現するため、1.0 mg/mL Gluを含む生理食塩水を外液としてBAAm, PVA, Gluの混合溶液を透析し、所定時間後に内部透析溶液のGlu濃度測定と透析膜内側の表面をSEMで観察した。軟組織内にGluが浸透することを評価するため、モデル分子として塩化ガドリニウム水溶液(0.55 mM)とイオパミドール(370 mg/mL)を使用して、MRIおよびCT撮影を行った。また、ミニブタ心臓組織表面に紙やすりで擦過傷を加えた組織と未処置の正常組織を用意して、それらにBAAm, PVA, Gluの混合溶液を噴霧して2分、5分静置した後の組織表面をＳＥＭで観察し、表面の元素をＸＰＳで分析した。

3.　結果と考察

(B)

(A)

 分子量が27k～110kで、PBA基導入率が1～5%のBAAmが合成できた。PBA基導入率が1%の場合、いずれのGlu濃度でもゾル状態、また5%の場合はゲル状態で、Glu濃度が1.0～10 mg/mLでゾルゲル転移するBAAmのPBA基導入率は3%であった。また、分子量はゲル化挙動に影響しなかった。透析して2分後の透析膜表面には、被膜が観察された(Figure 2(A))。その溶液のGlu濃度を測定したところ、透析前の溶液に比べて18%しか減少していなかったことから、膜界面でのGlu濃度低下により被膜が形成したと考えられる。MRIとCTによると、ガドリニウム(Ⅲ)イオンやイオパミドールがミニブタ心臓組織内に速やかに浸透しており、Gluも組織内に浸透することでゾル中のGlu濃度が低下すると考えられる。そして、ミニブタ心臓組織表面に混合溶液を噴霧した組織表面をSEMで観察した結果、時間が経過すると無噴霧に比べて組織表面が滑らかになっていく様子が観察された。ＸＰＳスペクトルでは、正常組織表面は無噴霧と比べて変化が見られなかったが、擦過傷組織表面では、Ｃ1s領域にカルボニル基のピークが検出され、B1s領域には新たなピークが検出された。これらのことから、組織中に速やかにGluが浸透することで表面に被膜が形成し、とくに擦過傷部で架橋反応がより顕著に起こったと考えられる。

Figure 2 SEM image of produced gel on dialysis membrane after 30min (A) with or (B) without PVA.

参考文献

[1] Chang-Zheng Wei et al. *Biomaterials* **30** (2009) 5534–5540

[2] Yunlong Yang et al. *Acta Biomaterialia* **62** (2017) 199–209

[3] Shinji Sakai et al. *Acta Biomaterialia* **24** (2015) 152–158

[4] Greg Springsteen and Binghe Wang. *Tetrrahedron* **58**(2002) 5291-5300