

## 微生物産生ポリエステルを用いた伸縮性ポーラス繊維の高次構造解析 及び酵素分解性

○1 日大・生産工, 2 東大・農, 3 三菱ガス化学(株), 4 JASRI

辻本 桜<sup>1</sup>, 大村 拓<sup>2</sup>, 前原 晃<sup>3</sup>, 加部 泰三<sup>4</sup>, 高橋 大輔<sup>1</sup>, 岩田 忠久<sup>2</sup>, 山田 和典<sup>1</sup>

### 1. 緒言

生体吸収性高分子は、以前より医療分野において研究がされており、ドラッグデリバリーシステムや手術用縫合糸に使用されてきたり。生体吸収性医療材料は、除去手術を必要としないことから、患者の負担を軽減できる利点がある<sup>2)</sup>。そのため、生体吸収性医療材料の開発が進められ、現在ポリヒドロキシアルカン酸 (PHA)、ポリグリコール酸 (PGA) やポリ乳酸 (PLLA) などが実用化されている。しかし、これらの手術用縫合糸は、柔軟性に乏しいため、結び目の安定性が悪く、摩擦係数が大きいため、生体組織が引き切られるような感覚になるなどの欠点があった<sup>3)</sup>。これまで、心臓や関節など、可動を必要とする箇所には柔軟性がある非生体吸収性高分子で作られた縫合糸が使用されてきた<sup>4)</sup>。生体吸収性高分子の中でも、PHAの一種であるポリ[(R)-3-ヒドロキシブチレート] (P(3HB))は、糖や植物油を原料に、微生物体内で作られる、環境にやさしいプラスチックとしても注目されている。しかし、P(3HB)は、PGAやPLLAと同様に、強度は強いが硬くて柔軟でないことが医療材料として欠点であった。その性質を改善する目的で、共重合体化による柔軟性の付与が試みられてきた。PHA共重合体の一種である、ポリ[(R)-3-ヒドロキシブチレート-co-4-ヒドロキシブチレート] (Fig. 1, P(3HB-co-4HB))は、生体吸収性や強くしてしなやかな特徴を有することが報告されている<sup>5)</sup>。そのため、P(3HB-co-4HB)を用いて繊維を作製することで、従来の非生体吸収性縫合糸の代替にできると考えられる。

さらに、一本の繊維内部が多孔質であれば、内部に薬剤を含浸させ、分解とともに薬剤が徐放されるという薬剤徐放性や、結紮部 (結び目) が小さくなるという利点が期待でき、

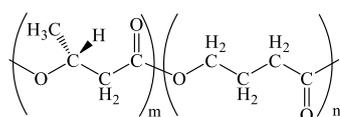


Fig. 1. Chemical structure of P(3HB-co-4HB).

高機能な縫合糸へ展開できると考えた。本研究では、PHAの繊維内部を多孔質にし、高強度繊維を作製する方法として開発された微結晶核延伸法<sup>6)</sup>により、P(3HB-co-4HB)から伸縮性を有する生体吸収性のポーラス繊維を作製し、各繊維に対して走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察及び引張試験、X線解析により高次構造を評価した。さらに、医療材料としての展開を目指すため、作製した繊維に対して酵素による分解性を評価した。

### 2. 実験方法

2-1. ポーラス繊維の作製: P(3HB-co-16 mol%-4HB)は三菱ガス化学から提供されたものを使用した。重量平均分子量約60万のP(3HB-co-16 mol%-4HB)を170°Cで熔融紡糸し、氷浴中(4°C)で巻き取ることで非晶質繊維を得た。次に、4°Cで0~72時間保冷して微結晶核を形成させ、その後繊維を室温で延伸 (最大延伸倍率:  $\lambda=12$ ) することで延伸繊維を得た。なお、引張試験、走査型電子顕微鏡 (SEM) により作製したポーラス繊維の物性評価、及び断面観察を行った。

2-2. ポーラス繊維の高次構造解析: 大型放射光施設 (SPring-8, BL03XU) にて、伸縮試験を行いながら広角X線回折 (WAXD) および小角X線散乱 (SAXS) をリアルタイム同時測定することにより伸縮時の高次構造を解析した。

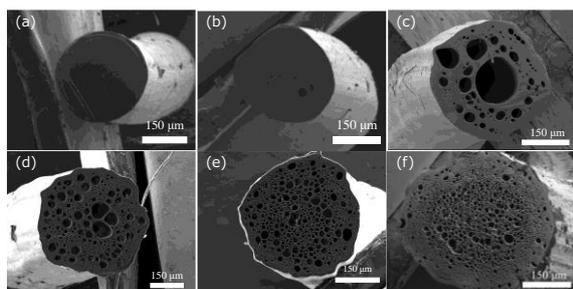
2-3. P(3HB-co-4HB)繊維の酵素分解: *Ralstonia pikeitii* T1 由来の PHB 分解酵素を使用し、37°CでIC時間0 h, 24 h, 48 h, 72 hの繊維の分解速度を評価した。

### 3. 実験結果・考察

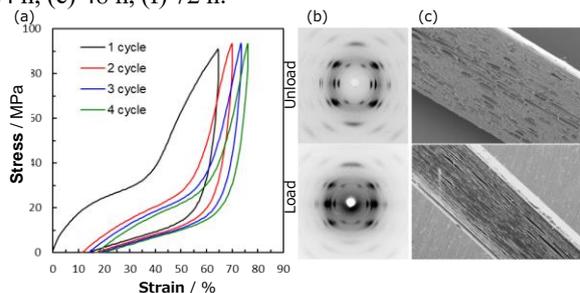
3-1. 伸縮性ポーラス繊維の形態と物性: 微結晶核形成時間 (IC: isothermal crystallization) を0~72時間において作製したP(3HB-co-16 mol%-4HB)繊維の断面を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した (Fig. 2(a)~(f))。IC時間が0時間ではポアが観察されなかったが、12時間以降では繊維内部にポアが観察された。また、微結晶核形成時間が短いとポアサイズが大きくなるのに対し、長くなるとポアサイズが小さくなる傾向であった (24 h: 11  $\mu\text{m}$ , 72 h: 4.7  $\mu\text{m}$ )。つまり、IC時間によりポアサイズの制御が可能であること

## Higher-Order Structural Analysis of Elastic Porous Fibers from Microbial Polyester and Their enzymatic degradation.

Sakura TSUJIMOTO



**Fig. 2.** Cross-section SEM images of P(3HB-co-16 mol%-4HB) elastic porous fiber with isothermal crystallization time (IC) (a) 0 h, (b) 6 h, (c) 12 h, (d) 24 h, (e) 48 h, (f) 72 h.



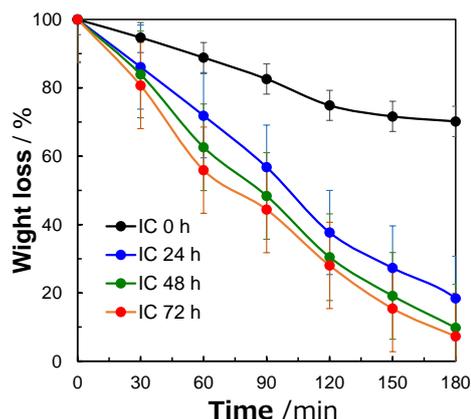
**Fig. 3.** Hysteresis curves between 8 N (~98 MPa) and 0 N (0 MPa) (a), WAXD patterns of unload and load (b) and (c) SEM images of unloaded and loaded longitudinal sections.

が示唆された。また、引張強度は約200 MPaと高強度であることがわかった。

**3-2. ポーラス繊維の伸縮性:** 作製した P(3HB-co-16 mol%-4HB) 繊維は、約 2 倍に伸びた後、応力を開放すると元の状態へ戻るといった伸縮性を有していた (Fig. 3(a))。伸縮性ポーラス繊維の伸縮時における高次構造について調べた。Fig. 3 (b) に伸張前後の 2 次元 WAXD パターンを示す。得られた繊維の伸張前は、 $2^1$ ヘリックス構造( $\alpha$  晶)が配向しているピークが観察された。一方で、伸張後には、 $\alpha$  晶の回折に加えて赤道線上の平面ジグザグ構造 ( $\beta$  晶)の回折が観察された。Fig. 3(c) に繊維内部のポアの繊維縦断面 SEM 像を示す。ポアの形状は繊維の伸縮に伴って変化していることがわかった。また、伸縮性ポーラス繊維の長周期は、伸張前が 7.0 nm で、伸張後は 10.4 nm に変化し、応力を除荷すると 7.0 nm に戻った。この長周期の変化率は、約 60% 伸びに対し、49% の変化率であった。

以上のことから、長周期の変化が伸縮性に大きく起因していることが示唆された。

**3-3. 伸縮性ポーラス繊維の酵素分解性:** 作製した P(3HB-co-16 mol%-4HB) 繊維を用いて、酵素分解性を評価した (Fig. 4)。各繊維において、酵素分解前の繊維表面は平滑であったが、分解



**Fig. 4.** Changes in weight loss with the time of porous fibers as enzymatic degradation.

が進むにつれて繊維表面から凸凹の表面が露出し、繊維直径が小さくなった。非ポーラス繊維とポーラス繊維を比較すると、ポーラス繊維は非ポーラス繊維より速く分解することがわかった。また、IC 時間の増加に伴って、ポアサイズが小さくなり、P(3HB)分解酵素による分解速度が増加することがわかった。これはポアの数が増えると、露出している表面積が増加することに起因している。つまり、ポーラス繊維の分解速度はポアサイズによって制御できることがわかった。

#### 4. 結言

本研究では、微生物産生ポリエステルの一種である P(3HB-co-16 mol%-4HB) から、微結晶核延伸法により高強度かつ伸縮性を有したポーラス繊維の作製に成功した。得られた繊維の伸縮性については、 $\beta$  晶の発現及び長周期の変化が繊維の伸縮挙動に起因している。また、ポアの数が多いポーラス繊維(IC=72 h)ほど速く分解したことから、IC 時間により、ポアサイズ及び分解速度が制御可能であった。

#### 参考文献

- 1) K. Nakano *et al.*, *JACC Cardiovasc. Interv.*, **2**, 277–283 (2009).
- 2) S. Vainionpää, P. Rokkanen, and P. Törmälä, *Prog. Polym. Sci.*, **14**, 679–716 (1989).
- 3) T. M. Muffly, J. Boyce, S. L. Kieweg, and A. J. Bonham, *J. Surg. Educ.*, **67**, 222–226 (2010).
- 4) J. M. G. Paez *et al.*, *Biomaterials*, **15**, 981–984 (1994).
- 5) T. H. Ying *et al.*, *Biomaterials*, **29**, 1307–1317 (2008).
- 6) T. Tanaka *et al.*, *Polymer*, **48**, 6145–6151 (2007).