

補助事業番号 2023M-296

補助事業名 2023年度 異種材料をつなぐ多機能性人工腱の開発 補助事業

補助事業者名 森本 展行

## 1 研究の概要

超高齢化社会においてQOLの向上や労働者人口の維持は不可欠であるが、このためには骨のみならず骨と筋肉をつなぐ腱も重要である。しかし、これまでのところ満足の行く人工の腱は開発できていない。そこで本研究では伸縮性・自己修復性を併せ持った生体適合性ハイドロゲルに着目し、異種材料への接着性の付与とともに、ゲルの強靱化を目指して機能性無機ナノ粒子を含有したハイブリッド型のハイドロゲル開発について検討を行った。

高接着性ハイドロゲルの調製において機能性スルファベタインモノマーの分子間相互作用を考慮した重合時の温度および塩の選択と濃度に対して条件検討を行った。添加塩の比較として塩化ナトリウムと塩化マグネシウムを行ったが、塩化マグネシウムを加えることで重合溶液の粘性が増し重合収縮を最小限に抑えることができた。また接着力に関する試験結果では、塩の違いより重合温度の寄与が大きく、65°Cで重合したときにガラスに対する高い接着性が得られた。次にガラスと各種の材料に対してハイドロゲルの接着性を評価したところ、親水性の高いガラスに加え、酸化物表面をもつステンレスとチタンに対しては比較的良好な接着性を示したことに對し、疎水性の高いシリコンやPMMAではガラスと比較して非常に弱い接着力のみ生じた。また粘土鉱物由来のラポナイトおよび炭化ケイ素のナノ粒子を含有させたハイブリッド型ハイドロゲルの調製を試みたがナノ粒子の分散性を得ることが困難であり、結果として伸展性を著しく低下させた。ナノ粒子の傾斜分散性をもったハイドロゲル調製法の確立することで、次世代型人工腱の創製に大きな期待がもたれる。

## 2 研究の目的と背景

生体において腱は筋と骨とを結ぶ強靱な結合組織で、筋の収縮力を骨格へ効率的に伝達する。しかし腱が断裂した場合、再生能が低いいため主に自家移植による腱再生術が行われるが、その後のリハビリは年単位にも及ぶ。有用な人工腱の開発が期待されているが、これまでのところ実現には至っていない。

本研究では、単に筋-骨間の強固な接着および引張りに対する耐久性を付与するにとどまらず、生体腱のもつ強固な異種材料結合性と力の伝達性をミミックし、ソフトサスペンションともいべき力の伝達制御や自己修復性を有したゲルを基材をとして選択することで再生能を備えた人工腱の創製を目指す。各種素材に接着性を示すモノマーを含有した生体

適合性ハイドロゲルを、生体の腱をミミックした傾斜構造を有するヘテロ構造化ハイドロゲルを開発し、多機能性人工腱として応用を図る。さらに、開発した調製法を活用して導電性や熱応答性を具有する新規な多機能性弾性接着剤を開発し、機能評価から展望を得る。

### 3 研究内容

#### (1) 高接着性・高強度ハイドロゲルの調製

基材に対して高い接着性を有する生体適合性ハイドロゲルを得るため、ツビッターイオン型ポリマーの一種で、アニオン性基として硫酸基を有したスルファベタイン(ZB)を用いて開発を行った。モノマーの合成において、溶媒の選択と反応溶液内の溶存酸素を除去することで反応時間を大幅に短縮し、90%を超える収率で得ることが可能となった。

このZBモノマーを用いた高接着性ZBハイドロゲルの調製は、架橋剤(N,N'-メチレンビスアクリルアミド)濃度をモノマー比で0.1モル%に固定して溶媒条件、重合開始剤と重合温度について検討を行った。通常、ポリアクリルアミドやポリメタクリル酸などに代表される水溶性モノマーからなるハイドロゲルは、開始剤さえ適切に選択すれば重合温度によらず同等のハイドロゲルが得られる。一方でZBポリマーは水溶液中に塩を含有させることで下限臨界共溶温度を示しえることから、重合時の反応温度や溶媒条件により得られるハイドロゲルの基材への接着性が変化すると考えた。溶媒はZBポリマー調製時に用いる酢酸バッファー(pH4.5)をベースとし、ZBモノマーを溶解させるために(a) 1M NaCl、(b) 1M MgCl<sub>2</sub>、(c) 1M MgCl<sub>2</sub>+20%エタノールをそれぞれ加えた溶媒を用いた。また重合温度は20°C、65°C、90°Cにて検討を行った。ゲルの接着性発現評価への適用するため、厚さ2mmのシリコンスペーサーを挟んだスライド



図 1 MgCl<sub>2</sub> 添加溶媒により調製した ZB ハイドロゲル

ガラス、あるいはプレート基材を用い、ここに脱気したモノマー溶液を流し込み終夜重合反応させることでZBハイドロゲルを得た。(a)の溶媒条件を用いて20℃で重合反応を行った場合、ゲル化当初からポリマー鎖の伸長とそれに伴うポリマー側鎖間に働く分子間相互作用により白濁したハイドロゲルが得られた。一方で65℃、90℃で重合反応を行うと透明度が高く、流動性の高いハイドロゲルが観察されるが、室温まで冷却することで流動性を失い白濁した。これは化学架橋する架橋剤濃度が0.1モル%と低いため、これらの重合溶媒条件においては分子間相互作用、すなわち水素結合ベースの双極子 - 双極子相互作用がゲルのバルク性質に影響したものと考えられた。さらに重合時の添加塩をNaClから(b)のMgCl<sub>2</sub>へと変更することで、重合収縮を抑制することに成功した。

(2) 人工腱としての利用に向けたキャラクタリゼーション

2 mmのシリコンスペーサーを挟んだガラス基材（サイズ 25 x 75 mm、ゲル接触面積 15 x 55 mm）のX-Y平面に対して垂直方向に治具を装備し、この治具を挟みこみ引張試験を行うことで接着強度の評価を行った。重合にて得られたゲルを室温まで冷却し、そのまま引張試験機にセットして1.0 mm/minのクロスヘッドスピード室温で測定を行った。まず、①(a)の溶媒条件、すなわち1M NaClを含む酢酸バッファー中でゲル化させたZBハイドロゲルの接着強度の温度依存性を検討した。その結果を図2に示す。20℃で重合を行った場合と比較して、65℃、90℃で重合を行うことでハイドロゲルの接着性は向上していた。特に65℃で重合を行った場合においては、20℃のおよそ4倍もの接着強度を発現させることに成功した。一方90℃重合で得られたハイドロゲルの

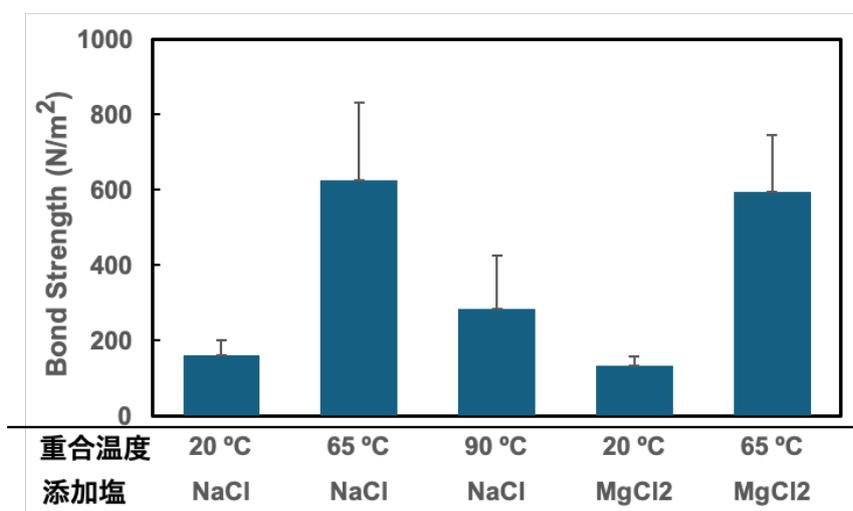


図 2 ZB ハイドロゲルのガラス基材への接着における重合条件依存性

引張強度は65°Cの値と比較すると50%ほど低下している。これらのことから、ZBハイドロゲルとガラス基材の親和性に最適温度が存在していることが示唆される。初期の接着強度が最も高い応力を示す一方で、基材と接着したままZBハイドロゲルの特性により伸長することが観察される(図3)。ある一定の距離から徐々に剥離が認められるものの、厚さ2mmのハイドロゲルに対して10cm以上まで伸長しえる。この伸長時において力は小さく、ゴム様の変形をしていると考えられた。添加塩をMgCl<sub>2</sub>に変更した場合において、前述のように透明性の高いゲルが調製時に得られるが、接着強度の観点からは温度による変化はあるものの、各温度においてNaCl添加・調製したZBハイドロゲルとの有意な差は認められなかった。また重合溶媒に20%アルコールを含有した系においては接着強度の低下を引き起こした。



図 3 ZB ハイドロゲルによるガラス-ステンレス間の接着・伸長

に最も高い接着強度が得られた65°Cでの重合条件を用いて次に異種材料間での接着について検討を行った。ガラスを片側の基材として固定し、(i)PMMA(アクリル)、(ii)シリコーン、(iii)ステンレス(SUS304)、(iv)チタン、に対してその接着性を検討した。その結果を図4に示す。シリコーンについては接着力が弱く試験を行うことができないサンプルも多かった。またPMMAを基材とした場合においても接着力は弱くPMMA側からの容易な剥離が認められた。それに対してチタンやステンレスでは接着性が認められ、特にステンレスにおいてはガラスに対する接着力の6割程度でハイドロゲル

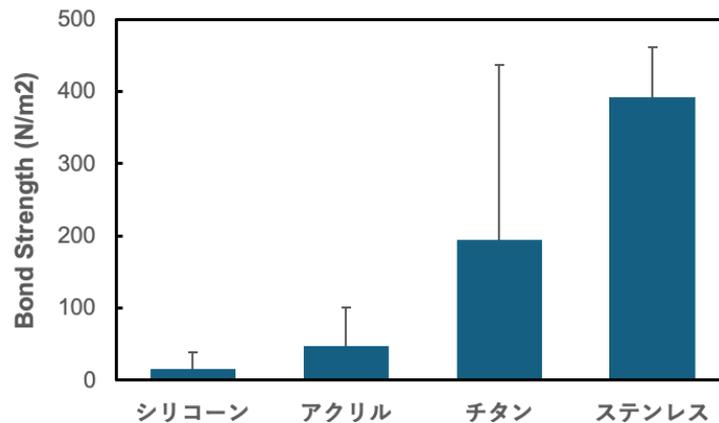


図 4 ZB ハイドロゲルによるガラスと異種材料間の接着強度

の伸長も観察される良好な接着性を示した。ガラス-ガラス間の接着も含めると、これらは疎水性表面に対しては非接着性、あるいは弱い接着力しか得ることはできず、親水性に優れたガラスや酸化被膜を形成するチタン、ステンレスに対して良好な接着性を示したと考えられた。一方で溶媒条件の検討をガラス-ガラス基材に対して行った条件を適用したことから、それぞれの基材に対しての最適条件の存在も否定できず、引き続き検討を行っていきたい。

### (3) 複合化ハイドロゲルの設計と評価

ZBハイドロゲルの接着力に加え、バルクゲルとしての特性をより高強度に、また歪に対する俊敏な伸縮応答性とともにも多機能性を有したゲルの設計を無期ナノ粒子との複合化から検討した。複合化ハイドロゲルとして高強度化を目指したラポナイト、および導電性と近赤外線応答性の付与を目指したSiCのゲル中への混合を試みた。MgCl<sub>2</sub>塩含有溶媒中にモノマー重量に対して超音波照射により分散化させたナノ粒子0.5wt%を混合し、20°C条件でゲル調製を行った。得られたゲルは添加ナノ粒子の沈殿によりその分布が膜片面に偏りが生じた。現在のところZBハイドロゲルの調製には高濃度の塩を含む水溶液が必要であり、これが逆にラポナイト、SiCの分散性を大きく低下させ沈殿を引き起こしていると考えられた。その一方でヘテロ構造を有していることとみなすことができることから、接着強度について引張試験を用いて同様に評価した。いずれの場合においても20°Cでの重合反応条件ではその接着性を向上させた。Laponite含有ZBMAハイドロゲルでは未含有のゲルと比較して3倍程度の接着力を示したものの、伸長性は大きく失われてしまった。SiC添加では接着力の分布幅が広く、安定した分散性の付与が必要である。精密制御したヘテロ構造化ゲルを得るためにも

重合時におけるナノ粒子の分散条件のさらなる探索が必要と考えている。

#### 今後の展望

高齢者は脆弱な部位である腱は再建が困難となるために、超高齢化社会を迎えている現在、健康寿命の延伸のために人工腱の開発は骨とともに重要な課題である。本研究ではウェットな条件下で異種材料を接着しうることを明らかとしたが、今回着目したモノマーユニットは、ハイドロゲル化させることで優れた生体適合性に加え自己修復性を示す。画期的な人工腱の開発につなげるため、強度を付与し、3次元的な構造制御したハイドロゲルの創製を続けていきたい。