

## ポリアミノ酸の医用材料としての応用

Applications of poly(amino acid)s as Biomedical Materials

妹尾 学\*・黒柳能光\*\*

Manabu SENŌ and Yoshimitu KUROYANAGI

ポリアミノ酸の生体内分解性を活かして、医薬徐放剤の基材としての応用と、人工皮膚基材としての応用について解説した。また細胞培養および細胞分離用基材として利用するための基礎研究として、細胞とポリアミノ酸との相互作用について述べた。

## 1. 結 言

最近の人工臓器の開発研究の目覚ましい進歩は、長年にわたる医用材料の基礎研究の大きな成果に立脚している。現在使用されている医用材料は、金属、セラミック、合成高分子および生体由来材料の4種に大別される。金属、セラミックは人工骨、人工関節など生体内長期埋入型医用材料として使用され、生体に対し非刺激性であることを特性としている。合成高分子は医用目的に応じて生体内非分解吸収性あるいは分解吸収性材料として適用できるように分子設計され、数多くの新しい医用材料が開発されている。特に抗血栓性合成高分子材料の研究は著しい進歩を遂げ、人工心臓、人工血管の開発に大きな貢献を果たしている。一方、コラーゲンに代表される生体由来材料は、組織適合性に優れ、生体内分解吸収性をもつことを特徴とし、単独あるいは合成高分子材料とハイブリッド化され使用されている。

このような背景から、ポリアミノ酸の医用材料としての応用を考えることは興味深い。すなわち、ポリアミノ酸は生体由来材料にもっとも近い合成材料であり、生体内分解吸収性をもつことから、医用材料として特徴的かつ広範な応用が展開できる素材である。たとえば、外科手術用縫合糸、癒着防止膜、医薬徐放剤用基材、<sup>1-4)</sup>人工皮膚基材<sup>5-7)</sup>などが、ポリアミノ酸の応用対象となる。この中で医薬徐放剤用基材は付加価値の高い応用対象であり、特に制がん剤の徐放化は副作用を低減できるがんの化学療法として、最近注目されている研究課題である。

医薬の徐放化には3つの方法があり、その一つは、(a) 医薬とポリアミノ酸の混合溶液から溶媒キャスト法により調製した複合体であり、生体内でポリアミノ酸の酵素分解が進行するに伴い医薬が放出される機構をもつ徐放剤である。また、(b) 医薬固定型徐放剤があり、これは医薬をポリアミノ酸の側鎖に共有結合したものであり、生体内でポリアミノ酸が酵素分解されるとともに医薬が遊離する機構をもつ徐放剤である。さらに、(c) カプセル型徐放剤があり、これは医薬透過性ポリアミノ酸膜で医薬を包接したものであり、外層膜の医薬透過速度が医薬の放出速度を制御する徐放剤である。そこで第1のテーマとして、医薬固定型徐放剤およびカプセル型徐放剤におけるポリアミノ酸の応用について述べる。

最近、生化学分野の目覚ましい研究において多くの生理活性物質の構造と機能が解明され、そこで得られた情報をいかに工学的アプローチに組み入れていくかという手法が重要視されている。生体に対し非刺激性であることを特徴とした医用材料とは異なって、生体に積極的に作用を及ぼし組織再建を促進する医用材料の研究が急速に進められている。すなわち、生理活性物質を合成高分子あるいは天然高分子に複合化させたハイブリッド型医用材料の研究である。そこで、第2のテーマとしてわれわれが開発したポリアミノ酸と血液成分からなるハイブリッド型マトリックスの人工皮膚を中心に述べる。

ポリアミノ酸は生体内分解性を特徴として、以上のような医用材料として応用されるほかに、細胞培養および細胞分離用基材としての応用も考えられ、側鎖を化学修飾したポリアミノ酸膜上での細胞の粘着挙動について基礎研究が進められている。<sup>8,9)</sup>

\* 東京大学生産技術研究所 第4部

\*\* 北里大学医学部

## 2. ポリアミノ酸を用いた医薬徐放剤

医薬徐放剤に用いる高分子材料は、生体内で分解吸収されることが重要であり、合成材料の中ではポリアミノ酸は有望な材料と考えられる。疎水性残基と親水性残基の化学組成比を適切に設計したポリアミノ酸からは医薬透過性膜を調製でき、カプセル型医薬徐放剤の包接膜として利用できる。一方、ポリアミノ酸に医薬を共有結合したものは、生体内でポリアミノ酸分子鎖の分解吸収が進むにつれて医薬が遊離するため、医薬固定型徐放剤の素材としてポリアミノ酸を応用することもできる。

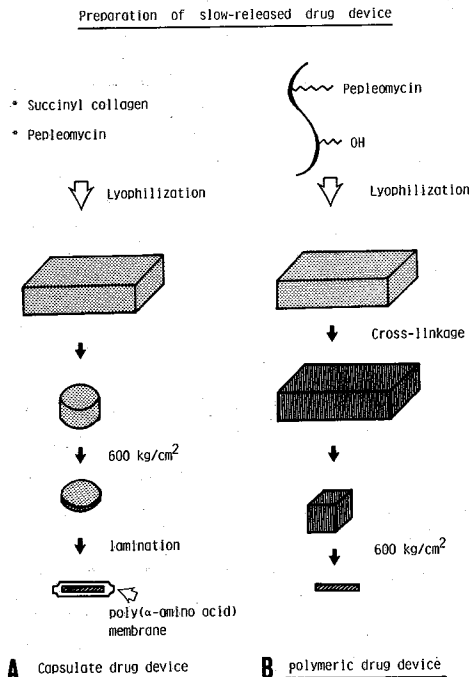
Scheme 1 にポリアミノ酸を利用した徐放性制がん剤の作成方法を示した。カプセル型徐放剤は、中間層に混在させた医薬に対し最適な透過速度をもつポリアミノ酸膜を使用することにより、ほとんどの医薬に適用できる。一方、医薬固定型徐放剤の場合には、ポリペプチド鎖と共有結合できる官能基をもつ医薬に限定される。しかし医薬固定型徐放剤は粉末にし生理食塩水に懸濁させ、この懸濁液を悪性腫瘍部位に注入したり、患部へ通じる血管へ注入し血栓を形成させ、同時に医薬の遊離を生じさせることが可能となるため、カプセル型徐放剤とは異なった使用上の利点をもつ。

医薬固定型徐放剤について、我々が開発した調製方法について述べておこう。<sup>9)</sup> ポリペプチド鎖と共有結合可能な制がん剤の 1 つとして、ペブレオマイシンがあり、

その化学構造は図 1 に示される。ペブレオマイシンには 3ヶ所の反応点があるが、末端の  $\alpha$ -アミノ基がポリアミノ酸との共有結合に関与すると考えられる。ペブレオマイシンを結合したポリアミノ酸の合成経路を Scheme 2 に示した。ポリ(L-グルタミン酸)のカルボキシル基を、反応性の高いサクシニミドエステルに変換し、一定量のペブレオマイシンとカップリング反応させ、残存する活性エステルはモノエタノールアミンと反応させ、水酸基を導入した。得られた医薬固定化ポリアミノ酸は水溶性のため、凍結真空乾燥法によりスポンジ状とし、ヘキサメチレンジイソシアネートにより分子間架橋を導入して、非水溶性の徐放剤とした。このようなタイプの医薬徐放剤は、分子間架橋の導入割合を任意に設定することにより、ポリアミノ酸の生体内分解速度を制御でき、長期間にわたる医薬の放出が可能である。

## 3. ポリアミノ酸を用いた人工皮膚

広範囲皮膚欠損傷、特に熱傷は感染、体液の漏出、不感蒸泄によるエネルギーの消耗、循環血液量の減少に起因する障害がおこり、全身状態は著しく悪化する。全身的障害または二次的な痙攣拘縮を予防するには、創傷を自家植皮によって修復するのが最善であるが、熱傷直後のショック期に自家植皮が適用可能とは限らず、このような場合自家植皮の一次的代用として、biological dressing (生体包帯) が臨床で使用されている。生体材料を利用した biological dressing としては、羊膜、凍結乾燥豚皮、フィブリン膜、コラーゲン膜などがあるが、不感蒸泄の抑制、体液漏出の防止効果は認められるが、積極的に創傷治癒を促進し、自家植皮のための良質な母床の形成は期待できない。創傷治癒過程においてはフィブリンクロットが形成され、血漿性フィブロンectinがフ



Scheme 1

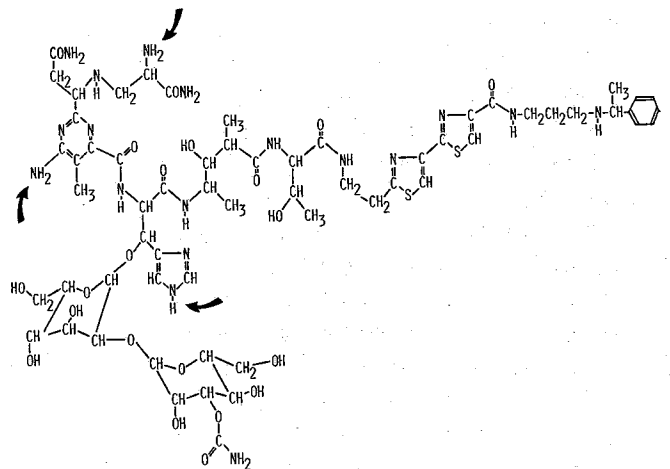
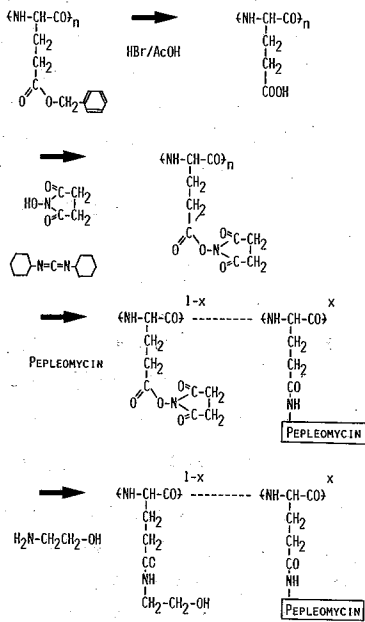
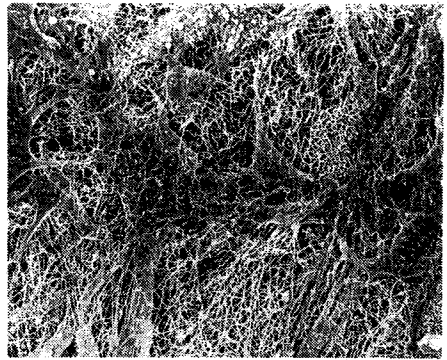


図 1 ペブレオマイシン

PREPARATION OF POLY(N<sup>5</sup>-HYDROXYETHYL-L-GLUTAMINE) BINDING  
PEPLEOMYCIN

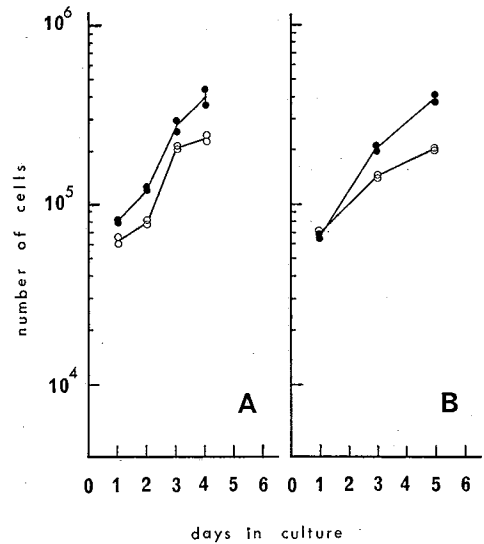


Scheme 2



Scanning electron micrograph of fibroblasts adhered to the surface of fibrin clot prepared from platelet rich plasma

図 2



Proliferation of fibroblasts on the fibrin clot prepared from platelet rich plasma  
A: rat fibroblasts B: human fibroblasts  
(●) fibrin clot (○) culture dish

図 3

イブリンに共有結合され、細胞増殖が促進される。また、血小板から放出された細胞成長因子も細胞増殖を促進し、組織が再建される。このように各種血液成分は創傷治療に極めて重要な役割を果たしている。そこで本研究では、生体からの異物認識反応を低く抑えるため、ポリアミノ酸のシート状スポンジを骨格とし、これに血小板含有血漿を含浸させフィブリンクロットを形成させたハイブリッド型人工皮膚を作成した。

3-1 血液成分の細胞増殖促進効果

全血から遠心分離により血球成分のみ沈殿させて得た血小板含有血漿からフィブリンクロットをシャーレ上に形成させ、フィブリン上でのラット皮膚由来の線維芽細胞の粘着形態を示した走査型顕微鏡写真を図2に示した。

10%牛胎児血清含有培地を使用し、1日間培養した場合の粘着形態であり、細胞は伸長、扁平化し、フィブリンの網目構造が内部へも進入しているようすがうかがえる。

フィブリンクロット上での細胞増殖挙動を図3に示した。Aはラットの血小板含有血漿から調製したフィブリン上でのラット皮膚由来の線維芽細胞の増殖挙動を示した。Bはヒトの血小板含有血漿から調製したフィブリン上でのヒト皮膚由来の線維芽細胞の増殖挙動を示した。フィブリンコート用のプラスチックシャーレはプラズマ処理していないもので細胞接着はほとんどみられないが、フィブリンをコートすることにより培養プラスチックシャーレと同等の細胞増殖挙動を示した。フィブリン上で

増殖したヒト皮膚由来の線維芽細胞の位相差顕微鏡写真を図4に示した。フィブリノーゲンにスロニンゲンを添加して調製したフィブリン上では、初期に粘着した細胞は培養3日目頃から培地中に浮遊し始め、増殖は観察されなかった。一方、血小板含有血漿から調製したフィブリン上では顕著な細胞増殖が観察された。最近、血漿フィブロンectin存在下でのフィブリン形成についての興味深い報告がある。スロニンゲンによって活性化された血液凝固因子のXIII因子の作用で、フィブリノーゲンのγ鎖がダイマーに変換され、続いてα鎖が重合して不溶性フ

フィブリンが形成され、この  $\alpha$  鎖に血漿フィブロンectin が共有結合されることにより、安定なフィブリン線織が形成される。<sup>10)</sup> 実際には、フィブリノーゲンからスロンピ

ン添加により形成させたフィブリン上での線維芽細胞の離脱は、フィブリン線織の部分的溶解のためと考えられる。このような現象より、血漿からフィブリンクロットを形成させることが細胞増殖のための基質として重要と考えられる。

3-2 ハイブリッド型マトリックスの作成

ポリアミノ酸の水溶液から真空凍結乾燥法によりシー

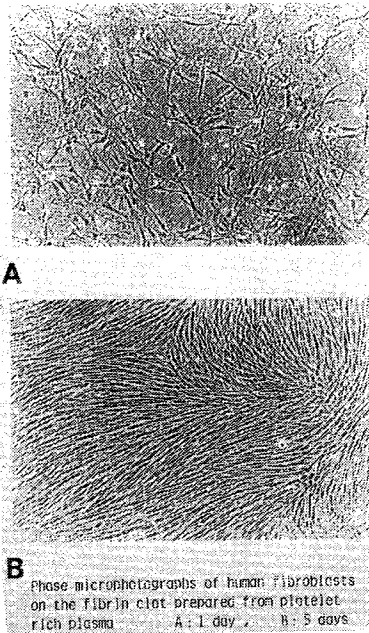
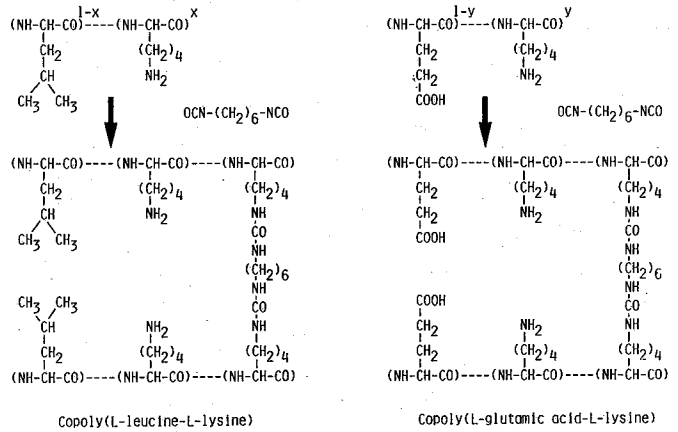


図 4

Preparation of cross-linked copoly( $\alpha$ -amino acid)s



Scheme 4

表 1

Chemical composition of copoly(L-glutamic acid-L-lysine) and copoly(L-leucine-L-lysine)

Type	Sample code	Amino acid content		Amino acid content	
		Glu(%)	Lys(%)	Lue(%)	Lys(%)
A	Copoly-Glu-Lys-34	66	34	—	—
	Copoly-Glu-Lys-49	51	49	—	—
	Copoly-Glu-Lys-68	32	68	—	—
B	Copoly-Leu-Lys-37	—	—	63	37
	Copoly-Leu-Lys-42	—	—	58	42
	Copoly-Leu-Lys-52	—	—	48	52
	Copoly-Leu-Lys-61	—	—	39	61

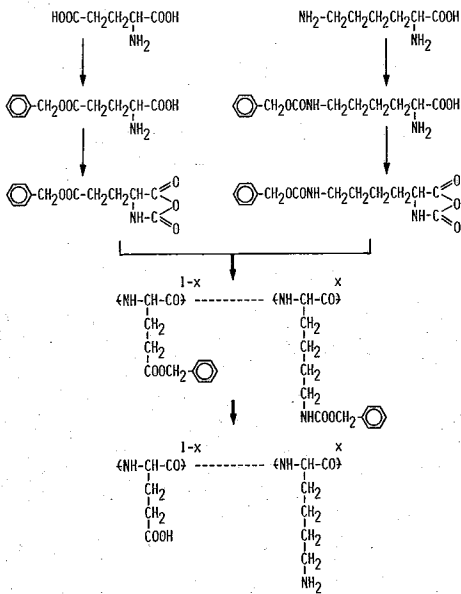
表 2

Biocompatibility of copoly(L-glutamic acid-L-lysine) and copoly(L-leucine-L-lysine)

Type	Sample code	Implantation time (week)	Exudate	Cells Infiltration	Giant-cell	Fibroblast	Bio-degradation
A	Copoly-Glu-Lys-34	2	±	+	++	+	++
		4	±	+	++	++	+++
	Copoly-Glu-Lys-49	2	±	+	+++	++	+++
		4	±	+	+++	++	++++
	Copoly-Glu-Lys-68	2	+	++	+	+	++
		4	±	+	++	++	+++
B	Copoly-Leu-Lys-37	2	+++	++	++	++	+
		4	+++	++	++	++	+
	Copoly-Leu-Lys-52	2	+++	+++	+++	+++	+
		4	+++	++	+++	+++	++

Evaluation: ± very weak, + weak, ++ middle, +++ strong, ++++ very strong  
Cells Infiltration: neutrophil leukocytes, lymphocytes, and plasma cells

Preparation of copoly(L-glutamic acid-L-lysine)



x: molar ratio of amino acid residues

Scheme 3

ト状スポンジを作成し、EGTAを含む全血を遠心分離(2600 rpm, 10分, 4°C)して得た血小板含有血漿を含浸させ、塩化カルシウム水溶液の添加によりフィブリンクロットを形成させて、ハイブリッド型マトリックスを作成した。ハイブリッド型マトリックスの骨格となるポリアミノ酸の合成をScheme 3に示した。 $\gamma$ -ベンジル-L-グルタメートのNCAとN<sup>ε</sup>-カルボベンゾキシ-L-リジンのNCAからトリエチルアミンを開始剤としたNCA重合によりコポリ( $\gamma$ -ベンジル-L-グルタミル-N<sup>ε</sup>-カルボベンゾキシ-L-リジン)を合成し、HBr含有酢酸により保護基を脱離し、透析後、凍結真空乾燥によりコポリ(L-グルタミン酸-L-リジン)を合成した。一方、コポリ(L-ロイシン-L-リジン)も同様な方法により合成した。

コポリアミノ酸のアミノ酸分析結果を表1に示した。たとえばCopoly-Glu-Lys-49はコポリ(L-グルタミン酸-L-リジン)で、リジン含量49%のものを示す。またCopoly-Leu-Lys-52はコポリ(L-ロイシン-L-リジン)で、リジン含量52%のものを示す。円偏光二色性(CD)測定の結果から、ロイシン含量の高いCopoly-Leu-Lys-37は中性水溶液中で $\alpha$ -ヘリックス構造をとるが、それ以外のコポリマーはすべて中性領域でランダムコイル構造をとる。ポリアミノ酸の2g/dl濃度の水溶液から凍結真空乾燥によりシート状スポンジを作成し、これを10%ヘキサメチレンジイソシアネート含有アセトン中で25°C, 24時間処理し、分子間架橋反応後、アセトンで十分洗浄して水に不溶性のスポンジを得た。分子間架橋反応はScheme 4に示すように進む。不均一系反応のため、リジンの $\epsilon$ -アミノ基の一部が架橋剤と反応するものと考えられる。

### 3-3 ポリアミノ酸スポンジの組織適合性

ハイブリッド型マトリックスの骨格となるポリアミノ酸スポンジ(面積: 1cm<sup>2</sup>, 厚さ: 3mm)を5週齢のラット背部皮下に移植し、1~4週間後の生体反応を組織学的に検討した。図5はコポリ(L-ロイシン-L-リジン)のスポン

ジの4週後の様子を示した写真である。スポンジ辺縁は結合組織によるカプセル化は観察されず、スポンジはかなり残存していた。次に、移植4週後のスポンジおよび辺縁組織から組織標本を作成し、染色後の断面写真を図6に示した。スポンジの分解吸収が進行するが、4週後もフレームはかなり残存し、異物巨細胞、線維芽細胞および毛細血管がスポンジ内に出現している。一方コポリ(L-グルタミン酸-L-リジン)のスポンジをラット背部皮下に4週間移植した場合には、肉眼的にもスポンジはほぼ分解吸収されていることがわかる。先と同様にして移植4週後の断面組織写真を図7に示した。スポンジの分解吸収は、ほぼ完全に進み異物巨細胞領域もかなり退縮し分画化され、線維芽細胞層に置換されている。コポリアミノ酸のスポンジを生体内に移植した場合の組織学的評価を表2にまとめた。化学組成比の変化により組織反応に若干の差異がみられるが、A群とB群のコポリアミノ酸の間には顕著な差異が観察された。A群で示したコポリ(L-グルタミン酸-L-リジン)の場合は、浸出液反応はほとんどみられない。また、好中球、リンパ球、形質細胞の出現を総合的に評価した浸潤細胞反応は弱い。異物巨細胞反応は強く、線維芽細胞の出現は中程度で、スポンジフレームの分解吸収は極めて強い。一般に分解吸収されやすい素材は貪食細胞反応が強いため、異物巨細胞反応は強くあらわれる。これに対しB群のコポリ(L-ロイシン-L-リジン)の場合は、浸出反応およびそれに誘発される浸潤細胞反応が強く現れた。A群のコポリマーに比べると、異物巨細胞反応および線維芽細胞の出現は強い。スポンジフレームの分解吸収は遅く、4週間移植後もかなり残存する。

### 3-4 ハイブリッド型マトリックスのbiological dressingとしての評価

エチレンオキシドガス滅菌(EOG)処理したコポリ(L-ロイシン-L-リジン)のスポンジに無菌下で血小板含有血漿を含浸させ、フィブリンクロットを形成させて調製

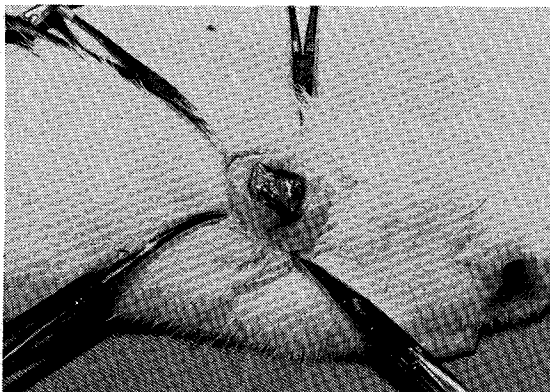


図5

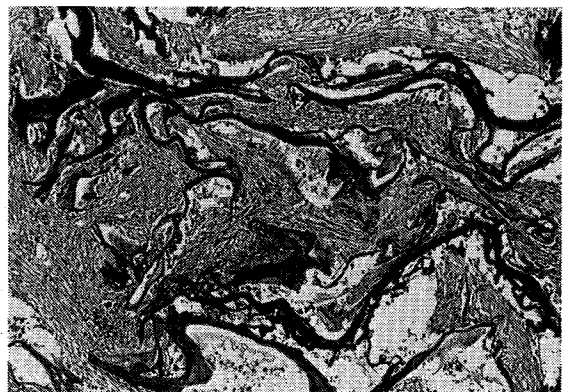


図6

したハイブリッド型マトリックスを図 8 に示した。Copoly-Leu-Lys-52 を骨格としたハイブリッド型マトリックスを 5 週齢のラット背部皮膚全層欠損部位に付着し、生理食塩水を含浸させたガーゼおよびエラスチックバンドを当て、辺縁に抗生物質含有ワセリンを塗布して、biological dressing としての性能を調べた。図 9 に 1 週間後の様子を示した。

現在臨床応用されている材料と比較検討するため、他の材料についても同様な動物実験を試みた。外科的処置 1 週間後、ハイブリッドマトリックスとその周辺部から組織標本を作成し、染色後の組織断面写真を図 10 に示した。ハイブリッドマトリックス中の血漿成分、すなわち、細胞生長因子を取り込んだフィブリンロットに誘導されて細胞増殖が促進され、毛細血管を伴う良性の肉芽層の形成が観察された。biological dressing としては、材料面と組織との密着性が極めて重要であり、ハイブリッド型マトリックスの場合、スポンジ内部への肉芽の浸入がみられ良好な密着性が確保されている。ハイブリッド型マトリックスと現在臨床応用されている材料の組織学的評価を表 3 に示した。

凍結乾燥豚皮 (アロアスク) を使用した場合、浸出液反応は弱く、浸潤細胞反応は中程度であったが、極めて強い異物巨細胞反応がみられ、肉芽形成は少ない。また、牛皮由来のコラーゲンを酵素処理して得たアテロコラーゲンから調製したコラーゲン不織布 (メイパック) を使用した場合、浸出液反応は弱く、浸潤細胞反応は中程度であったが、異物巨細胞反応は強く、肉芽形成は少ない。コラーゲン線維の分解吸収が進行しているようすが観察される。これら生体材料は、組織からの異種タンパク認識反応がかなり強いと考えられる。一方、ガーゼに抗生物質含有ワセリンを塗布したソフラチュールを使用した場合、浸出液反応、浸潤細胞反応は中程度であるが、繊維周辺に異物巨細胞反応が引き起こされ、また肉芽反応が強過ぎる。ポリビニルアルコールのスポンジをホルマル化した合成被覆材を使用した場合、浸出液反応は強く、浸潤細胞反応と異物巨細胞反応は弱く、肉芽形成も少ない。現在臨床応用されている生体材料ならびに合成材料に比べ、ハイブリッド型マトリックスは適度に組織反応を抑制し、良好な肉芽層の形成を可能にする。

人工皮膚の開発においては熱傷の程度に応じた使用目

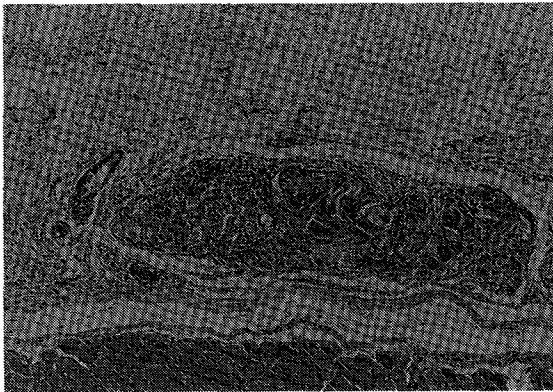


図 7

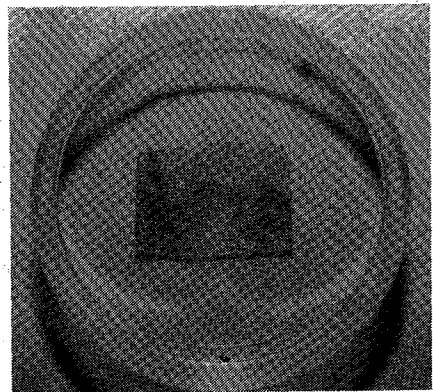


図 8

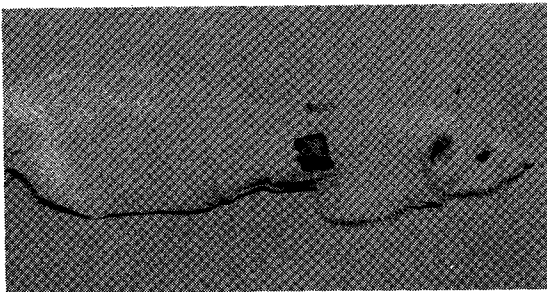


図 9



図 10

的を設定し、材料設計することが必要である。深在性II度熱傷およびIII度熱傷に対しては自家植皮が必要となり、この場合良性的肉芽層の再建が要求される。また自家植皮のための一時代用としての期間に応じて、ハイブリッド型マトリックス骨格の分解吸収速度も考慮する必要がある。コラーゲンを素材とした biological dressing に比べ、ポリアミノ酸の場合は、分子設計することによりこれらの要求に応じることが可能である。

4. ポリアミノ酸の細胞培養基材、細胞分離基材としての応用

細胞を生体外で培養する場合、細胞の粘着、伸長、扁平化を促進する基質材料が必要となる。それゆえ、細胞応答を支配する因子の中で、細胞と基質材料間の相互作用は最も重要な研究課題である。基質材料に正荷電ポリアミノ酸であるポリリジンやポリオルニチンを用いた場合あるいは正荷電タンパクであるヒストンやプロタミンを用いた場合には、細胞増殖が促進されることが報告されている。<sup>11)</sup>しかし、細胞接着に及ぼす基質効果ならびに細胞増殖と細胞接着の関係については未解決な問題が多く、細胞培養基材および細胞分離基材の開発には、さらに基礎的研究の積み重ねが重要である。基材への細胞の粘着に際しては基材表面と細胞膜表面タンパクとの相互作用が重要であり、血清含有培地を用いた細胞培養の際には、明らかに基材表面と血清中のタンパクとの相互作用が重要となる。したがって、タンパクと類似化学構造をもつポリアミノ酸を基材に用いた場合、細胞応答を有効に制御できる可能性が考えられる。われわれは、基材表面とタンパクとの相互作用において、タンパクの分子鎖周辺の結合水の状態を著しく変化させないことが重要と考え、基材表面に水和層を形成させるため、ポリアミノ酸側鎖に水酸基を導入することを試み、細胞との相互作用を検討した。

4-1 側鎖に水酸基を導入したコポリアミノ酸の合成

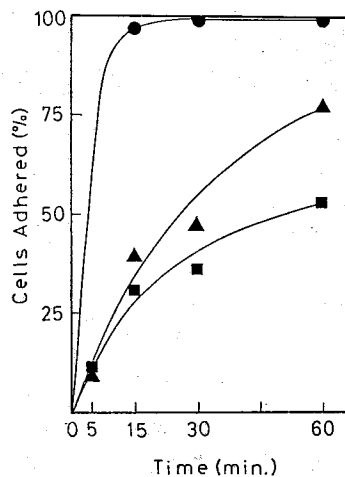
ヒドロキシアルキル基およびグルコピラノシル基を側

鎖に導入したグルタミン誘導体と、 $\gamma$ -ベンジルグルタメートからなるコポリアミノ酸を合成した。<sup>8,12-14)</sup>細胞粘着を促進する官能基の一つとしてジエチルアミノ基があり、ジエチルアミノセルロースはカラムクロマト用基材として利用されている。本研究では細胞の粘着に際して著しい損傷を与えないために、水和殻を形成できるジヒドロキシエチルアミノ基を導入したコポリ( $\gamma$ -ベンジル-L-グルタミル-N<sup>5</sup>-ジヒドロキシエチルアミノプロピル-L-グルタミン), Copoly-Hyd を合成した。また細胞分離用基材の場合は細胞とのマイルドな相互作用が分離機構に重要と考えられるため、荷電をもたないコポリ( $\gamma$ -ベンジル-L-グルタミル-N<sup>5</sup>-ヒドロキシプロピル-L-グルタミン), Copoly-AP, および側鎖に糖を導入したコポリ( $\gamma$ -ベンジル-L-グルタミル-N<sup>5</sup>- $\beta$ -D-グルコピラノシル-L-グルタミン), Copoly-Gluco を合成した。

4-2 コポリアミノ酸膜上での細胞粘着挙動

マウスL細胞を10%牛胎児血清含有Eagle-MEMに懸濁し、この懸濁液を各種コポリマーでコーティングしたシャーレに一定量注入し、一定時間後、非粘着細胞を血球計算板によりカウントし、接着率を算出した。接着細胞の形態はグルタルアルデヒドおよびオスミウム酸で固定した後、走査型電子顕微鏡で観察した。

ジヒドロキシエチルアミノ基を側鎖にもつCopoly-Hydの膜表面への細胞接着は非常に速く、15分後には約100%の細胞が接着した。細胞表面は負に帯電しているため、弱カチオン性のジヒドロキシエチルアミノ基による細胞接着促進効果と考えられる。一方、カチオン性側鎖をもたないCopoly-APおよびCopoly-Glucoの膜表面への細胞接着はかなり抑制された。図11にCopoly-



Attachment of L-cells to the surfaces of poly( $\alpha$ -amino acids) in Eagle's MEM without serum (●): PBLG (▲):Copoly-Gluco-28 (■):Copoly-Gluco-65

図 11

表 3

Tissue response of biological dressing

No.	Sample code	Exudate	Cells infiltration	Giant-cell	Granulation tissue
1	Hybrid-matrix	++	+	+	++
2	Alloask D	+	++	+++	+
3	Meipac	+	++	+++	+
4	Sofratulle	++	++	+	+++
5	P V F-sponge	+++	+	+	+

Evaluation: + weak, ++ middle, +++ strong

- 1: Copoly(L-leucine-L-lysine) with blood components
- 2: Lyophilized porcine skin
- 3: Atelo-collagen from calf skin
- 4: Sterile bactericidal dressing
- 5: Cross-linked polyvinylalcohol

Gluco 膜表面への細胞接着挙動を示した。グルコピラノシル基が側鎖に存在することにより細胞接着は抑制された。この現象は、材料膜表面に水和層が形成されるため、細胞との相互作用が非常にマイルドになるためと考えられる。Copoly-Hyd、Copoly-AP、Copoly-Glucoの各コポリマーをコートしたシャーレ中へ細胞懸濁液を注入し、37°C、1時間後の接着細胞の形態を図12に示した。弱カチオン性の側鎖をもつCopoly-Hydの場合は、細胞の扁平化が観察された。しかし、Copoly-APとCopoly-Glucoの場合には、接着細胞は球状であった。

細胞接着を抑制するCopoly-APとCopoly-Gluco膜表面上では細胞は増殖しないが、細胞接着を促進するCopoly-Hyd膜表面上では細胞増殖が促進された。このような特性を活かして、細胞分離用基材としては、水酸基をもつ中性のCopoly-APやCopoly-Glucoが応用できると考えられる。一方、水酸基をもつ弱カチオン性のCopoly-Hydは、細胞培養基材として、たとえばマイクロキャリア細胞培養基材として応用できると考えられる。

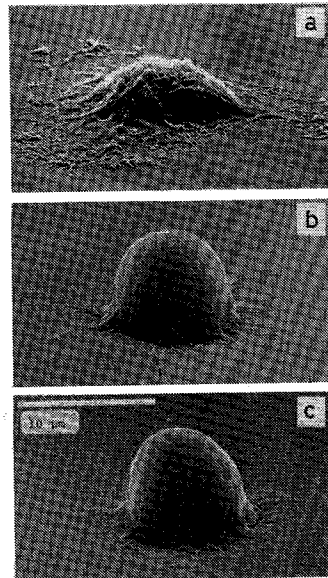
## 5. お わ り に

ポリアミノ酸は、生体内分解吸収性という特徴を活かして、他の合成高分子材料では適応できない特殊な目的に応えられる素材として、きわめて有望である。医薬徐放剤用基材としての応用は、付加価値の高い用途であるため、今後さらに開発研究が進むと考えられる。また人工皮膚用基材としての応用は、創傷治癒過程に重要な役割を果たす血液成分とのハイブリッド化という新しい考え方にたち、きわめて実用性が高いと考えられる。一方、細胞と材料との相互作用に関する基礎研究がさらに進められ、細胞応答を制御する要因を一つ一つ解明することにより、細胞培養基材および細胞分離基材としての応用が可能となる。今後、工学的手法に基づく有効な医用材料の開発が積極的に進められるであろう。

(1985年5月20日受理)

## 参 考 文 献

- 1) Manabu Senō and Yoshimitsu Kuroyanagi, Europe-Japan Congress on Membranes and Membrane Processes, Italy (1984), *J. Membrane Sci.*, in press.
- 2) 黒柳能光, 日野義博, 妹尾学, *Polymer Preprints, Japan*, 33, 2075 (1984).
- 3) Manabu Senō, Yoshimitsu Kuroyanagi, and Teruo Miyata, *Int. Chem. Congress of Pacific Basin Soc., Honolulu* (1984); *Int. J. Biological Macromol.*, to be submitted.
- 4) 黒柳能光, 窪田哲昭, 妹尾学, 宮田暉夫, 第14回医用高分子シンポジウム, 東京 (1985).
- 5) 富士原行彦, 相羽誠一, 箕浦憲彦, 尾郷賢, 土田幸英, 第14回医用高分子シンポジウム, 東京 (1985).



Scanning electron micrographs of L-cell adhered on the surfaces of poly(α-amino acid)s containing 28% glutamine derivative

- a: Copoly(γ-benzyl-L-glutamyl-N<sup>5</sup>-dihydroxyethylamino-propyl-L-glutamine)
- b: Copoly(γ-benzyl-L-glutamyl-N<sup>5</sup>-hydroxypropyl-L-glutamine)
- c: Copoly(γ-benzyl-L-glutamyl-N<sup>5</sup>-ε-D-glucopyranosyl-L-glutamine)

図 12

- 6) 黒柳能光, 黄金井康巳, 吉里勝利, 塩谷信幸, 第28回日本形成外科学会, 東京 (1985).
- 7) 黒柳能光, 黄金井康巳, 吉里勝利, 塩谷信幸, 妹尾学, 第2回生体繊維と生医学材料に関するシンポジウム, 東京 (1985).
- 8) Yoshimitsu Kuroyanagi, Manabu Senō, Toshihiro Akaike, et al., *Int. J. Biological Macromol.*, 6, 266 (1984).
- 9) 石田正夫, 赤池敏宏, 黒柳能光, 妹尾学, 高分子論文集, 投稿中.
- 10) Masahisa Okada, Birger Blomback, Ming-Der Chang, and Bernard Horowitz, *J. Biological Chemistry*, 260, 1811 (1985).
- 11) W. L. Mckeehan and R. G. Ham, *J. Cell Biol.*, 71, 727 (1976).
- 12) Yoshimitsu Kuroyanagi, K. Y. Kim, Manabu Senō, and Tohru Kawai, *J. Polymer Sci., Polymer Chem. Ed.*, 21, 1289 (1983).
- 13) Yoshimitsu Kuroyanagi, K. Y. Kim, Manabu Senō, and Tohru Kawai, *Colloid & Polymer Sci.*, 261, 591 (1983).
- 14) Yoshimitsu Kuroyanagi, Manabu Senō, and Tohru Kawai, *J. Membrane Sci.*, 17, 309 (1984).