



|              |                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Studies on Poly( $\gamma$ -glutamic acid)-based Hydrogels for Potential Biomedical Applications |
| Author(s)    | Wei, Meng                                                                                       |
| Citation     | 大阪大学, 2022, 博士論文                                                                                |
| Version Type | VoR                                                                                             |
| URL          | <a href="https://doi.org/10.18910/89597">https://doi.org/10.18910/89597</a>                     |
| rights       |                                                                                                 |
| Note         |                                                                                                 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## Abstract of Thesis

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Name ( WEI MENG )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                     |
| Title                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Studies on Poly( $\gamma$ -glutamic acid)-based Hydrogels for Potential Biomedical Applications<br>(生物医学応用を指向したポリ ( $\gamma$ -グルタミン酸) ハイドロゲルに関する研究) |
| <p><b>Abstract of Thesis</b></p> <p>In this doctoral dissertation, biocompatible hydrogels using PGA provided by Kookmin University (Seoul, Korea) were prepared to meet the various requirements in biomedical fields especially in drug delivery and tissue engineering scaffold. The design and fabrication strategies of PGA-based hydrogel established in this thesis could provide a guidance for the future fabricate polypeptide-based hydrogels.</p> <p>In chapter 1, inspired by the natural nontoxic feature of PGA, a new type of pH-responsive hydrogel comprised of PGA modified with tyramine (PGA-Tyr) was developed through enzymatic cross-linking in the presence of horseradish peroxidase (HRP) and hydrogen peroxide (<math>H_2O_2</math>). The hydrogels possessed good reversibility of pH responsiveness. Indomethacin (IM), a hydrophobic drug model, was encapsulated in the hydrogels by rapid in situ gelation. The IM-micelle-loaded hydrogels with a high degree of substitution of PGA-Tyr showed a suppressed burst release behavior in SGF, and sustained drug release in SIF, indicating PGA-based hydrogels have tremendous promise for oral drug delivery.</p> <p>In chapter 2, in order to develop the injectable hydrogels with adjustable stiffness and biodegradation for the application of tissue scaffolds. A class of injectable hydrogels were designed using furfurylamine and tyramine-modified PGA (PGA-Fa-Tyr) and the crosslinker dimaleimide poly(ethylene glycol). The hydrogel could be formed under HRP/<math>H_2O_2</math> and body temperature stimuli owing to the presence of enzymatic crosslinking and Diels-Alder reaction. The injectable hydrogels displayed controllable mechanical strength, which could be matched with the stiffness of matrix of human tissues. Furthermore, the hydrogel was degraded with proteinase K. These results indicated the hydrogels hold great potential as tissue engineering scaffolds for encapsulating different cell types.</p> <p>In Chapter 3, inspired by the inducing apatite-forming ability of PGA, injectable hydrogels were fabricated using hydrazide-modified PGA and oxidized chondroitin sulfate <i>via</i> combining acylhydrazone bonds and ionic bonding of carboxylic acid groups or sulfate groups with calcium ions (<math>Ca^{2+}</math>). The resulting hydrogels displayed a fast gelation rate and good self-healing ability owing to the acylhydrazone bonds. The rate of apatite-forming in the hydrogels was greatly promoted in the stimulation of <math>Ca^{2+}</math> ions after immersion in SBF. The hydrogels containing the aldehyde groups possessed good bio-adhesion to the bone tissues. Thus, the hydrogels can serve as a robust template for biomineralization, indicating the potential applicability in bone tissue engineering.</p> |                                                                                                                                                     |

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

| 氏 名 ( WEI MENG ) |     |     |       |
|------------------|-----|-----|-------|
|                  | (職) | 氏   | 名     |
| 論文審査担当者          | 主 査 | 教 授 | 宇山 浩  |
|                  | 副 査 | 教 授 | 桑畑 進  |
|                  | 副 査 | 教 授 | 佐伯 昭紀 |
|                  | 副 査 | 教 授 | 林 高史  |
|                  | 副 査 | 教 授 | 中山 健一 |
|                  | 副 査 | 教 授 | 南方 聖司 |
|                  | 副 査 | 教 授 | 櫻井 英博 |
|                  | 副 査 | 教 授 | 今中 信人 |
|                  | 副 査 | 教 授 | 藤内 謙光 |
|                  | 副 査 | 教 授 | 能木 雅也 |
|                  | 副 査 | 教 授 | 古澤 孝弘 |

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、生物医学応用を指向したポリ( $\gamma$ -グルタミン酸) (PGA) ハイドロゲルに関する研究をまとめたものであり、序論と本論三章、総括からなる。その内容を要約すると以下のとおりである。

第一章では、天然由来で生体適合性の高いPGAによる新規pH応答性ハイドロゲルを開発している。チラミンを用い側鎖にフェノールを導入したPGA (PGA-Tyr) を合成しており、PGA-Tyrは $H_2O_2$ および西洋ワサビ由来ペルオキシダーゼ (HRP) を用いた酵素触媒反応によりフェノール間が架橋することでハイドロゲルが生成することを明らかにしている。ハイドロゲルはPGA-Tyr側鎖のカルボキシル基に由来したpHに応答した可逆的な体積変化を示している。さらに、インドメタシン (IM) をモデル薬剤として薬剤の存在下でゲル化反応することでハイドロゲル中に薬剤を内包している。IMを含有したミセルを架橋度の高いゲル中に内包したところ酸性の人工胃液 (SGF) 中ではバースト放出が抑制される一方で中性の人工腸液中では持続的に薬剤を放出することを明らかにしている。このように、PGAを基盤とした本ハイドロゲル材料は経口ドラッグデリバリーへの応用可能性が示されている。

第二章では、細胞足場材料を指向した生分解性インジェクタブルハイドロゲルを開発している。ハイドロゲルの主骨格としてフルフリルアミンとチラミンを修飾したPGA (PGA-Fa-Tyr) を設計、合成している。HRP/ $H_2O_2$ による酵素触媒架橋反応により体温付近でハイドロゲルを形成し、さらに、架橋剤としてジマレイミドを両末端に有するポリ(エチレングリコール)を利用することでフルフリル基とマレイミド基との間のDiels-Alder反応によっても架橋を形成している。HRP/ $H_2O_2$ および架橋剤の添加量を変化することでハイドロゲルの力学強度の制御を達成しており、ヒト組織マトリックスに類似した強度を実現している。さらに、ハイドロゲルはプロテイナーゼKによる酵素分解性を示している。これらの結果は組織工学において様々な種類の細胞に対して適用可能な足場材料としての応用への可能性を示している。

第三章では、PGAとコンドロイチン硫酸を基盤とし、アパタイト形成のテンプレートとして利用可能なインジェクタブルハイドロゲルを開発している。ヒドラジド修飾PGAおよび酸化反応によりアルデヒド基を導入したコンドロイチン硫酸を混合することでアシルヒドラゾン結合による架橋を形成するとともに、カルシウムイオン ( $Ca^{2+}$ ) の添加によりカルボキシル基や硫酸基との間で形成するイオン結合を利用して架橋することでハイドロゲルを作製している。ハイドロゲルはゲル化に要する時間が短く、アシルヒドラゾン結合の可逆性に由来した自己修復性を示している。ハイドロゲルの疑似体液 (SBF) 中におけるアパタイト形成速度は $Ca^{2+}$ 添加量を増大することで促進されることを明らかにしている。さらに、ハイドロゲルは骨組織に対する高い生体接着性を示している。このように、本ハイドロゲルは骨組織工学におけるバイオミネラルゼーションにおけるテンプレートとしての利用への可能性を有している。

以上のように、本論文は生物医学応用を指向したポリ( $\gamma$ -グルタミン酸) (PGA) ハイドロゲルの新規合成戦略が示されており、新たな機能材料の設計指針を与えるものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。