フッ素を用いた水和構造制御と生体親和性の発現

Control of hydration structure with fluorine and expression of biocompatibility

小口亮平* Ryohei Koguchi*

生体親和性を示す材料として、ポリ(2-メトキシエチルアクリレート)(PMEA)があり、タンパク 質が吸着せず細胞を活性化させない。含水状態のPMEAには、中程度にポリマーと相互作用する中間 水の存在が先行研究から明らかになっており、生体親和性と高い相関が認められている。本報告では、 新規な水和構造制御方法を提案し、優れた生体親和性材料を開発することを目的に、ポリ(2-ヒドロキ シエチルメタクリレート)(PHEMA)とPMEA共重合体を設計し、水和構造の考察および生体親和性 の評価を行った。

HEMAに親水性の2-(ジメチルアミノ) エチルメタクリレートを共重合すると、HEMA-水間の強固 な水素結合ネットワーク構造を緩ませ水和水全体の運動性も高まり、逆に疎水性の2,2,2-トリフルオロ エチルメタクリレート(TFEMA)を共重合すると水和水全体の運動性も低下した。これらの水和構造 の変化が選択的な中間水の増加ならびに生体親和性の向上に繋がったと考察される。

次に、TFEMAを低分子量で重合したマクロモノマーを開始剤としてMEAと重合しSolid F-PMEA を得た。Solid F-PMEA膜の界面では含水すると徐々に凹凸構造を形成した。弾性率測定結果から凹部 がPTFEMAに、凸部がPMEAにそれぞれ変化していると考えられる。Solid F-PMEAは十分に中間水 があるにも関わらず、血小板粘着を防ぐ効果は低かった。その理由としては疎水性を示すPTFEMAの 凹部が血小板の足場になったためと考察される。

これらの結果より、少量の異種モノマーにより水和構造制御が可能であることを見いだすとともに、 優れた生体親和性界面を構築するためには、十分な中間水を含む鎖が効率的に水界面に配向する必要が あると結論した。

As a biocompatible material, there is poly (2-methoxyethyl acrylate) (PMEA), which does not adsorb proteins and does not activate cells. Previous studies have revealed that PMEA in the hydration structure has intermediate water that interacts with the polymer to a moderately and a high correlation with biocompatibility has been observed. In this report, we designed a poly (2-hydroxyethyl methacrylate) (PHEMA) and PMEA copolymers for the purpose of proposing a novel hydration structure control method and developing excellent biocompatible materials.

Copolymerizing hydrophilic 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate with HEMA loosened the strong hydrogen bond network and enhanced the motility of the hydrated water, and copolymerizing hydrophobic 2,2,2-trifluoroethyl methacrylate (TFEMA) conversely reduced the motility of the hydrated water. It was interpreted that these changes in the hydration structure led to the selective increase in intermediate water and the improvement of biocompatibility.

Next, a macromonomer obtained by polymerizing TFEMA with a low molecular weight was polymerized with MEA as an initiator to obtain solid F-PMEA. The solid F-PMEA film gradually formed, an uneven structure, when its interface contained water. The elastic modulus measurement results indicated that the concave part has changed to PTFEMA and the convex part has changed to PMEA. It was considered that the reason why solid F-PMEA had a low effect on inhibiting platelet adhesion even though there was sufficient intermediate water was that the concave portion composed by hydrophobic PTFEMA became a scaffold for platelets.

From these results, it was found that the hydration structure can be controlled with a small amount of different monomers, and we concluded that the chains containing sufficient intermediate water were efficiently oriented at the water interface, in order to have an excellent biocompatibility interface.

^{*}AGC株式会社 材料融合研究所(ryohei.koguchi@agc.com)

1. 緒言

世界的に高齢化が進み、健康で生活するための技術 革新が重要な政策として挙げられており、医療が担う 役割は大きい。我が国の医療機器市場規模は2004年 以降増加に転じ、2兆円を超える規模で推移し、2017 年には3兆円を突破している⁽¹⁾。その中でもカテーテ ル、人工関節、心臓ペースメーカーに代表される治療 機器に関しては輸入品の占める割合が高い。2017年 時点で、医療機器全体としては約1兆円の貿易赤字に なっており、輸入超過の貿易不均衡が生じている。今 後も断続的な高齢化に伴う医療費の増加が予想されて いる。

こうした背景から病気の予防、診断、治療技術を支 える医療機器に求められる期待は大きくなっており、 医療現場では安価で安全性の高い医療用の材料開発が 強く求められている。また医療機器を構成する医療用 材料の材質としては、金属、セラミックス、ポリマー に大別される。この内、ポリマーは設計・加工の自由 度が高く、分子設計による特性の制御や機能の付加が 容易である。人工材料が生体内で使用される際、普遍 的に求められる特性の1つとして、異物として認識さ れない特性があげられる。この特性を本報告では、生 体親和性と定義し、特にポリマー材料に焦点を当てた。

2. 材料設計指針

2.1. 先行研究例

これまでに数多くの生体親和性ポリマーに関して研 究が行われてきた。代表的なポリマーを**Fig. 1**に記載 する。



Fig. 1 Typical biocompatible polymers.

Polyethylene glycol (PEG)は、生体の活動温度 域で水に可溶な水溶性ポリマーである。一般的に PEGのような非イオン性の水溶性ポリマーで基材表 面を修飾すると、表面の親水性は向上し表面電荷もゼ ロに近づくため、静電的相互作用に起因するタンパク 質分子の接近や吸着を防ぐ効果がある。PEGは単結 合による連結鎖のため回転運動が容易であり、水中で 柔軟な構造を有する。このことからPEG鎖の排除体 積効果がタンパク質吸着を防いでいると説明されてい る⁽²⁾。Poly(2-hydroxyethyl methacrylate)(PHEMA) は側鎖に水酸基を有するために、38 wt%~40 wt%と 高い含水量を示しソフトコンタクトレンズに応用され てきた。ソフトコンタクトレンズはゲル中の水を介し て角膜に酸素が供給される。Martinsらはポリウレタ ンフィルムにHEMAをグラフトさせることで、表面が 親水化されるとともに、ヒト血清アルブミンの吸着が 抑制されると報告している⁽³⁾。1978年にNakabayashi らによって、設計された2-Methacryloyloxyethyl phosphoryl choline (MPC) は側鎖に細胞膜同様のリ ン脂質極性基を有するメタクリル酸エステルである ⁽⁴⁾。1990年にIshiharaらによって大量合成方法が確立 され、医療分野で抗血栓性に代表される生体親和性を 有する材料として、広範囲な人工心臓(EVA-HEART)、人工関節(Aquala)、人工心肺(キャピオ ックスRX) などの医療デバイスに展開されている⁽⁵⁾。

Whitesidesらは生体親和性に必要な条件を系統的 に評価するために、疎水性ユニット、エチレングリコ ールユニット、アミン/アンモニウム塩、アミド、ア ミノ酸、クラウンエーテル、糖鎖などを導入した自己 組織化単分子膜(SAM) 膜を作製した^{(6),(7)}。各 SAM膜上へのタンパク質であるフィブリノーゲンお よびリゾチームの吸着量を表面プラズモン共鳴から定 量化し、タンパク質吸着を抑制する表面のメカニズム について報告している。各SAM膜上の前進接触角 (表面自由エネルギー)や、疎水性の指標となるオク タノール/水分配比率(ClogP)を測定し、タンパク 質吸着を抑制するために必要な構成要素として、(1) 親水性表面であること、(2) 水素結合供与体でないこ と、(3) 水素結合受容体であること、(4) 電気的に中 性であることの4点を提案している。

2.2. 水和構造と中間水

生体環境は含水状態であるため、乾燥状態でのパラ メーターだけではタンパク質や細胞と材料との相互作 用に関して十分な考察ができない。材料界面は多彩な 生体反応が進行する場であり、特に界面の水分子は重 要な構成要素の1つである。Tanakaらは生体分子に とって異物認識されにくい生体親和性を示す材料とし てFig. 2に示すPoly (2-methoxyethyl acrylate) (PMEA)を報告し、材料と相互作用する水に着目し た^{(8),(9)}。含水状態のPMEAの示差走査熱量測定 (DSC)と含水量測定を行い検出される水を以下の3 種類に分類した。-100℃でも凍らない水を不凍水 (NFW)、-40℃付近で低温結晶形成する水を中間水 (IW)、および0℃で凍結する水を自由水(FW)と定 義している。



Fig. 2 Heating curve of PMEA-water system.

先行研究より、水-PMEA界面には中程度にポリマ ーと相互作用する中間水の存在が明らかになってお り、生体親和性との高い相関が認められている。近年 様々にポリマーの化学構造を変えたPMEA誘導体を 合成することで、中間水量を制御する試みがなされて おり、中間水量が多い材料ほど生体親和性が高いと報 告されている。この現象は、材料表面に形成される中 間水がポリマーと強く相互作用している不凍水をシー ルドすることで、タンパク質吸着や細胞の活性化を抑 制していると考察されている。

3. 分子設計戦略

KikuchiらはHEMAとN-methyl-N- (4-vinylphenethyl)ethylenediamine (MVEDA) とのコポリ マーを用いて、血球細胞の接着挙動の検討を行った。 リンパ球の接着はMVEDAが2 mol%であるコポリマ ーで、極小化することを報告している(10)。この現象 は後にTsurutaによって少量のアミノ基が、強固な水 素結合ネットワークを緩和させた効果であると考察さ れている⁽¹¹⁾。ZhaoらはHEMAと 2-perfluorooctylethvl methacrylate (FMA) のコポリマーを用いて、 アルブミンとフィブリノーゲンの吸着量が、それぞれ FMAが7.56 mol%および2.45 mol%の際に極小化する ことをX線光電分光法(XPS)による表面元素分析結 果と共に報告をしている(12)。これらの結果は、少量 の異種モノマーを共重合することがマトリックス全体 の水和構造に影響を及ぼし、生体親和性を変化させて いると推察されるが、系統的には検討されていない。

そこで共重合モノマー構造および組成を変えること で水和構造を制御し、優れた生体親和性材料の開発を 目的に分子を設計した。共重合するモノマーとしては Whitesideらが生体親和性として示していない構成要 素を選択することで、化学構造ではなく水和構造と生 体親和性の関係性を調査した。具体的には親水性では あるが電気的に中性でない2-(dimethylamino)ethyl methacrylate (DMAEMA)と、電荷的に中性では あるが親水性でない2,2,2-trifluoroethyl methacrylate (TFEMA)を共重合モノマーとして選定した。なお マトリックスポリマーとしては含水量が多く水和構造 の変化が確認しやすいPHEMAを選択し分子設計指針 とした。

3.1. HEMA共重合体⁽¹³⁾

3.1.1. 合成

合成は一般的なラジカル重合で実施した。得られた コポリマーはNX、FYと表記しXおよびYは1H-NMR から算出したそれぞれコポリマー中DMAEMAおよ びTFEMAのmol%を意味する。Fig. 3にN-seriesおよ びF-seriesの化学構造を示した。



Fig. 3 Chemical structures of HEMA copolymers.

代表的な合成手法を記載する。圧力ガラス容器に 1.76 g (13.5 mmol)のHEMA、0.24 g (1.5 mmol) のDMAEMA、9.9 mLのN,N-dimethylformamideお よび20.0 mgの2.2' -azobis (isobutyronitrile)を仕込 み、蓋を閉めず窒素雰囲気のグローブボックスに10 分間静置することで圧力ガラス容器内の空気を窒素置 換した。窒素で置換した後蓋を閉め、80℃にて15時 間インキュベーター内で振盪させることで重合反応を 進行させた。得られた反応混合物をdiethyl ether 200 mLに加えて沈殿させた。デカンテーションにより上 層の溶液を除去した後、沈殿物を再度ethanol 20 mL に溶解した後hexane 200 mLに加えることで再沈殿 精製を行った。回収物を40℃で減圧乾燥し1.79 gの白 色固体(収率89.7%)を得た。

3.1.2. 生体親和性の評価

各ポリマーの生体親和性の評価としてタンパク質吸 着量をmicro-BCA法を用いて解析した⁽¹⁴⁾。

まずpolypropylene製の96 wellのマイクロプレート 上にethanolで0.2 wt / vol%に調製した各ポリマー溶 液を15 µLずつ滴下し、室温で3日間以上乾燥するこ とでポリマーコーティングプレートを作製した。作製 したプレート上に濃度 1.0 mg/ mLのフィブリノーゲ ン水溶液を50 µLずつ滴下し、37 ℃で10分間インキ ュベートした。10 分後PBS (リン酸緩衝食塩水) で 洗浄操作を行い、5% SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) と0.1 N NaOHを混合した溶液を30 µLずつ滴下し、 37 ℃で1時間インキュベートした。種々のタンパク質 濃度に調製したサンプルにより検量線を作成し、調製 したmicro-BCA溶液を150 µLずつ滴下した後、37 ℃で2時間インキュベートした。2時間後、発色したサ ンプルを562 nmの波長の吸光度をマイクロプレート で測定し、各基板上へ吸着したタンパク質の量を定量 化した。フィブリノーゲン溶液を加える前に、1日間 PBSでプライミング(水和)処理した結果と併せて Fig. 4に示す。

得られたHEMAコポリマーのフィブリノーゲンの 吸着量は、異種モノマーが少量(3~7 mol%)の特定 組成比において極小値を示した。DMAEMAは親水 性ではあるが電気的には中性ではなく、TFEMAは 電気的には中性ではあるが疎水性を示す。そのため得 られたHEMAコポリマーの生体親和性は化学構造か ら考えると、2.1に記載したWhitesideらの報告より悪 化することが予想される一方、Kikuchiら、Zhaoらの 先行研究とは同様の傾向を示した。そのため、本ポリ



Fig. 4 The amount of fibrinogen adsorption onto the surface of N-series (a) and F-series (b) using surfaces without (white bar) or with priming (red bar). The data represent the means \pm SD (n = 3) of fibrinogen adsorption. The significance of the differences between two samples was determined using an unpaired Student's t-test using Microsoft Excel. Differences with P values less than 0.05 were statistically significant. 1: P < 0.05, *: P < 0.01 vs. PHEMA with priming substrate.Reprinted with permission from [13], Copyright © 2020, American Chemical Society

マーの生体親和性は化学構造ではなく水和構造と相関 性が高いと推察される。

3.1.3. バルクの水和構造の評価

得られたポリマーについて、含水状態の水和構造を 解析するためDSC測定を行った。サンプルは3日以上 水和させた後、3 mgから8 mgを採取して分析試料と し、あらかじめ質量を測定したアルミパンの底に薄く 広げ蓋を閉めたのち1日以上静置した。窒素流量50 mL/分、5.0 ℃/分の条件で以下に示す温度プログラ ムで測定を実施した。

- (i) 30 ℃から50 ℃まで加熱
- (ii) 50 ℃から-80 ℃まで冷却
- (iii) 5分間保持
- (iv) -80 ℃から50 ℃まで加熱
- (v) 50 ℃から30 ℃まで冷却

この温度プログラムを用いて降温および昇温カーブ を取得し、吸発熱量を評価した。測定後にアルミパン にピンホールをあけて試料を110 ℃で3日以上真空乾 燥させて質量を測定し、乾燥前後の試料の質量から含 水量を求め、式1から試料の含水量(Wc: wt%)を 算出した。

$$W_{c} = ((W_{1}-W_{0}) / W_{1}) \times 100$$

ここで、W₀は乾燥後の試料の質量であり、W₁は乾 燥前の試料の質量である。また、以下に示す降温およ び昇温カーブにおける低温結晶形成および融解の熱量 を算出し(式2)~(式4)を用いて、各水の定量化を行 った。

(式1)

EWC = NFWC + IWC + FWC	(式2)
IWC = $(\Delta \text{Hcc} / 334 \text{ (J / g)})$	(式3)
$FWC = (\Delta Hm / 334 (J / g)) - IWC$	(式4)
NFWC=EWC - IWC - FWC	(式5)

上記をそれぞれ、

ΔH_{cc}:降温と昇温過程の水の低温結晶化熱量(J/g)
 ΔH_m:氷の融解熱量(J/g)
 EWC:飽和含水量(wt%)
 NFWC:不凍水量(wt%)
 IWC:中間水量(wt%)
 FWC:自由水量(wt%)
 と定義した。

各コポリマーの飽和含水量はDMAEMAが共重合 されると増加し、TFEMAが共重合されると減少し た。それぞれHEMAよりも親水性および疎水性を示 す各モノマーの特性が反映され加成性を示す結果とな った。一方、各含水量は最大約10 mol%の範囲で相加 的には変化しなかった。この範囲において、N-series は運動性の低い不凍水量が減少し運動性の高い自由水



Fig. 5 Dependence of the water content on the amount of the introduced (a) DMAEMA and (b) TFEMA at EWC. Reprinted with permission from [13], Copyright © 2020, American Chemical Society 量が増加した。逆に、F-seriesは不凍水量と中間水は 若干増加し自由水量は減少した。(Fig. 5)

水和構造の特異的な変化を考察するため、飽和含水 状態の水の運動性とポリマーの運動性に着目した。水 の運動性は、含水させたサンプルに磁場強度20 MHz で100 msecパルス照射し、得られたデータをフィッ ティングして算出したNMRの緩和時間(*T*₂)で評価 した。ポリマーの運動性はDSCから算出したガラス 転移温度(*T*_g)で評価した。*T*₂はPHEMAと比べる とN-seriesで大きくなり、F-seriesでは小さな値を示 した。一方、飽和含水状態の*T*_gはPHEMAと比べる とN-seriesで低くなり、F-seriesでは高い値を示した。 (**Fig. 6**)



Fig. 6 Relaxation time of water (T_2) and hydrated T_g of the HEMA copolymers.Reprinted with permission from [13], Copyright © 2020, American Chemical Society

以上の結果より、HEMAに少量のDMAEMAを共 重合させると、HEMAと強く相互作用する水、つま り不凍水の一部が-NCH3基との相互作用に変化する。 その結果、HEMAと水間の水素結合ネットワーク構 造が緩み、不凍水の一部が中間水または自由水に変化 し、水和水全体の運動性も高まったと考えられる。逆 に、HEMAに少量のTFEMAを共重合すると、 HEMAと弱く相互作用している水、つまり自由水の 一部が-CF3基から遠ざかるために、HEMAの親水部 により近づき、HEMAと水間の水素結合ネットワー ク構造が強化され、自由水の一部が中間水に変わると ともに水和水の運動性も低下したと考えられる。 (Fig. 7)



Fig. 7 Schematic diagram of the hydration structure of the HEMA copolymers.

PHEMAは含水量が高く水和構造の変化を観察しや すいが、生体親和性はPMEAやPMPCと比べると必 ずしも高くない。そこで、次章ではマトリックスポリ マーをより生体親和性に優れたPMEAに変更し、共 重合するモノマーの運動性を変化させたポリマーを合 成し、水和構造との関係を調査した結果を述べる。

3.2. MEA共重合体⁽¹⁵⁾

3.2.1. 合成とバルクの水和構造

分子運動性に着目し2種類のフッ素含有PMEAを合成した。TFEMAを低分子量で重合したマクロモノマーおよび2-Bromoisobutyric Acid Ethyl Esterと H,1H-Perfluoro-1-octanolとを反応させたエステルを開始剤としてMEAを重合し、PTFEMA-b-PMEA、 F15-PMEAを得た。TFEMAは4量体にすることで70 ℃付近に T_s を有し、室温では固体である。一方、F15 は室温で液体であるためそれぞれSolid F-PMEAおよびLiquid F-PMEAとした。分子量を制御することで 導入するフッ素量を5.5 wt%で統一した。Fig. 8に化 学構造とTable 1にDSCで評価した水和構造を示す。



Fig. 8 Chemical structures of F-PMEAs.

Table 1 Water Content of the F-PMEAs, PMEA and PTFEMA Used in the Investigation

Polymers	EWC	NFW	IW ^a heating	IW ^b cooling	IW total	FW
	wt%	wt%	wt%	wt%	wt%	wt%
Liquid-F PMEA	10.0	3.9	1.8	2.8	4.6	1.5
Solid-F PMEA	7.9	2.2	2.5	0.0	2.5	3.3
PMEA	9.8	3.3	3.3	0.0	3.3	3.2
PTFEMA	1.6	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0

^a Fluorine content was calculated using the theoretical Mn value. The wt% was calculated from the wt. ratio of the fluorine atoms in the polymer. ^b Mn _{theo} was calculated from the block copolymer composition identified by ¹H-NMR. Reprinted with permission from [15], Copyright © 2019, American Chemical Society

Liquid-F PMEA、Solid-F PMEAとPMEAはそれ ぞれ約-40 ℃で水が低温結晶形成し、0 ℃以下で融解 する中間水の存在が確認された。PMEAセグメント の効果であると考えられる。Liquid-F PMEAは PMEAよりも不凍水量が多く自由水量が少ない。3.1 でHEMAに少量のTFEMAをランダム共重合するこ とで、自由水が不凍水と中間水へ変化すると結論し た。マトリックスポリマーがPMEAの場合でも同様 の傾向を示した。一方、ブロックポリマーであるSolid-F PMEAは傾向が異なる。フッ素の導入により PMEAよりも不凍水量と中間水量が低下している。 これはフッ素セグメントとPMEAセグメントとで水 和構造の加成性が成立し、飽和含水量とともに低下し たためと考えられる。自由水量だけはPMEAと同程 度を維持している。フッ素セグメントが水和下で凝集 した際、PMEAホモポリマーとは相互作用していな かった水の一部が疎水性水和を形成し、自由水として 検出されたためと考えられる。

3.2.2. 生体親和性とバルクの水和構造との相関

生体親和性の評価として血小板の粘着試験を行っ た。PET基板のポリマーをコーティングし、8 mm 四方にカットし、SEM 台に固定したものを試験に用 いた。まず、ヒト全血から 1500 rpmで5分間遠心分 離を行い、多血小板血漿 (PRP; Platelet Rich Plasma) を回収した。PRPを回収後、4000 rpmで10分間 遠心分離を行い、少血小板血漿 (PPP; Platelet Poor Plasma)を回収した。回収したPRPとPPPを用い、 血小板の播種密度が 4.0 × 10⁷ cells/cm² となるよう に血小板懸濁液を調製した。調製した血小板懸濁液 は、各ポリマー基板上へ200 µLずつ播種し、37 ℃ で1 hインキュベートした。インキュベート後、PBS で各基板を洗浄し、1%グルタルアルデヒド溶液中に 2 h浸漬させることで基板上に粘着した血小板を固定 した。固定後、①PBS、②PBS:純水=1:1、③純水 × 2 の順番で洗浄し、24 h以上風乾した。風乾した 各ポリマー基板は、1基板辺り5点ずつSEM観察を行



Fig. 9 Amount of fibrinogen adsorption (a) and human platelet adhesion (b) onto the surface of F-polymers and PET using surfaces without or with priming. The data represent the means \pm SD (n = 3) of fibrinogen adsorption and denaturation and \pm SD (n = 11) of the platelet adhesion.Reprinted with permission from [13], Copyright © 2019, American Chemical Society

い、血小板の粘着数をカウントした。プライミングは PBSで行った。フィブリノーゲン吸着試験の結果と併 せて中間水量との相関を**Fig. 9**にまとめた。なおそれ ぞれ1時間プライミング処理した結果も併記する。

先行研究同様、中間水量の増加とともに生体親和性 は向上する傾向を示した。この傾向はプライミング後 に顕著であった。特に運動性の低いフッ素ブロックで あるPTFEMAが共重合されたSolid-F PMEAでは、 プライミングすることでフィブリノーゲンの吸着量抑 制効果は大幅に向上している。一方、血小板の粘着数 はほとんど変化がなかった。この結果をさらに解釈す るためには、水-ポリマー界面近傍の水和構造の変化 の評価が重要であると考えられるため、AFMによる 表面状態の測定を行い詳細の議論を行う。

3.2.3. 界面の水和構造の評価

Murakamiらによって、PMEAのAFMに関しては 報告されておりPBS界面で凹凸形状を形成することが 報告されている⁽¹⁶⁾。本検討でもAFMを用いて形状 と弾性率の経時変化を測定した。AFMはCypherおよ びカンチレバーHQ-75-Auを用いて測定を行った。 なおカンチレバーは、空気中でのばね定数k=2.5 N / m、共振周波数f=75 kHz、先端半径<10 nmで、AC モードによるトポグラフィーをPBS中で画像化した。 乾燥状態の並びにPBS中に浸漬してから10、30、およ び60分後サンプルの算術平均高さ(Sa)を画像から 算出した。弾性率はフォースカーブの押し込み過程か ら得られる曲線を解析し、最大応力に対して20~80%





Table 2 Elastic modulus in PBS onto the F-PMEAs, PMEA and PTFEMA coated substrates.

	Sa (nm)		Elastic modulus (MPa)			
Polymers	Air	In PBS	Air	In PBS		
	-	-	flat	convex	flat	
Liquid F-PMEA	4.6	7.1	1000~	100~1000	100~1000	
Solid F-PMEA	2.4	52.9	100~	1~10	1000~	
PMEA	4.5	6.9	$1000 \sim$	100~1000	100~1000	
PTFEMA	4.0	6.1	1000~	1000~	1000~	

の領域をDerjaguin-Muller-Toporovモデルにより解 析した⁽¹⁷⁾。**Fig. 10**に乾燥状態とPBSに10分、30分お よび60分浸漬した後のそれぞれのポリマーの形状測 定の結果を、**Table2**に乾燥状態とPBSに60分浸漬し た算術平均高さ(Sa)と弾性率の結果をまとめる。

乾燥状態では全てのサンプルは平らであり、Saは 約5 nmである。プライミング後30分と60分に大きな 違いはないので、形態変化は30分以内に飽和すると 考えられる。一方、Solid-F PMEAのみ大きな凹凸構 造を形成し、凹部と凸部で弾性率が2~3桁異なる。

また、Solid-F PMEAに水滴を滴下した際の接触角 は、水滴下直後は94.7°であったものが30秒後には 89.0°と経時的に親水化した。この結果は、Solid-F PMEAは緩やかなに表面再配向により界面分子がPT-FEMAからPMEAへ切り替わることが示唆している。 一方、水中の気泡接触角は124.1°とLiquid-F PMEA (129.3°) やPMEA (130.6°) と比べると相対的には 疎水性を示していた。この結果と併せて考えると、 Solid-F PMEAは空気との界面ではPTFEMAセグメ ントが凝集しているが、水との接触により表面張力の ミスマッチを補うために、内部からPMEAセグメン トが押し出され凸部分が形成される。しかし、PT-FEMAセグメントはT。が高いために完全にPMEAセ グメントと切り替わるわけではなく凹部分にはある一 定の割合留まっている。そのためSolid-F PMEAの生 体親和性に関しては以下のようにまとめることができ る。プライミングすることで親水部のPMEAセグメ ント凸部として水界面に形成されることで大きさが数 10 nm程度のフィブリノーゲンの吸着は抑制すること ができる。しかし、血小板は2 µm程度の円盤状の血 球細胞であるため凹部に残っている1µm程度の疎水 部のPTFEMAセグメントを足場にして粘着し、プラ イミング前後で粘着数が大きな変化がなかった可能性 がある。(Fig. 11)



Fig. 11 The conceptual images of F-PMEAs in dry and hydration structure that suppresses fibrinogen: (a) Liquid F-PMEA and (b) Solid F-PMEA.Reprinted with permission from [13], Copyright © 2019, American Chemical Society

4. 総括

本検討では水和構造を制御し優れた生体親和性材料 を開発することを目的に、異種モノマーが少量共重合 されたPHEMAとPMEAを分子設計し生体親和性を 評価した。

このコポリマーをコーティングして得られた薄膜は 先行研究と同様に、異種モノマーの割合が少量である 場合にフィブリノーゲン吸着量が極小値を示すことを 確認した。DSC測定による含水状態のポリマーの水 和構造とガラス転移温度および固体NMRによる水の 緩和時間の測定結果から、共重合する異種モノマーが アミノ基の場合はポリマーと強く相互作用している不 凍水が、トリフルオロメチル基の場合は弱く相互作用 している自由水がそれぞれ中間水にシフトすると考察 した。中間水量の増加が生体親和性の向上の一因であ ると結論した。マトリックスポリマーがHEMAなど のように水酸基を有し不凍水量が多い場合は親水的な モノマーを、PEGやPMPCのように自由水量が多い ポリマーに関しては疎水性なモノマーを少量共重合す ることで選択的に中間水量を増やせる可能性が示唆さ れ、新規な水和構造の制御方法の提案を行った。

また更なる生体親和性向上のためにマトリックスポ リマーをPMEAに変更して、界面の水和構造に着目し た。導入するフッ素元素の質量比を統一し、分子運動 性が生体親和性と水和構造に与える影響を評価した。 分子運動性が高いフッ素含有開始剤と共重合した PMEAは、PMEAと比べて生体親和性に優れているこ とを明らかにした。これらの結果より、優れた生体親 和性界面を構築するためには、十分な中間水を含む鎖 が効率的に水界面に配向する必要があると考えられる。

これらのコンセプトを使用した材料はATGの培養 容器であるEZSPHERER-SPのコーティング材料とし て上市されており、再生医療の普及と共に拡大される こと期待される⁽¹⁸⁾。また医療機器の高寿命化、診断 機器のS/N比の向上など様々な分野への応用が期待さ れる。

5. 謝辞

本研究は私が九州大学での社会人博士課程時代に検 討した内容であり、私を指導してくださった田中賢教 授および田中研究室メンバーに謝意を表します。また 本研究はデンマーク工科大学 Katja Jankova先生と 共同で行われました。議論や論文執筆に多くの時間を 割いていただきました。深く感謝の意を表します。

—参考文献—

- 経済産業省における 医療機器産業政策について https://www. med-device.jp/repository/other/201809-meti-seisaku.pdf
- (2) Mori, Y.; Nagaoka, S.; Takiuchi, H.; Kikuchi, T.; Noguchi, N.; Tanzawa, H.; Noishiki, Y. *Trans. Am. Soc. Artif. Internal Organs.* **1982**. *28*, 459-463.
- (3) Martins, M.; Wang, D.; Ji, J.; Feng, L.; Barbosa, M. Biomaterials 2003, 24 (12), 2067-2076.
- (4) Kadoma Y.; Nakabayashi N.; Masuhara E.; Yamauchi J. Kobunshi Ronbunshu, 1978 35, 423-427.
- (5) Ishihara K.; Ueda T.; Nakabayashi N. Polym. J. 1990, 22, 355-360.
- (6) Ostuni, E.; Chapman, R. G.; Holmlin, E.; Takayama, S.; Whitesides, G. M. *Langmuir* 2001, *17*, 5605-5602.
- (7) Holmlin, E.; Chen, X.; Chapman, R. G.; Takayama, S.;
 Whitesides, G. M. *Langmuir* 2001, *17*, 2841 2850.
- (8) Tanaka, M.; Motomura, T.; Kawada, M.; Anzai, T.; Kasori, Y.; Shiroya, T.; Shimura, K.; Onishi, M.; Mochizuki, A. *Biomaterials* 2000, *21* (14), 1471-1481.
- (9) Tanaka, M.; Motomura, T.; Kawada, M.; Anzai, T.; Kasori, Y.; Shimura, K.; Onishi, M.; Mochizuki, A.; Okahaya, Y. Jpn J Artif Organs 2000, 29, 209-216.
- (10) Kikuchi, A.; Karasawa, M.; Tsuruta, T.; Kataoka, K. J. Colloid Interface Sci. 1993, 158, 10-18.
- (11) Tsuruta, T. J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 2010, 21, 1831– 1848.
- (12) Zhao, Z.; Ni, H.; Han, Z.; Jiang, T.; Xu, Y.; Lu, X.; Ye, P. ACS Appl. Mater. Interfaces, 2013, 5, 7808-7818.
- (13) Koguchi, R. Jankova, K. Hayasaka, Y. Kobayashi, D. Amino, Y. Miyajima, T. Kobayashi, S. Murakami, D. Yamamoto, K. Tanaka, M. ACS Biomater. Sci. Eng. 2020, 6 (5), 2855-2866.
- (14) Sato, K.; Kobayashi, S.; Kusakari, M.; Watahiki, S.; Oikawa, M.; Hoshiba, T.; Tanaka, M. *Macromol. Biosci.* 2015, 15 (9), 1296-1303.
- (15) Koguchi, R.; Jankova, K.; Tanabe, N.; Amino, Y.; Hayasaka, Y.; Kobayashi, D.; Miyajima, T.; Yamamoto, K.; Tanaka, M. *Biomacromolecules* **2019**, *20*, 2265-2275.
- (16) Murakami, D.; Kobayashi, S.; Tanaka, M. ACS Biomater. Sci. Eng. 2016, 2 (12), 2122–2126.
- (17) Derjaguin, B. V.; Muller V. M.; Toporov, Y. P. J. Colloid. Interf. Sci. 1975, 53, 314.
- (18) http://iwaki.atgc.co.jp/div/rika/hbin/ez2012_a.html