

学 位 論 文 題 名

# Blood compatibility of Poly (2-methoxyethyl acrylate) —Design of a novel bio-interface—

(ポリ (2-メトキシエチルアクリレート) の血液適合性  
—新しいバイオインターフェイスの設計—)

## 学位論文内容の要旨

人工臓器を含めた医療製品は多くの高分子材料から構成されており、それが血液や組織に直接接触する場合、血液適合性や組織適合性のいわゆる生体適合性が要求される。したがって、これらの表面に簡便に生体適合性を付与する技術があれば、医療デバイスの開発や再生医療の推進にとってきわめて有用である。これまでに、生体適合性高分子の表面としては、親水性表面、ミクロ相分離表面、細胞膜類似表面などの有効性が報告されているが、その発現機構は解明されていない。医療製品が血液・組織と接触すると、直ちに水がその材料表面に吸着する。また、生命現象の反応場の観点から水分子に着目すると、この水分子はタンパク質や細胞の接着形態や機能発現の場を形成しており、この水分子の構造や運動性が医療用材料に要求される生体適合性に大きな影響を与えと考えられる。

本研究では、新規に見いだした、ポリ(2-メトキシエチルアクリレート)(PMEA) (図 1) の優れた血液適合性の発現機構の解明を目的として、PMEA 表面に吸着したタンパク質や水分子の構造について調べた。

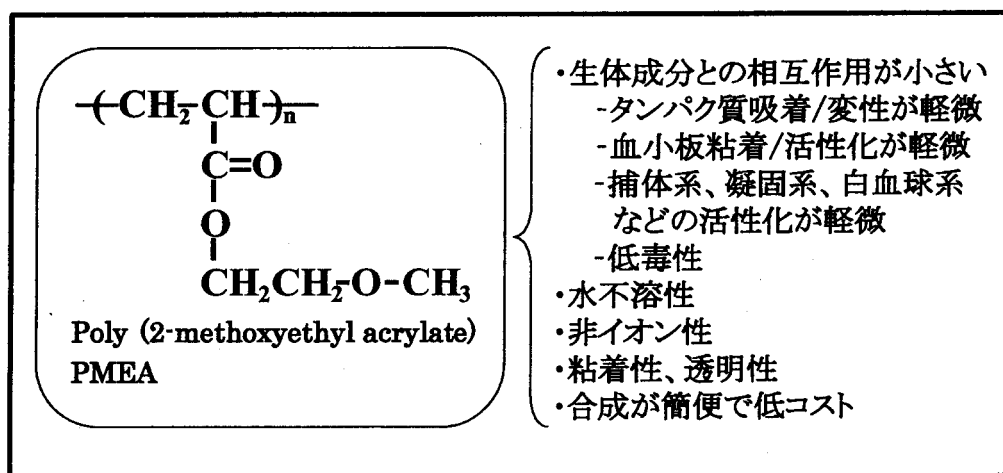


図 1 PMEA の化学構造式と特徴

本論文は、以下の内容で構成されている。

第一章では、これまでに行われてきた生体適合性高分子に関する研究を概説し、これらの特徴と課題を指摘した。また、適合性発現メカニズム解明の切り口として生体（血液）との界面（図 2）で組織化された水分子の構造に着目し、その役割について述べた。

第二章では、PMEA 表面のヒト血液に対する適合性について調べた。PMEA 表面は、血液成分（血小板、白血球、補体、凝固系）の各種血液適合性マーカーに対する活性化が軽微であることが明らかになった。製品（人工心肺）形態での評価も良好であった。

第三章では、血液中の血漿タンパク質の吸着量と吸着構造について調べた。PMEA 表面へのタンパク質吸着量は  $0.26 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  と単層吸着を示唆するレベルであった。PMEA 表面に吸着したアルブミンやフィブリノーゲンの  $\alpha$ -ヘリックス含量を円偏光二色(CD)スペクトル測定により比較したところ、PMEA 表面に吸着したタンパク質は他の高分子に吸着した場合と比較して  $\alpha$ -ヘリックス含量が高く、ネイティブのタンパク質に近いものであった。

第四章では、水晶共振子マイクロバランス(QCM)を用い、タンパク質の PMEA 表面に対する動的吸着挙動を調べた。タンパク質の吸着速度定数は他の高分子も同レベルにあるのに対し、脱離速度は、PMEA が顕著に大きく、これより PMEA 表面では吸着したタンパク質が他の高分子表面に比べ容易に脱離することがわかった。PMEA 表面に吸着したタンパク質が脱離しやすいのは吸着タンパク質の変性が少ないからと考えられる。

第五章では、PMEA 表面がタンパク質、血液成分との相互作用が小さい理由を解明するために、示差走査熱量計(DSC)を用いて、飽和含水した PMEA 中の水の構造を調べた。その結果、 $-100^\circ\text{C}$  からの昇温過程で水のコールドクリスタリゼーション(CC)に由来するシャープな発熱ピークが  $-40^\circ\text{C}$  付近に観測された。また、CC の出現直後に六方晶の氷晶の形成が X 線回折より観測されたことから、この低温結晶化はアモルファスの氷から結晶性の氷への転位と考えられる。一方、血液適合性の悪い高分子ではこのような水の存在は認められなかった。PMEA 類似体や共重合体について、DSC の各転位における熱量から、高分子中に存在する水を①自由水： $0^\circ\text{C}$  付近で融解する水、②中間水： $-40^\circ\text{C}$  付近で低温結晶化する水、③不凍水： $-100^\circ\text{C}$  においても凍結しない水と定義し、それぞれの量を求め、血液適合性との相関性を調べたところ、CC として観測される中間水量が血小板粘着/活性化に強く影響を及ぼしていることが示唆された。

タンパク質などの生体成分は血液中で水和殻を形成し安定化されているが、材料表面の不凍水などが直接この水和殻に接触し、これを攪乱あるいは破壊すると、生体成分の材料表面への吸着・活性化の引き金となると考えられる。PMEA 表面では上述の中間水が、生体成分の水和殻と材料表面の不凍水層の間に存在し両者が直接接触することを阻害するため、異物認識が起きないと考えられる。なお、中間水は生体成分の水和層を破壊するほどの特異な水素結合構造は有していないものの、高分子鎖と弱く相互作用した水であるため、自由水層と不凍水との界面に安定に存在できると考えられる。

本論文では、PMEA の生体適合性発現メカニズムの解明を行うために高分子材料表面の水分子の役割に着目し、自由水と不凍水間の特性を有する中間水の存在が重要であるというコンセプトを提案するに至った。バイオインターフェイスで組織化された水および生体分子(図 2)の多元構造と PMEA 鎖自身や水分子の構造・運動性のさらなる解明を行うことで、本仮説の実証と新規医療用高分子材料の分子設計指針の創出が期待される。

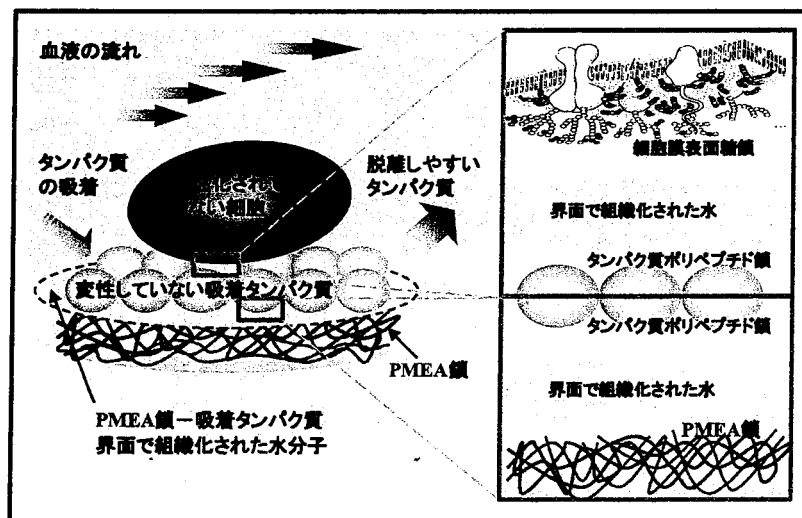


図2 PMEAと血液との界面で組織化された生体分子

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 下 村 政 嗣

副 査 教 授 魚 崎 浩 平

副 査 教 授 矢 澤 道 生

副 査 教 授 岡 畑 恵 雄

(東京工業大学大学院生命理工学研究科)

## 学 位 論 文 題 名

### Blood compatibility of Poly (2-methoxyethyl acrylate) —Design of a novel bio-interface—

(ポリ (2-メトキシエチルアクリレート) の血液適合性  
—新しいバイオインターフェイスの設計—)

人工臓器を含めた医療製品は多くの高分子材料から構成されており、それが血液や組織に直接接触する場合、血液適合性や組織適合性のいわゆる生体適合性が要求される。したがって、これらの表面に簡便に生体適合性を付与する技術があれば、医療デバイスの開発や再生医療の推進にとってきわめて有用である。これまでに、生体適合性高分子の表面としては、親水性表面、ミクロ相分離表面、細胞膜類似表面などの有効性が報告されているが、その発現機構は解明されていない。また、生体適合性材料の設計指針はいまだに得られていない。

本論文は、筆者が新規に見いだした、ポリ(2-メトキシエチルアクリレート) (PMEA) が有する血液適合性とその発現機構に関する研究をまとめたものである。PMEA 表面は、血液成分(血小板、白血球、補体、凝固系)の各種血液適合性マーカーに対する活性化が軽微であることが明らかになった。製品(人工心肺)形態での評価も良好であった。PMEA 表面へのタンパク質吸着量は  $0.26 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  と単層吸着を示唆するレベルであった。PMEA 表面に吸着したアルブミンやフィブリノーゲンの  $\alpha$ -ヘリックス含量を円偏光二色(CD)スペクトル測定により比較したところ、PMEA 表面に吸着したタンパク質は他の高分子に吸着した場合と比較して  $\alpha$ -ヘリックス含量が高く、ネイティブのタンパク質に近いものであった。また、水晶発振子マイクロバランス(QCM)を用い、タンパク質の PMEA 表面に対する動的吸着挙動を調べた。タンパク質の吸着速度定数は他の高分子も同レベルにあるのに対し、脱離速度定数は、PMEA が顕著に大きく、これより PMEA 表面では吸着したタンパク質が他の高分子表面に比べ容易に脱離することを見いだした。さらに、PMEA 表面がタンパク質、血液成分との相互作用が小さい理由を解明する

ために、筆者は示差走査熱量計 (DSC) を用いて、飽和含水した PMEA 中の水の構造を調べた。その結果、 $-100^{\circ}\text{C}$ からの昇温過程で水のコールドクリスタリゼーション (CC) に由来するシャープな発熱ピークが $-40^{\circ}\text{C}$ 付近に観測された。また、CC の出現直後に六方晶の氷の形成が X 線回折より観測されたことから、この低温結晶化はアモルファスの氷から結晶性の氷への転位であることを見いだした。一方、血液適合性の悪い高分子ではこのような水の存在は認められなかった。PMEA 類似体や共重合体について、DSC の各転位における熱量から、高分子中に存在する水を①自由水： $0^{\circ}\text{C}$ 付近で融解する水、②中間水： $-40^{\circ}\text{C}$ 付近で低温結晶化する水、③不凍水： $-100^{\circ}\text{C}$ においても凍結しない水と定義し、それぞれの量を求め、血液適合性との相関性を調べたところ、CC として観測される中間水量が血小板粘着／活性化に強く影響を及ぼしていることを見いだした。

これを要するに、筆者は、PMEA 表面が血液細胞や組織に対する活性化が軽微であり、血漿タンパク質の吸着量が少ないこと、吸着タンパク質の変性が小さく、脱離しやすい理由として、PMEA が有する特異的な水の構造が重要な役割を果たしていることを見いだしたものであり、21 世紀の医療分野を支える生体材料の開発や人工臓器・再生医療の分野における生体適合化技術を開発する上で、材料設計指針を与えるものとして高く評価されます。

よって著者は、北海道大学博士(理学)の学位を授与される資格のあるものと認める。