

## 血液適合性高分子／水界面における高分子密度が機能に与える影響

上田, 智也

<https://hdl.handle.net/2324/4784569>

---

出版情報 : Kyushu University, 2021, 博士 (工学), 課程博士  
バージョン :  
権利関係 :

氏 名 : 上田 智也

論 文 名 : 血液適合性高分子／水界面における高分子密度が機能に与える影響

区 分 : 甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

少子高齢化社会において、医療機器は生活の質の向上のために必要不可欠である。医療機器の多くは汎用性高分子から構成されている。この高分子材料に血液が接触すると血栓形成反応が惹起される。したがって、材料表面には血液と接触しても異物反応を起こさない「血液適合性」が求められる。特に血栓形成反応を抑制する性質である「抗血栓性」の付与には血栓形成反応の初期過程である材料表面でのタンパク質の吸着・構造変化や血小板の粘着・活性化を抑制することが重要である。また、長期の抗血栓性を発現するために、血管の内表面に存在する血管内皮細胞による内皮化を促進する材料表面の設計も必要である。

現代の難題とされている小口径人工血管の開発に向けて、血小板の非粘着性と血管内皮細胞の接着性を併せ持つ血液適合性表面の構築に関する研究が盛んに行われている。例えば、ポリ(2-メトキシエチルアクリレート) **PMEA** は、血小板は粘着させず血管内皮細胞は接着するという細胞選択性を有している。この細胞選択性の発現機構の解明に向けて、生体の大部分を占めている「水」が高分子と接触した際にできる水和状態の解析が行われた。血液適合性を有する高分子には特徴的な水である「中間水」が観測され、この中間水の量と血液適合性との間に相関があることを見出されている。しかし、中間水の具体的な役割は不明瞭な部分が多い。最近、**PMEA**/水界面では自発的に密度の異なる領域(Polymer-rich 相・Water-rich 相)が形成されることが報告され、その密度の違いによってタンパク質の吸着や血小板などの細胞の接着が異なることが示唆されている。本博士論文では密度を制御した **PMEA** での水和量や運動性などの水和状態や生体応答を評価することで、**PMEA** の密度と抗血栓性・内皮細胞接着性との関係を理解することを目的とした。

本博士論文の構成は以下の通りである。

第一章では、本研究の背景、目的、本論文の構成について説明した。

第二章では、**PMEA** の密度によって **PMEA**/水界面の水和量や **PMEA** 鎖の運動性が変化するという予想のもと、**PMEA** の密度を制御したモデル基板 (**gPMEA**) を作製した。**gPMEA** のグラフト密度 ( $\sigma$ ) は反応濃度・反応時間によって制御することが可能であり、 $\sigma = 0.02 \sim 0.18$  chains/nm<sup>2</sup> の **gPMEA** を作製することに成功した。 $\sigma = 0.118$  の **gPMEA** は最も親水的であり、水和量は  $\sigma$  の増加に伴って減少した。水和した **PMEA** の運動性は  $\sigma = 0.12$  付近の **gPMEA** で最大であったことから、 $\sigma = 0.12$  の **gPMEA** では運動性の高い水分子、特に自由水や中間水が多いことが示唆された。**gPMEA**/水界面の構造は  $\sigma$  に応じて変化し、 $0.11 < \sigma < 0.13$  では微細構造が確認できた。この相分

離によって形成した Polymer-rich 相の割合は  $\sigma = 0.113$  で一番少なく、 $\sigma$  の増加に伴って増加しており、Water-rich 相の割合が高い、 $\sigma = 0.11\sim 0.12$  付近の gPMEA では PMEА の水和量や運動性が高く、Water-rich 相とは水和量や運動性がともに高く、高分子鎖が十分に水和し分散した界面であることを明らかにした。

第三章では、 $\sigma$  の異なる gPMEA に対して抗血栓性の評価を行った。gPMEA 上のフィブリノーゲン吸着量および血小板粘着数は  $\sigma$  の増加に伴って減少し、 $\sigma = 0.12$  付近で最小となった後、 $\sigma$  の増加に伴って増加した。また、フィブリノーゲンの吸着量は gPMEA 中の水和量と負の相関を示し、gPMEA 中の水和量と水和した PMEА 鎖の運動性がともに高い領域でフィブリノーゲンの変性が抑制されたことが確認された。血小板の粘着数は gPMEA/水界面の Water-rich 相が 40%以上の時に有意に少なかった。以上のことから、gPMEA/水界面の水和量や運動性がともに高いことが血小板の粘着を抑制するのに極めて重要であることを明らかにした。

第四章では、中間水量の異なる PMEА 類似高分子の水和水量や運動性を評価し、 $\sigma$  の異なる gPMEA の結果と比較することで PMEА の  $\sigma$  と水和状態、特に中間水との関係について詳細な議論を行った。さらに、湿度制御下で水分子の吸着挙動を水晶振動子マイクロバランスにより評価した。抗血栓性に劣る高分子では水和量は  $\sigma$  に依存せず少ないことを明らかにした。一方、抗血栓性を発現する高分子では水和量および水和した高分子鎖の運動性がともに高く、加湿下では水分子が高分子鎖内部に拡散し、高分子鎖が容易に膨潤した。また、この時に形成される Water-rich 相に存在する水分子は中間水であることが示唆された。さらに、高分子中の水和量と高分子鎖の運動性がともに高いことが中間水の発現と大きく関与していることを新たな知見として得ることができた。

第五章では、より優れた血液適合性高分子の設計指針の確立と PMEА の細胞選択性の発現機構の解明に向けて、 $\sigma$  を制御した gPMEA 上の血管内皮細胞の接着挙動を評価した。gPMEA 上では抗付着性に優れるグラフト化ポリエチレングリコール (gPEG) に対して優位に血管内皮細胞は接着・増殖しており、また血小板の粘着を極めて抑制することから、抗血栓性と血管内皮細胞の接着性を併せ持つ高機能な界面であることを明らかにした。さらに、細胞接着に関与するフィブロネクチンの吸着量は密度に依存せず一定であった。またフィブロネクチン中の細胞接着部位の露出量は gPMEA 中の水和量の増加に伴って増加した。以上のことから、細胞接着に関与するフィブロネクチンが gPMEA/水界面の水和量の高い領域でも接着・細胞接着部位を露出するため、PMEА 表面上で血管内皮細胞は接着・伸展したと推察した。さらに、gPMEA 上に吸着したタンパク質中の細胞接着部位の露出量と血管内皮細胞の接着数や伸展面積と相関は得られなかったため、gPMEA 中の水和量や水和した PMEА 鎖の運動性といった gPMEA 表面の特性との相関について議論した。血管内皮細胞の接着数や伸展面積は水和した PMEА 鎖の運動性と良い相関を示した。以上のことから、血管内皮細胞の接着数や伸展などの接着挙動には、足場となるタンパク質中の細胞接着部位の露出量だけでなく、高分子膜側の運動性も重要であることを明らかにした。

第六章では、本論文を総括し、今後の展望を述べた。