

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K17917

研究課題名(和文) 高分子精密合成に基づく機能性界面の創製：血液適合性高分子の新設計

研究課題名(英文) Construction of Functional Interfaces based on Precision Polymer Synthesis:
Novel Design of Blood-compatible Polymers

研究代表者

織田 ゆかり(Oda, Yukari)

九州大学・工学研究院・助教

研究者番号：20625595

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、一次構造の明確な高分子薄膜を調製し、その水界面における静的・動的構造と物性、ならびに血液適合性を検討した。これより、水界面における機能発現制御に向けた分子設計指針の提案と、新たな機能性水界面の創製を目指した。親水性グラフト鎖を有する分岐型高分子を設計し、これを直鎖状高分子とのブレンド膜表面に濃縮させることで膜表面におけるタンパク質吸着抑制を達成した。また、架橋密度の異なるハイドロゲル薄膜を設計し、その水界面近傍における膨潤挙動や弾性率と血小板粘着挙動を評価した。その結果、水中における膨潤率が高く、界面近傍の弾性率の小さなハイドロゲル膜が優れた血液適合性を示すことを明らかとした。

研究成果の概要(英文)：Excellent bio-inert properties of polymers are strongly related to aggregation states and dynamics of chains at the water interface. In this study, we prepared a series of well-defined polymer thin films and examined relationship between their structure and physical properties at the water interface, and blood-compatibility. First, a branched polymer grafted with hydrophilic polymer chains was successfully prepared. Its hydrophilic part was preferentially segregated at the outermost surface of the blend films with a linear polymer and effectively prevented protein adsorption on their surfaces. Furthermore, the cross-linked thin films of water-soluble polymers were prepared. The obtained films were thickened in water. The moduli of the hydrogel films near the water interfaces were greatly sensitive to the cross-linking density of the polymers. Diffuse interfaces of the polymer chains at the water interface made it possible to prevent the platelet adhesion on the films.

研究分野：高分子化学

キーワード：高分子膜 精密合成 血液適合性 水 界面 表面濃縮 ハイドロゲル

1. 研究開始当初の背景

高分子材料の固体表面、界面において発現する機能、例えば、接着、摩擦、分子認識、生体適合性などの制御は、幅広い分野の材料開発において極めて重要である。特にバイオ応用展開を考えると、水界面制御は強く求められる。ここで、水界面における高分子鎖の状態は、材料内部の状態とは異なり、その高分子設計や機能発現と密接に関連している。つまり、水界面機能の高度に制御された高分子材料の開発には、その界面における構造・物性を分子レベルで理解し、これに基づく精緻な分子設計・精密合成が必要不可欠であると考えられる(図1)。

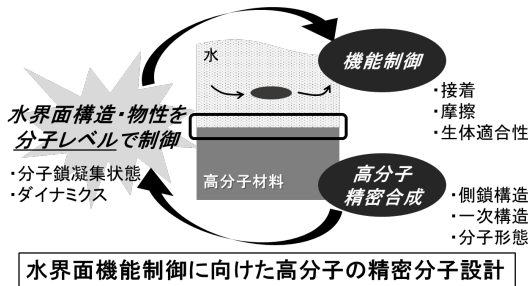


図1. 本研究課題の概要

高度な水界面機能の制御が強く求められる材料の一つが、血液適合性高分子である。血液適合性の発現には、その界面近傍における水和構造を純水と近い状態に維持することが重要であると報告されている。近年、ポリメタクリル酸メチル(PMMA)の側鎖カルボニル基は、水と水素結合を形成するため、界面の水を純水とは異なる状態に変化させることが報告されている。しかしながら、代表的な血液適合性高分子で精密合成により自由に設計できる系は、同じく側鎖にカルボニル基を有するポリアクリレートやポリメタクリレートが中心であり、その高分子設計と水の構造、血液適合性との系統的な研究はそれほど進んでいなかった。

そこで本研究代表者は、界面における水和構造を純水と近い状態とするための高分子として、側鎖にカルボニル基を持たないポリビニルエーテル(PVE; VE: CH₂=CH-OR)に着目した。まず、PMMA からカルボニル基を除いた構造であるポリ(メチル 2-プロペニルエーテル) (PMPE)の水界面構造を、界面選択分光法である和周波発生(SFG)分光測定に基づき詳細に検討した。その結果、PMPE 界面には、PMMA 界面と比べて、より純水に近い状態の水和構造が形成されやすいことを明らかとした [Oda et al., Langmuir (2014)]。一方、主鎖メチル基が界面で疎水場を形成するPMPE 膜表面には、血小板が粘着しやすく、血液適合性材料としては不相当であった。

そこで、血液適合性高分子の基本骨格として、親水性のオキシエチレン側鎖を有するPVE(POEVE)(図2)に着目した。POEVE 界面の創製には、その分子形態も重要である。本研

究代表者は、POEVE (x = 0, R = CH₃, C₂H₅) を有するブロック共重合体の膜表面に親水性のPOEVE成分が選択的に濃縮することを見出し [Oda et al., Chem. Lett. (2015)]、予備検討においてその表面が極めて優れた血液適合性を示すことをすでに見出していた。

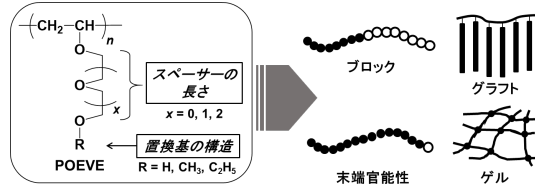


図2. POEVE の構造式とその分子形態制御

2. 研究の目的

以上の経緯より、本研究では、一次構造の明確な高分子の薄膜を調製し、その水界面における静的・動的構造と物性、さらに血液適合性を系統的に検討することで、水界面における機能発現制御に向けた分子設計指針の提案、ひいては新たな機能性水界面の創製を目的とした。

3. 研究の方法

一次構造の制御された種々のPOEVEを精密重合法により合成した。POEVEは室温で粘稠体であるため自立膜を作製することが難しく、分子設計上の工夫を行った。まず、ポリ[2-(2-エトキシ)エトキシエチルビニルエーテル](PEOEOVE)の末端にメタクリル酸エステル基を有するマクロモノマーをリビングカチオン重合により合成し、これをメタクリル酸メチル(MMA)とリビングラジカル共重合することで、PEOEOVE鎖を有する分岐型ポリマー[P(MMA-g-EOEOVE)]を合成した。図3は、分岐型高分子[P(MMA-g-EOEOVE)]の化学構造式と直鎖状高分子中における界面濃縮挙動の概念図である。P(MMA-g-EOEOVE)とPMMAとのブレンド膜(1/99、5/95、10/90、wt/wt)をSiまたはホウケイ酸ガラス基板上にスピコート法で調製した。

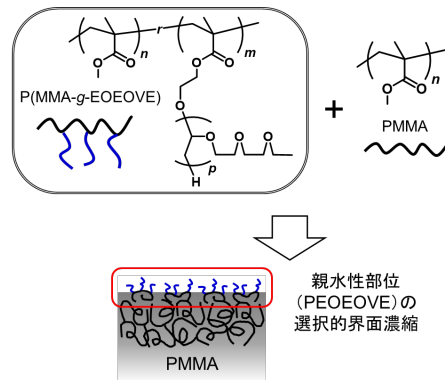


図3. 分岐型高分子[P(MMA-g-EOEOVE)]の化学構造式と界面濃縮挙動の概念図

また、PEOVE に架橋構造を導入した製膜も検討した。具体的には、側鎖にラジカル重合性ビニル基を有する 2-ビニルオキシメタクリル酸エチル(VEM)と 2-メトキシエチルビニルエーテル(MOVE)とのランダム共合体(MrV)を種々の組成で合成した。架橋型 MrV(c-MrV)膜は MrV のトルエン溶液を基板にスピコートした後、紫外光を照射することで調製した(図 4)。

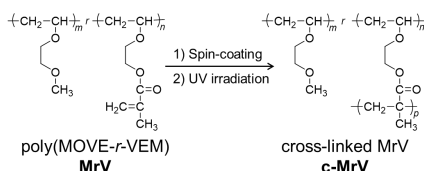


図 4. 架橋膜の調製

さらに、以下の二種類の手法によりグラフト層の構築を検討した。まず、PMOVE ホモポリマーをリビングカチオン重合法に基づき精密合成し、重合終期において基板に固定化した停止剤と反応させる方法を試みた(Grafting-to法)。さらに、高密度なグラフト層の構築に有効な表面開始ラジカル重合法に基づき、単独ラジカル重合性の低いOEVEをアクリレートモノマーと共重合することで、高分子グラフト界面の創製を検討した(Grafting-from法)。

以上より得られた種々の高分子薄膜表面の形態観察は原子間力顕微鏡(AFM)を用い、膜表面近傍の元素分析は X 線光電子分光(XPS)測定に基づき行った。水界面における分子鎖凝集状態ならびに水の凝集状態は、界面選択的な分光手法である和周波発生(SFG)分光測定に基づき評価した。水中における膜の膨潤挙動は AFM 観察により、水界面近傍における膜の弾性率は、AFM を用いたフォースカーブ測定に基づき評価した。

高分子膜表面の血液適合性を評価するため、全血より分離した多血小板血漿を用い、その粘着挙動(粘着量、活性化度)を、走査型電子顕微鏡(SEM)観察に基づき評価した。また、生体不活性を評価する指標として、フルオレセイン標識ウシ血清アルブミン(FITC-BSA)を用い、タンパク質吸着試験を実施し、膜表面への吸着挙動を蛍光顕微鏡観察に基づき評価した。

4. 研究成果

以下の 3 項目について検討した。

分岐型高分子の界面濃縮挙動を利用した界面改質剤の設計

分岐型高分子は、直鎖状高分子とのブレンド膜中において形態エントロピーの寄与に基づき自発的に空気界面に濃縮する。各 [P(MMA-g-EOEOVE)/PMMA] ブレンド膜の空気界面近傍における組成分布を、角度分解 XPS 測定に基づき評価した。その結果、いずれのブレンド膜においても PEOEOVE 部が空気界面

近傍に濃縮すること、その表面占有率は P(MMA-g-EOEOVE)の含有率とともに増加することを明らかとした。さらに、各ブレンド膜を FITC-BSA のリン酸緩衝生理食塩水溶液に浸漬させた後、蛍光顕微鏡観察に基づき FITC-BSA の吸着量を評価した。その結果、(1/99)ブレンド膜と PMMA 膜上には同程度の FITC-BSA が吸着した一方、(5/95)ならびに(10/90)ブレンド膜上ではその吸着が抑制された(図 5)。これより、5 または 10 wt% の P(MMA-g-EOEOVE)を PMMA に添加することで、その空気界面に濃縮した PEOEOVE 成分が効果的にタンパク質吸着を抑制することが明らかとなった。

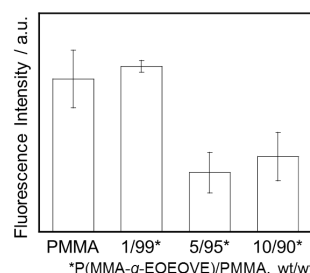


図 5. 蛍光顕微鏡観察より見積もった PMMA 膜および各ブレンド膜表面における FITC-BSA の相対吸着量

界面物性制御による血液適合性ハイドロゲル薄膜の設計

MrV 中における PMOVE ならびに PVEM 成分のモル分率は、83:17 (MrV-17)、67:33 (MrV-33)、50:50 (MrV-50)であった。空気中ならびに水中における c-MrV の膜厚を AFM 観察に基づき評価したところ、c-MrV-17、33、および 50 の膨潤率はそれぞれ 1.89 ± 0.07 、 1.44 ± 0.03 および 1.27 ± 0.03 であった。図 6 は各試料の水中におけるフォースカーブ測定の結果である。押し込み深さ(d)は水界面からの距離に対応する。チップが圧縮限界に到達するか、 d が膨潤状態における膜厚の 10% に達したところで押し込みを停止した。得られた曲線を Hertz モデルに基づき解析したところ、c-MrV-17、33 および 50 の水界面近傍における弾性率(E)はそれぞれ 139 ± 16 、 255 ± 15 および 700 ± 37 kPa であった。これより、VEM 含有率の低下に伴い膨潤率は増加し、 E は低下することが明らかになった。

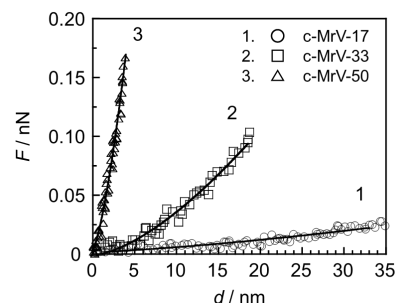


図 6. c-MrV-17、33、50 の水中におけるフォースカーブ (F : 力)

一方、各試料の水界面における SFG スペクトルの形状はほぼ変わらなかったことから、水界面における c-MrV の分子鎖凝集状態や水和状態は VEM 含有率にほとんど依存しないと考えられた。図 7 は各膜表面に粘着した血小板の SEM 画像である。c-MrV の膨潤率の増加ならびに E の低下に伴い、血小板の粘着数は顕著に減少し、その活性化も抑制された。これらの結果より、ハイドロゲル膜最外層の膨潤領域に存在する分子鎖が速いダイナミクスで排除体積効果を誘起し、血小板粘着を抑制すると考えられた。

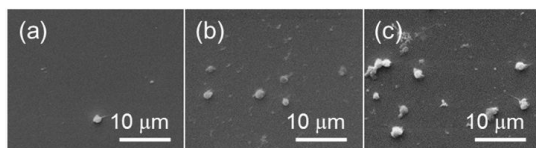


図 7. (a) c-MrV-17、(b) c-MrV-33 および (c) c-MrV-50 上に粘着した血小板の SEM 画像

新規機能性界面創製への展開：グラフト層の構築

これまでの結果より、POEVE の分子設計によって (POEVE/水) 界面の構造や物性を制御し、優れた生体不活性を発現させられることを明らかとした。そこで、このような特異な界面特性を示す POEVE 鎖を基板上に直接固定化できれば、界面分子鎖の凝集状態やダイナミクスの制御の可能性が広がり、ひいては新規機能性界面の創製へと展開できると考えた。

リビングカチオン重合による Grafting-to 法では、ポリマーのグラフト密度は低く、十分な膜厚のグラフト層を構築することが困難であった。そこで、高密度なグラフト層の構築に有効な表面開始ラジカル重合法による高分子グラフト界面の創製を検討した。まず、ニトロキッド媒介ラジカル重合の典型的な開始剤を用い、2-(2-メトキシエトキシエトキシ)エチルビニルエーテル(MEVE)および 2-(2-エトキシエトキシ)エチルアクリレート(EA)の共重合を検討した。適当な条件を選択することで、MEVE と EA の制御共重合が進行すること、得られるポリマーはほぼ交互シーケンスを有することを明らかとした。さらに、開始剤を固定化した基板を用いて、共重合体のグラフト層を構築した。AFM を用いた水中におけるフォースカーブ測定ならびに水平力顕微鏡測定により、基板上における水に膨潤したグラフト層の形成が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

N. Itagaki, Y. Oda, T. Hirata, H. K. Nguyen, D. Kawaguchi, H. Matsuno, K.

Tanaka, “Surface Characterization and Platelet Adhesion on Thin Hydrogel Films of Poly(vinyl ether)”, *Langmuir* 33(50), 14332–14339 (2017)(査読有). DOI:10.1021/acs.langmuir.7b03427
S. Sugimoto, Y. Oda, T. Hirata, R. Matsuyama, H. Matsuno, K. Tanaka, “Surface Segregation of a Branched Polymer with Hydrophilic Poly[2-(2-ethoxy)ethoxyethyl vinyl ether] Side Chains”, *Polym. Chem.* 8(3), 505–510 (2017)(査読有). DOI:10.1039/c6py01984f

[学会発表](計 11 件)

招待講演

Y. Oda, “Interfacial Properties of Vinyl Polymers with Hydrophilic Side-chains in Water”, The Polymer Society of Korea, 2018 Spring Meeting, 2018 年.

織田ゆかり, “ビニル高分子の界面設計と機能化展開”, 17-1 高分子表面研究会, 2018 年.

Y. Oda, R. Awane, M. Inutsuka, H. Matsuno, N. L. Yamada, M. Haraguchi, M. Ozawa, K. Tanaka, “Bio-inert Modifications of Polymer Films in Water Using Janus-like Macromolecules”, *Polychar2017*, 2017 年.

Y. Oda, N. Itagaki, D. Kawaguchi, H. Matsuno, K. Tanaka, “Interfacial Physical Properties of Bio-inert Polymer Hydrogel Films”, Japan-Taiwan Bilateral Polymer Symposium (JTBPS2017), 2017 年.

一般発表

Y. Oda, R. Awane, M. Inutsuka, H. Matsuno, N. L. Yamada, M. Haraguchi, M. Ozawa, K. Tanaka, “Interfacial Modifications of Thin Films by Preferential Segregation of Janus Macromolecules”, The 15th International Conference on Advanced Materials (IUMRS-ICAM 2017), 2017 年.

織田ゆかり, “界面設計に基づく高分子への生体成分の付着制御”, 日本接着学会第 55 回年次大会, 2017 年.

Y. Oda, N. Itagaki, S. Sugimoto, D. Kawaguchi, H. Matsuno, K. Tanaka, “Interfacial Properties of Thin Films of Poly(vinyl ether)s with Architectural Design in Water”, APS March Meeting, 2017 年.

Y. Oda, K. Yamamoto, D. Kawaguchi, H. Matsuno, K. Naka, K. Tanaka, “Interfacial Modification of Polymers with Elemental Blocks”, The

2nd International Symposium on Polymeric Materials Based on Element-Blocks, 2017 年.

織田ゆかり, 粟根 諒, 犬束 学, 松野 寿生, 山田悟史, 原口将幸, 小澤雅昭, 田中敬二, “ヤヌス型多分岐高分子の表面濃縮挙動による生体不活性表面の構築”, 九州地区高分子若手研究会・冬の講演会, 2016 年.

Y. Oda, R. Awane, D. Kawaguchi, H. Matsuno, K. Tanaka, “Interfacial Modification with Adhesive Poly(vinyl ether)s in Water”, KJF International Conference on Organic Materials for Electronics and Photonics 2016 (KJF-ICOMEF 2016), 2016 年.

Y. Oda, R. Awane, D. Kawaguchi, K. Tanaka, “Design of Adhesive Poly(vinyl ether)s for Lubricative Surface Modification”, 第 65 回高分子年次大会, 2016 年.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ

<http://www.cstf.kyushu-u.ac.jp/~tanaka-lab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

織田ゆかり (ODA, Yukari)

九州大学・大学院工学研究院・助教

研究者番号: 20625595