

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K12080

研究課題名(和文) ナノプレートモデルを基盤とした界面マイクロ相分離の新理論モデルの構築

研究課題名(英文) Establishment of new model of the interfacial micro-phase separation based on the nano plate model

研究代表者

村上 大樹 (Murakami, Daiki)

九州大学・先端物質化学研究所・助教

研究者番号：80588145

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：界面マイクロ相分離現象を理論的に説明するための新理論モデル構築に向け、実験により実際に相分離構造の制御が可能であることを実証した。高分子の分子量および疎水性により相分離構造を連続的に制御することに成功した。さらにそれにより生体親和性機能も変化することも確認できた。今後さらに理論計算への展開を継続して行うことで、界面構造を理論予測に基づいて制御できると期待でき、今後の医療を支える生体親和性材料の機能向上に向けた重要な成果となったと言える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、界面のマイクロ相分離を予測する新理論モデルの構築に向けて重要な実験データを蓄積することに成功した。モデル構築に向けて理論考察を継続する必要があるが、その達成によりマイクロ相分離構造の予測及び制御が容易になる。相分離構造の制御は生体親和性高分子の機能向上に直接的に繋がるため、本研究は今後の医療の向上を支えるための重要な成果になったと言える。

研究成果の概要(英文)：The control of the micro-phase separation structure on the biocompatible polymer/water interfaces was demonstrated. We successfully changed the phase separation structures by controlling the molecular weight and hydrophobicity of the polymers. Furthermore, it was confirmed that the biocompatibility of the polymers changed associated by the change of the interfacial structures. We will apply the present experimental results to the theoretical calculation. This will contribute to the expectation of the interfacial structures, and so of the biocompatibility of polymers, resulting in the development of new high performance biomaterials.

研究分野：高分子化学

キーワード：生体親和性高分子 ミクロ相分離構造 理論モデル ナノプレートモデル

1. 研究開始当初の背景

人工血管やカテーテルのようにインプラントで用いられる医療製品には高度な抗血栓性や抗菌性が求められる。対照的に例えば再生医療分野では、iPS細胞やES細胞に代表される幹細胞が特定の材料上での培養により細胞・組織への分化の方向性を制御できることが知られている。このように生体成分との親和性を制御することで機能を持たせた材料は総称してバイオマテリアルと呼ばれ、特に現在の高齢社会の中で迅速な発展が不可欠な研究分野である。

バイオマテリアルは常に生体の主成分である水と接触して使用されるため、バイオマテリアルの研究には水界面での構造・物性解析が必須である。研究代表者は優れたバイオマテリアルとして知られる高分子 poly(2-methoxyethyl acrylate) (以下、PMEA と略記) の原子間力顕微鏡 (AFM) 観察を行い、PMEA は空気界面ではほぼ完全に平滑であるのに対し、水界面では自発的・可逆的に約 50nm の微細構造を発現することを発見した (図 1)。この構造は界面で高分子と水がマイクロスケールでの相分離を起こし、高分子密部および疎部を形成した結果だと考えられている。また、この相分離構造のサイズが生体成分の吸着・凝集挙動に大きな影響を及ぼす重要な因子であることも分かっている。しかし単一成分の高分子のコーティング膜を水と接触させるだけでなぜマイクロ相分離が起こるのか、50nm というサイズはどのように決まっているのかといった根幹部分は未だ大きな疑問として残されている。

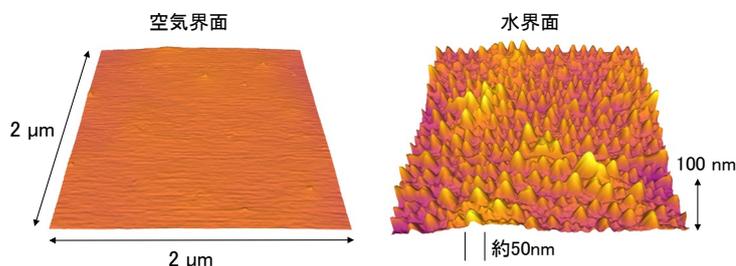


図 1. PMEA 界面の AFM 観察像

日本のバイオマテリアル研究の権威である鶴田禎二博士は 2010 年に「ナノプレートモデル」を提唱し、PMEA/水界面では水と高分子領域と非水と領域がおおよそ 3:1 の割合で存在する不均一構造を形成していることを予測している。申請者が観察した界面相分離はこの予測と良く一致しており、ナノプレートモデルの理論予測を裏付ける世界初の実験例であると言える。しかしながらナノプレートモデルは相分離の割合を予測できるが、機能発現の鍵となる相分離構造サイズについての考察は含まれていない。

2. 研究の目的

本申請研究ではナノプレートモデルを基盤として、相分離構造のサイズを考慮した新モデルを構築することを目的とする。この研究により相分離構造サイズがどのように決まるのかという核心の問いに答えを出すことが出来る。さらに相分離構造サイズの理論予測が可能になれば、材料開発の重要な指針にもなり、学術的にも工業的にも極めて大きな波及効果が期待できる。

3. 研究の方法

前述したようにナノプレートモデルは相分離の割合を予測することが可能であるが、相分離構造のサイズは理論に含まれていない。本研究では新モデル構築のため、(1)ナノキューブのサイズ、(2)ナノキューブの界面エネルギー、(3)ナノキューブの分散エントロピーを導入することを考えた (図 2)。

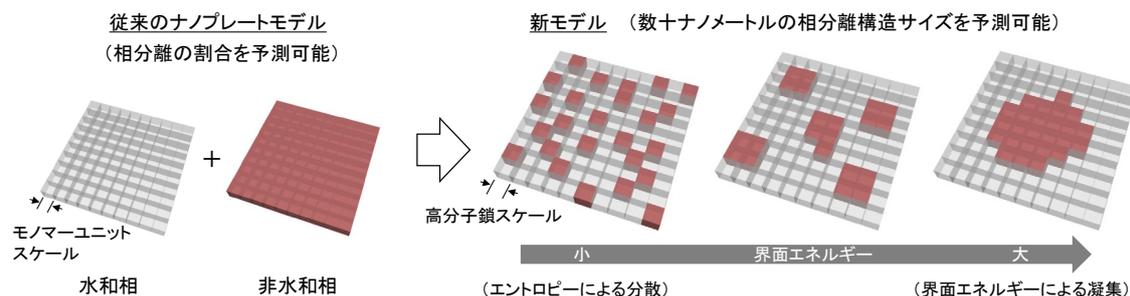


図 2. ナノプレートモデルを拡張した新モデルの概念図

ナノキューブのサイズや界面エネルギーをどのような値に設定するかは現実の系に則して決定する必要がある。(1)(2)は実験的にはそれぞれ(1)高分子の分子量、(2)高分子の疎水性を変化させることに相当する。それぞれに対応する高分子を合成し、その際の界面構造の変化を評価した。

4. 研究成果

(1) 高分子の分子量による界面構造の制御

ラジカル重合法の重合条件（モノマー/開始剤比、モノマー濃度等）を調整することにより、分子量の異なる4種のPMEAを合成した。ゲル浸透クロマトグラフィーにより決定した数平均分子量はそれぞれ19k, 30k, 44k, 183k g/molであった。それぞれのPMEAサンプルをPET基板上にスピコートし、PBS中でAFM観察を行った結果を図3(a)に示す。19k, 30k, 44kでは高分子密部サイズが分子量に伴い徐々に大きくなった。183kでは他の分子量に比べて密部サイズが明らかに大きい様子が見て取れる。複数点で測定を行い、画像解析を行った結果を図3(b),(c)に示している。高分子密部と疎部の割合はサンプル間で大きな違いはなかったが、高分子密部ドメイン1個あたりの表面積は183kで明らかに増加していた。

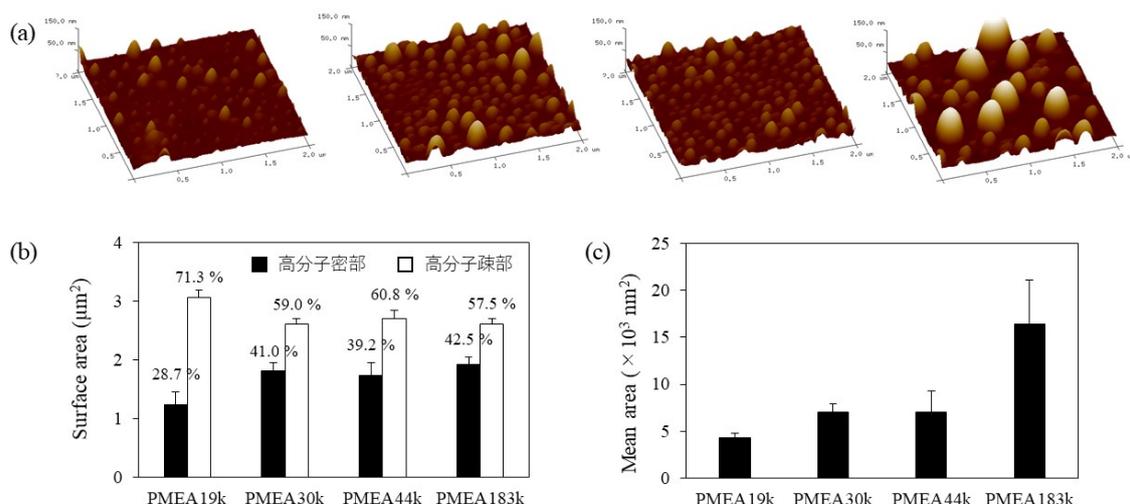


図3. 分子量の異なるPMEAの(a)高分子/PBS界面構造、(b)高分子密部・疎部の面積比、(c)高分子密部1個あたりの表面積

さらに相分離構造の変化に伴う抗血栓性の変化を評価するために、フィブリンノーゲンの吸着量および血小板の活性化に關与する γ 鎖露出度の評価を行なった。1時間PBSに浸漬したPMEA膜上にフィブリンノーゲンを吸着させ、吸着量および γ 鎖露出度をそれぞれ μ BCA法およびELISAにより評価した。その結果、フィブリンノーゲンの吸着量は分子量による大きな差は見られなかった。対照的に、フィブリンノーゲンの γ 鎖露出度は、分子量で比較するとPMEA183kでのみ有意に高い値を示していた。次いで血小板粘着数を評価したところ、PMEAで比較するとPMEA183kが最も血小板粘着数が多く、上述のELISA試験と同様の傾向を示した(図4)。

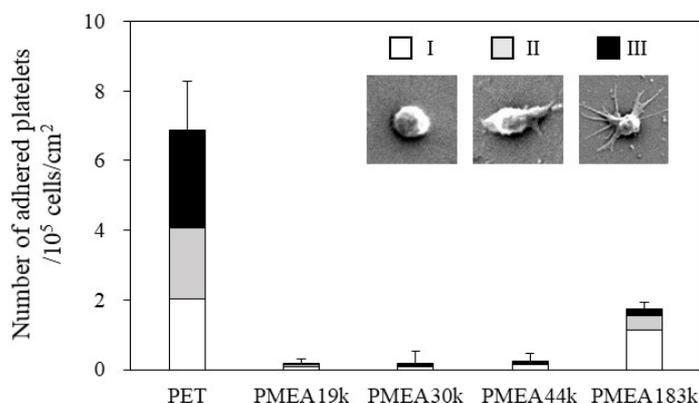


図4. 分子量の異なるPMEA上での血小板粘着数

フィブリンノーゲンは高分子密部に選択的に吸着するというこれまでの報告を考えると、吸着量は密部・疎部の表面積や割合が分子量によって大きく変化しないため有意差は見られない。し

かし、PMEA183kのように密部1つあたりの表面積が大きい場合、フィブリノーゲンが密に吸着することでクラスターを形成でき、それによりフィブリノーゲン同士が相互作用することで構造変化を引き起こしやすくなったと考察している。このように界面構造は高分子の分子量によって制御でき、それに伴って同じPMEAにも関わらず抗血栓性に違いが現れることが明らかになった。

(2) 高分子の疎水性による界面構造の制御

ここではPMEAと、その類似高分子であるpoly(*n*-butyl acrylate) (PBA)のランダム共重合体を合成することで高分子の疎水性を変化させ、界面構造の制御を行った。フリーラジカル重合によりMEAのmol%比がそれぞれ78, 47, 25のランダム共重合体P(MEA-*ran*-BA) (PMBX (X = 78, 47, 25))を合成した(図5)。PBS中での界面構造、さらにフィブリノーゲン/PBS溶液(100 μg/mL)から10分間吸着・洗浄後の界面のAFM観察を行った。測定はPeak Force Tappingモードで行い、図6にはフィブリノーゲン吸着後のPeak Force Error像を示している。Peak Force Errorはそのものに物理的な意味は持たないが、界面における構造や物性の変化を敏感に反映する。図6から、ランダム共重合の組成によってPMEAからPBAへと連続的に界面構造が変化している様子が確認された。さらにPMEAやPMB78ではフィブリノーゲン吸着無しの場合とほぼ同様の像が観察されたが、BAの共重合比が高くなりPMB47以上になると、フィブリノーゲンを吸着させていない場合には見られなかった繊維状の物質(図中白矢印)が疎部に確認されるようになった。この繊維状の物質はBA共重合比とともに高分子密部間を繋ぐように増大しているように見受けられた。この物質は界面に吸着・構造変化し、繊維状の凝集構造を作ったフィブリノーゲンだと予想される。BA共重合比が上がるほどフィブリノーゲンの吸着量、変性度は増大することも確認されている。これらの結果から、PMEAからPBAへと疎水性が増大するに伴って共重合体構造が変化し、それにより疎部でのフィブリノーゲンの吸着・変性が促進されたものと考えられる。

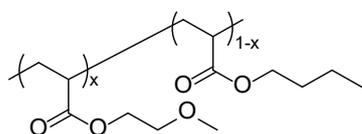


図5. PMBXの化学構造

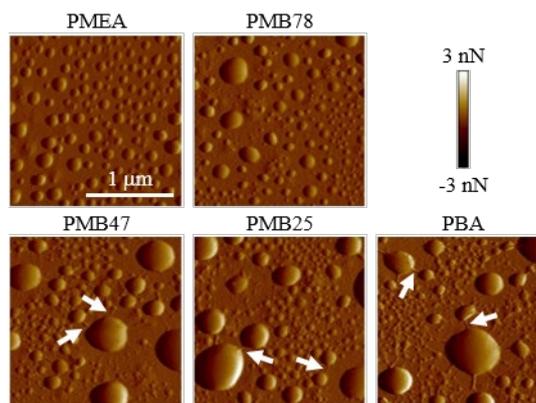


図6. フィブリノーゲン吸着後のPMBX/PBS界面のPeak Force Error像

(3) 理論モデルの構築

上記のように高分子の分子量および疎水性によって界面の相分離構造を制御可能なことが実証された。ナノプレートモデルを拡張した新モデルを構築するための実験データを取得することに成功したと言える。これらの結果を理論計算に還元して、新モデルに必要なパラメータを決定する試みを現在行っている。未だ最終到達目標には至っていないものの、当初予定に従って新モデルを構築するための成果が得られたと言え、今後更なる検討を継続していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Murakami Daiki, Segami Yuto, Ueda Tomoya, Tanaka Masaru	4. 巻 31
2. 論文標題 Control of interfacial structures and anti-platelet adhesion property of blood-compatible random copolymers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition	6. 最初と最後の頁 207 ~ 218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09205063.2019.1680930	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ueda Tomoya, Murakami Daiki, Tanaka Masaru	4. 巻 6
2. 論文標題 Analysis of Interaction Between Interfacial Structure and Fibrinogen at Blood-Compatible Polymer/Water Interface	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Chemistry	6. 最初と最後の頁 542
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fchem.2018.00542	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Murakami Daiki, Mawatari Nami, Sonoda Toshiki, Kashiwazaki Aki, Tanaka Masaru	4. 巻 35
2. 論文標題 Effect of the Molecular Weight of Poly(2-methoxyethyl acrylate) on Interfacial Structure and Blood Compatibility	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 2808 ~ 2813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.8b02971	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 3件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Daiki Murakami, Nami Mawatari, Toshiki Sonoda, Aki Kashiwazaki, Masaru Tanaka
2. 発表標題 Effect of Molecular Weight of Poly(2-methoxyethyl acrylate) on Interfacial Structure and Biocompatibility
3. 学会等名 7th Asian Biomaterial Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Daiki Murakami, Tomoya Ueda, Yuto Segami, Koki Baba, Masaru Tanaka
2. 発表標題 Analysis of interfacial structure at biocompatible polymer/water interface.
3. 学会等名 Asia Pacific Society for Materials Research Annual Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上大樹、上田智也、瀬上裕斗、馬場航希、田中 賢
2. 発表標題 PMEA / 水界面の微細構造による細胞接着性制御
3. 学会等名 第68回高分子討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上大樹
2. 発表標題 生体親和性高分子の界面構造と機能相関の研究
3. 学会等名 日本接着学会関西接着ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村上大樹
2. 発表標題 PMEA系高分子の界面構造制御と生体親和性についての研究
3. 学会等名 第47回医用高分子シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村上大樹
2. 発表標題 生体親和性高分子の界面構造による機能制御の研究
3. 学会等名 第67回高分子討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村上大樹
2. 発表標題 Analysis of Interfacial structure and Biocompatibility at Polymer/Water Interface
3. 学会等名 International Joint Symposium of CEFMS-NCTU, RCAS-AS and 5-Star Alliance (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	森田 成明 (Moita Sigeaki) (20388739)	大阪電気通信大学・工学部・教授 (34412)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------