

令和 4 年 9 月 15 日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03542

研究課題名（和文）バイオ界面の水和構造に着目した医用材料in silicoスクリーニング法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel in-silico screening method for biomaterials based on hydration water dynamics at bio-interfaces

研究代表者

植松 美幸 (Uematsu, Miyuki)

国立医薬品食品衛生研究所・医療機器部・主任研究官

研究者番号：10424813

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：医用材料中の中間水の存在と血液適合性のよさには密接な相関あることが知られている。しかしながら、材料中に水分子がどのように存在するかについては十分に知られていない。本研究では、医用材料表面近傍に存在する水分子の挙動の違いを明らかにするため、飽和含水状態のモデル材料に対するMDを降温・昇温条件下で実施した。Poly(2-methoxy-ethyl acrylate) (PMEA)は、降温・昇温条件下ともに各温度における水分子の動径分布関数が一定であり、220K以下で顕著な長距離秩序（結晶化）が確認された。この挙動は、PMEAのDSC測定で観測される中間水の凍結・融解現象に相当することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題では、温度やイオンの挙動によって水和構造を変化させることができるベタイン系ポリマーを対象とし、その水分子挙動をDSC及びATR-IRにより実測・解析するとともに、細胞挙動についても検討した。これに伴い、各測定法によって得られた材料の物理化学的特性と材料中の水分子挙動とを融合的に勘案した新規解析モデルを提案した。今後は、生体と接触する医療機器の開発において要求される生物学的安全性評価を見据えて、設計段階の材料選択に応用できるシミュレーションの開発を進めていきたい。

研究成果の概要（英文）：It is well-known that there is a close correlation between the presence of intermediate water in biomedical materials and their good hemocompatibility. However, it is little known about how water molecules exist in the materials. In this study, we have been developing a molecular dynamic simulation model for biomedical materials with saturated water content. In order to reveal the differences in the behavior of water molecules near their surface, we performed the molecular dynamic simulation under both falling and rising temperature conditions. Poly(2-methoxy-ethyl acrylate) (PMEA) showed a constant radial distribution function of water molecules at each temperature under both falling and rising temperature conditions, and a pronounced long-range ordering was observed below 220 K. Thus, the model showed cold crystallization below the temperature. We have concluded that model can represent the existence of intermediate water in PMEA observed by differential scanning calorimetry.

研究分野：レギュラトリーサイエンス

キーワード：水和構造 分子動力学シミュレーション 生体適合性評価

### 1. 研究開始当初の背景

創薬分野では、新薬探索において *in silico* スクリーニングによるリード化合物が行われており、開発の迅速化に貢献している。医療機器の開発においては、医用材料が用いられるが、生体適合性を支配する医用材料側の諸因子は十分に解明されていない。医療機器の材料選択においても、創薬のような全世界的に収集、更新されるデータがあれば、同様に開発や承認審査に役立つと考えている。そこで我々は、高分子材料の化学構造、水和状態を中心とした各種特性、並びに生体（血液）適合性に関する試験データを基礎として、優れた生体適合性を有する材料の開発支援ツールとなり得る「医用材料版 *in silico* スクリーニング法」の構築を目指し、研究を開始した。

医用材料版 *in silico* スクリーニング法の開発には、理論的解析の基礎として、血液適合性を支配する材料側の因子を選定する必要がある。近年、高分子材料の血液適合性は材料表面近傍の水和状態、特に中間水の存在量と密接に相関することが明らかになりつつあることから、特にこれに着目して、研究を進めることとした。

### 2. 研究の目的

我々は、医用材料開発支援ツールの構築を目指して、中間水の存在状況から医用材料の血液適合性を予測する分子動力的シミュレーション法の開発を行ってきた。本研究では、温度変化に伴う材料の密度変化に着目した新たな解析モデルを開発し、計算及び実測から求めたガラス転移温度 ( $T_g$ ) の相関性を指標として、その性能を検証した。さらに、温度変化に伴う材料の密度変化に着目した新たな解析を行い、飽和含水させた材料について、材料側鎖中に含まれる酸素原子に対して水素結合を形成しやすい水分子の存在位置及び確率と捕捉時間を算出することで、中間水及び不凍水の同定を試みた。

### 3. 研究の方法

材料の理論的解析では、分子動力学 (Molecular Dynamics: MD) 計算により、材料の表面近傍の水和状態を求めた。この計算は、材料用シミュレーションソフトウェア (Material Science Suite, Schrodinger Inc.) 及びワークステーション (HPC3000-XSL108TS-Silent, HPC システムズ) により行った。シミュレーションに用いた対象の材料には、中間水含有モデル化合物として、Poly(2-methoxy-ethyl acrylate) (PMEA), Poly(3-methoxypropyl acrylate) (PMC3A), 中間水不含モデル化合物として、Poly(butyl acrylate) (PBA) を選択した。各材料の構造を図 1 に示す。

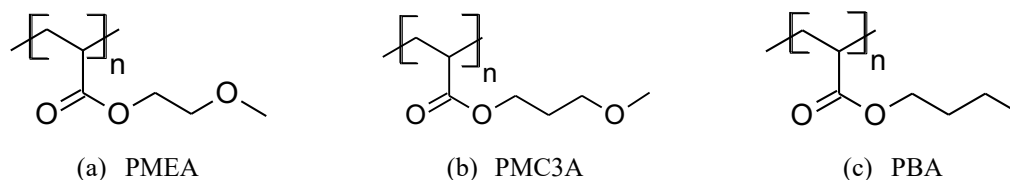


図 1. 対象としたモデル化合物

MD シミュレーションの手順を図 2 に示す。はじめに、温度 300K 下、100 量体 10 分子から成るアモルファス構造モデルを作成した。Hofmann の手法を参考として、ブラウン動力学および分子動力学の計算を組み合わせ、初期構造を決定した。これを乾燥状態のモデルとした。さらに、当該モデルに対し、Penetrant Loading により吸水率を計算し、飽和含水状態のモデルとした。Penetrant Loading はグランド・カノニカル・モンテカルロと分子動力学 (NPT) を組み合わせた計算方法であり、指定した温度と相対湿度 (水蒸気圧) の粒子浴 (水蒸気) と平衡状態を求めるツールである。ここでは、温度 300K、相対湿度 100%、最大サイクル数 100 回として設定した。温度条件に伴う材料と水分子の相互作用について検討するため、各温度条件での構造を MD 計算により求めた。密度は、乾燥状態および飽和含水状態における PMEA について、温度を 350K から 10K まで 10K 間隔で段階的に降下させた後、10K から 350K まで上昇させた。NPT アンサンブルを用いて設定温度毎に 10ns の MD 計算を行って求めた。平衡化は最後の 20% の密度変化の標準偏差 5% 以内での収束により判定した。構造の妥当性はガラス転移温度 ( $T_g$ ) の実験値との比較により行った。さらに、飽和含水状態のモデルの各温度条件におけるシミュレーションデータより、水分子のみを選択し、動径分布関数を算出し、挙動解析を行った。

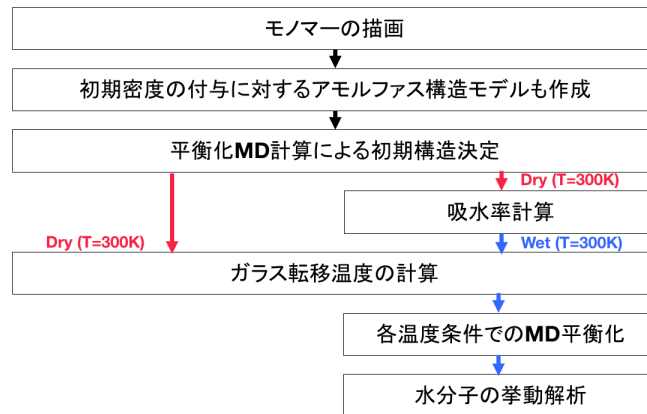


図 2. MD シミュレーションの手順

#### 4. 研究成果

(1) 乾燥状態および飽和含水状態における  $T_g$  を表 1 に示す. PMEА, PMC3A 及び PBA を対象とした解析において得られた  $T_g$  はシミュレーション値と実験値が類似しており, 含水に伴う温度下降が確認された. これらの成績から, シミュレーションに付与した各モデル化合物の立体構造は妥当であると共に, 各温度における材料と水分子との相互作用についても実測に近い挙動を示していることが示唆された.

表 1. シミュレーション値と実験値の対応

	シミュレーション値		実験値	
	Dry	Wet	Dry	Wet
<b>PMEA</b>	238K	226K	238K	222K
<b>PMC3A</b>	254K	248K	225K	219K
<b>PBA</b>	186K	185K	226K	225K

(2) 各温度条件における PMEА 近傍の水の拡散係数を計算した結果, 320K 下の拡散係数 ( $3.84 \times 10^{-11} \pm 2.36 \times 10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}$ ) と比較して, 310K では 1/2 以下 ( $1.51 \times 10^{-11} \pm 8.77 \times 10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$ ) となり, 260K までは単調に低下し ( $9.44 \times 10^{-13} \pm 1.77 \times 10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$ ), 200K ( $1.20 \times 10^{-13} \pm 2.75 \times 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$ ) に至るまで大きく変動しないことが確認された.

(3) PMEА 近傍の水の拡散係数の動径分布関数を計算した結果, 2.8-2.9Å, 4.5-4.9Å, 6.3-6.9Å の範囲に比較的強度の強いピークが観測された後, ピーク強度が減衰することが確認された. 温度条件が 260K 以上では, 7.5Å 以降でフラットな分布となる一方, それ以下の温度条件では, 7.5Å 以降でも引き続き小さな変動が生じた. 220K では, 20Å 以降においても長距離秩序が出現し, 特に 200K では顕著に観測された.

(4) PMEА のエステル結合カルボニル酸素原子から 2Å の範囲で, 温度条件にかかわらず水分子が水素結合を形成して存在した (図 3). PBA のエステル結合カルボニル酸素原子に対しても, 同様の水分子が存在することから, この水分子が不凍水であると考えられる. また, PMEА のメキシ基酸素原子近傍 (5Å 以上) に存在する水分子のうち, 水素結合を維持する水分子を探索したところ, 270K の温度条件では, 水素結合を維持する時間が短かったが, 220K, 210K と降温すると水素結合を長く維持する水分子がみられた. この水素結合を互いに維持し, 留まる水が生成されることが DSC で検出される中間水であると示唆された.

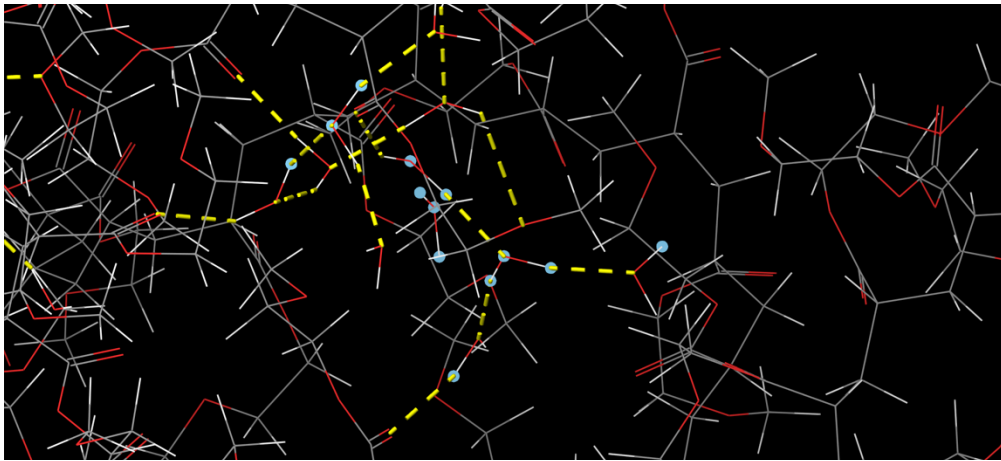


図 3.カルボニル酸素原子から 2 Å に存在する水分子(水色)と水素結合ネットワーク(黄色)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 植松美幸, 岡本吉弘, 配島由二
2. 発表標題 医用材料表面近傍の水和状態を予測する新規in silico解析モデルの開発と性能検証
3. 学会等名 第57回日本人工臓器学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 植松美幸, 岡本吉弘, 配島由二
2. 発表標題 分子動力的シミュレーションによる医用材料表面近傍の水分子の分類
3. 学会等名 第41回日本バイオマテリアル学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 植松美幸
2. 発表標題 医用材料表面近傍の水和状態予測のためのin silico解析モデルの開発
3. 学会等名 The 100th Anniversary of the Birth of Professor Teiji Tsuruta - バイオ界面における水分子の役割の解明と材料設計指針の創成・製品化へ（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 植松 美幸, 岡本吉弘, 配島由二: 配島由二 (監)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 6
3. 書名 第IV編応用 第4章 材料表面近傍の水和状態のin silico解析と生体適合性予測への応用: 無機 / 有機材料の表面処理・改質による生体適合性付与	

〔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
研究分担者	森本 展行  (Morimoto Nobuyuki)  (00313263)	東北大学・工学研究科・准教授   (11301)	
研究分担者	田中 賢  (Tanaka Masaru)  (00322850)	九州大学・先導物質化学研究所・教授   (17102)	
研究分担者	山本 雅哉  (Yamamoto Masaya)  (10332735)	東北大学・工学研究科・教授   (11301)	
研究分担者	森田 成昭  (Morita Shigeaki)  (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
---------	---------