

令和元年6月13日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K12893

研究課題名(和文) 固定化高分子鎖のベルクロ様絡み合い制御による生体環境下での界面接着・脱着

研究課題名(英文) Interfacial adhesion and deadhesion by velcro-like entanglement controls of grafted polymer chains under biological environment

研究代表者

由井 伸彦 (YUI, Nobuhiko)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号：70182665

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では電着法によってポリエチレングリコールの両末端を固定したチタン表面(ループ状表面)と片末端を固定したチタン表面(グラフト状表面)との組み合わせで生じる水中での分子鎖どうしの絡み合い現象においてポリマーの固定密度が与える影響について検討した。異なる固定密度のグラフト状およびループ状表面を用いて動的摩擦特性を解析したところ、0.1wt%のポリエチレングリコール溶液で作製したグラフト状表面とループ状表面の組み合わせにおいて特徴的なスリップ現象が観察され、ベルクロ様絡み合いには最適なポリエチレングリコール固定量が存在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

高分子鎖のベルクロ様絡み合いは、生体環境下での医療用具どうしの接着・脱着だけでなく、生体内の反応に応じて生体組織との接着・脱着を制御することにもつながる。体内に埋植した医療デバイスの組織への固定、治療過程における癒着防止など生体内での接着可逆性の獲得は潜在的にニーズが高いため、波及効果は非常に高いと言える。本研究の成果は、これまで不可能であった生体環境下での高分子鎖固定化表面どうしの安定な接着と容易な剥離を可能にする基盤技術であり、生体材料学分野における新たな接着制御法として広範囲の応用展開が期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the effect of grafted densities of polymer chains on the unique entanglement phenomenon between singly grafted and looped poly(ethylene glycol) on titanium surfaces. The densities were adjusted by the concentration of polyethylene glycol in the electrodeposition solution. Dynamic friction characteristics were analyzed using singly grafted and looped surfaces with different densities of grafted polymers, and the entanglement phenomenon was observed for the combination of singly grafted and looped surfaces fabricated with 0.1 wt% polyethylene glycol solution. This result suggests that the entanglement was enhanced by the optimum density of grafted polyethylene glycol.

研究分野：バイオマテリアル科学

キーワード：ベルクロ様絡み合い ポリエチレングリコール

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

George de Mestral は、服や愛犬にゴボウの実が付着していたことにヒントを得て、ベルクロとして知られる面ファスナーを開発した。これは、一方がループ状、他方がフック状に密生した起毛からなる表面でできており、起毛の間に働く物理的な絡み合いが大きな接着力を生み出している。このような接着機構を高分子固定化表面に応用することで、高分子鎖の絡み合いによる材料-材料間の摩擦もしくは接着の調節が期待できる。これまでに我々は親水性の高分子であるポリエチレングリコールの両末端を固定したチタン表面(ループ状表面)と片末端を固定した表面(グラフト状表面)間での水中における摩擦挙動を解析したところ(J.-H. Seo, et al., *Soft Matter*, 2015, **11**, 936)、ループ状表面とグラフト状表面との界面において独特な周期的スリップを観察した。この現象は、ループ状表面どうしやグラフト状表面どうしでは観察されなかったことから、ループ状とグラフト状の組み合わせにおいてポリエチレングリコール鎖どうしがベルクロ様に絡み合うことが期待されるが、その詳細な機構は未だ明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究課題では、ループ状およびグラフト状に表面固定されたポリエチレングリコールのベルクロ様絡み合い特性を増強し医療器具の表面改質や金属-有機物表面間の接着などに応用することを目指し、ポリマー固定密度がポリマー鎖の絡み合いに与える影響について詳細に検討した。

3. 研究の方法

(1) ループ状およびグラフト状にポリエチレングリコールを固定したチタン表面の作製

今回、電着法によってポリエチレングリコールをチタン表面に固定化した。電着を行うために直径 20 mm の工業用純チタン(JIS 2 種レアメタリック)を厚さ 2 mm に切断し、耐水研磨紙で研磨したチタン基板を作製した。またループ状およびグラフト状表面を作製するために、片末端にアミノ基を修飾したポリエチレングリコール(PEG-NH₂, 分子量 10,000)および両末端にアミノ基を修飾したポリエチレングリコール(H₂N-PEG-NH₂, 分子量 10,000)を用いた。電着溶液として、ポリエチレングリコール濃度が 0.01、0.1、0.5 wt% の 0.3 mol/L Na₂SO₄ 水溶液を調製し、1.0 mol/L の NaOH 水溶液を用いて pH 11 に調整した。電位は、ポテンショスタット(北斗電工、HA510G)、関数発生器(エヌエフ回路設計ブロック、WF1946A)により制御した。参照電極として AgCl 電極を、対極に Pt を用いた。電着は、ポリエチレングリコールを含む電解質溶液中でチタン基板にカソード電位(-3V)を 15 分間印加することによって実施した。電着後は、ポリエチレングリコール物理吸着層を除去するため、純水中で超音波洗浄を 15 分間行った。

(2) 原子間力顕微鏡 (AFM) によるチタン基板表面の粗さ測定

ポリエチレングリコール固定化基板の表面形状は、走査プローブ顕微鏡装置(島津製作所、SPM-9600)を用い、ダイナミックモードにて観察した。

(3) チタン基板間の摩擦特性評価

摩擦係数測定は、ASTM D1894 に準拠した引張試験式摩擦係数測定装置(島津製作所、AGS1000H)を使用して行った。スライドさせる側のポリエチレングリコール固定化基板を「滑り片」、テーブルに固定する側のポリエチレングリコール固定化基板を「土台」とし、引張速度 3 mm/min で摩擦回数 20 回の試験を 3 セットずつ行った。また摩擦実験は、純水中ならびに 10 mM、100 mM および 500 mM の KCl 水溶液中で行った。

4. 研究成果

(1) ループ状およびグラフト状ポリエチレングリコール固定化チタンの表面粗さ

0.01、0.1、0.5 wt% の PEG-NH₂ および H₂N-PEG-NH₂/Na₂SO₄ 水溶液を用いて電着処理を行い、6 種類のポリエチレングリコール固定化チタン表面(順に 0.01wt%PEG-NH₂、0.1wt%PEG-NH₂、0.5wt%PEG-NH₂、0.01wt%H₂N-PEG-NH₂、0.1wt%H₂N-PEG-NH₂、0.5wt% H₂N-PEG-NH₂ 表面)を作製した。これらの表面においてポリエチレングリコールがチタン表面に固

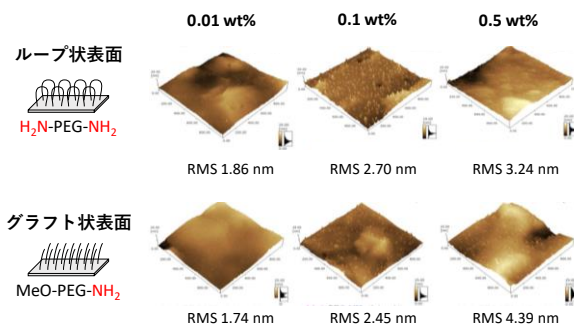


図 1. 濃度の異なるポリエチレングリコール含有電解質溶液を用いて電着処理を行ったチタン基板表面の AFM 像

定化されたことを AFM による表面粗さ解析により評価した。平滑なチタン基板表面に対して電着処理後の表面粗さが増大したことから、PEG-NH₂ および H₂N-PEG-NH₂ が表面固定されたことが示唆された。また電着時の PEG-NH₂ および H₂N-PEG-NH₂ の濃度増加によって、作製した表面の粗さが増大した。この結果は、ポリエチレングリコール濃度の増加によってポリエチレングリコールの固定化量が増加したことを示唆している。

(2) ループ状およびグラフト状ポリエチレングリコール固定化チタン表面を用いた摩擦特性評価

PEG-NH₂ を電着した表面(グラフト状表面)と H₂N-PEG-NH₂ を電着した表面(ループ状表面)を用いて摩擦実験を行った。グラフト状表面どうしおよびループ状表面どうしの組み合わせにおいて、表面粗さの違いに関わらず顕著な鋸歯状のスリップ現象を観察することができなかった。つぎにグラフト状表面とループ状表面の組み合わせによる摩擦特性解析を行った。本実験を行う上で、高密度なポリエチレングリコールの表面固定によって、グラフト状表面とループ状表面間の分子鎖絡み合いが増強し、高い摩擦係数が得られることを予想していたが、0.5wt%PEG-NH₂ 表面と 0.5wt%H₂N-PEG-NH₂ 表面を用いた場合では鋸歯状のスリップ現象は観察されなかった。これは高い密度でポリエチレングリコール鎖をグラフトした表面では、たとえばループ状ポリマー層内にグラフト状ポリマー鎖が侵入し難く、分子鎖の絡み合いが低減することを示唆している。一方で、ポリマーのグラフト密度が低いと予想される 0.01wt% PEG-NH₂ および 0.01wt%H₂N-PEG-NH₂ 表面の組み合わせにおいても同様な摩擦挙動を観察されず、結果として 0.1wt%PEG-NH₂ 表面および 0.01wt%H₂N-PEG-NH₂ 表面ならびに 0.1wt%PEG-NH₂ 表面および 0.1wt%H₂N-PEG-NH₂ 表面の組み合わせでのみ顕著な鋸歯状のスリップ現象を観察することができた。すなわち、ベルクロのようなループ状とグラフト状表面の組み合わせと適切な固定密度の調節によってポリエチレングリコール鎖の絡み合いが増強されることを示唆している。また KCl がポリエチレングリコールと配位することを利用して、ポリエチレングリコール鎖のコンフォメーションがグラフト状表面とループ状表面間の摩擦特性に与える影響について評価を行った。塩の濃度を増加させることによって摩擦係数がわずかに高まったが、いずれの塩濃度条件下においても鋸歯状の周期的スリップ現象は観察されなかった。この結果は、KCl の配位によってポリマー鎖の伸長が抑制され、ポリマー鎖間での絡み合いが低減したことを示唆している。また水中におけるグラフト状表面とループ状表面との組み合わせによって生じる鋸歯状のスリップ現象が伸展した PEG-NH₂ 鎖および H₂N-PEG-NH₂ 鎖の絡み合いに起因することが示唆された。

以上より、ポリエチレングリコールを電着したループ状表面とグラフト状表面においてポリマー固定化密度によってベルクロ様の分子鎖絡み合いが制御できる可能性が見いだされた。

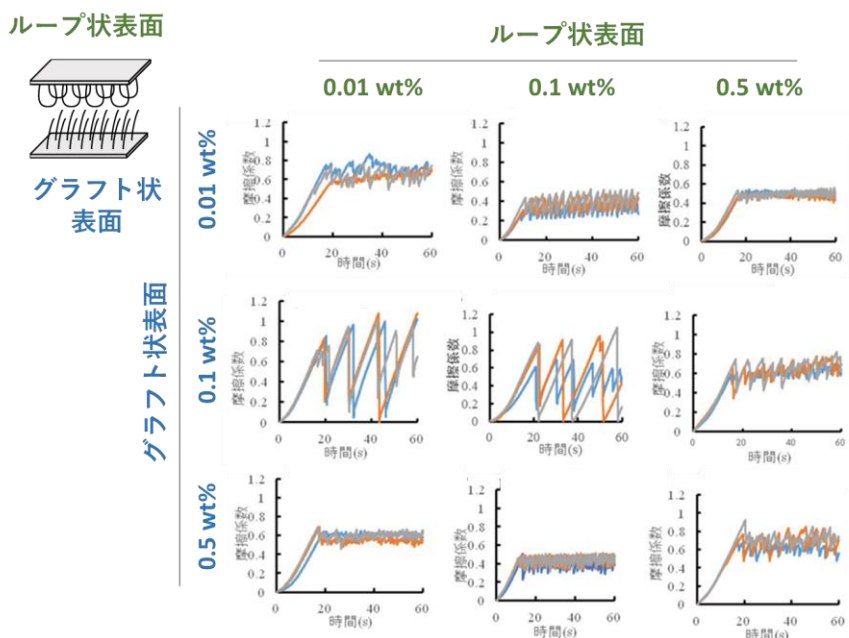


図 2. ループ状表面とグラフト状表面との組み合わせにおける動的摩擦挙動

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

- (1) Atsushi Tamura, Asato Tonegawa, Yoshinori Arisaka, Nobuhiko Yui, Versatile synthesis of end-reactive polyrotaxanes applicable to fabrication of supramolecular biomaterials, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 12 (1), 2883-2892 (2016). DOI: 10.3762/bjoc.12.287 査読あり

[学会発表] (計 8 件)

- (1) Yoshinori Arisaka, Atsushi Tamura, Yusuke Tsutsumi, Takao Hanawa, Nobuhiko Yui, Immobilization of ethylated polyrotaxanes with amino groups at both terminals onto titanium surfaces using an electrodeposition method, 3rd International Symposium on Creation of Life Innovation Materials for Interdisciplinary and International Researcher Development (iLIM-3), Tokyo, Japan, September 25th, 2018.
- (2) Yoshinori Arisaka, Atsushi Tamura, Yusuke Tsutsumi, Takao Hanawa, Nobuhiko Yui, Immobilization of polyrotaxanes onto Ti for modulating cell function, 2nd International Symposium on Creation of Life Innovation Materials for Interdisciplinary and International Researcher Development (iLIM-2), Nagoya, Japan, September 30th, 2017.
- (3) 有坂慶紀, 徐 知勲, 田村篤志, 柿木佐知朗, 山岡哲二, 由井伸彦, 細胞機能制御を指向した分子可動性ポリロタキサン表面の構築, 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム 2016, 福岡国際会議場, 福岡, 2016 年 11 月 22 日
- (4) 利根川朝人, 有坂慶紀, 田村篤志, 由井伸彦, 動的なネットワーク構造を有する細胞培養基材の構築を目指した末端架橋型ポリロタキサンの調製, 第 6 回 CSJ 化学フェスタ 2016, タワーホール船堀, 東京, 2016 年 11 月 15 日.
- (5) 山川大智, 田村篤志, 由井伸彦, 動的な作用点を有する荷電性ポリロタキサン Layer-by-Layer 薄膜の作製, 第 6 回 CSJ 化学フェスタ 2016, タワーホール船堀, 東京, 2016 年 11 月 15 日.
- (6) Nobuhiko Yui, Ji-Hun Seo, Tetsuji Yamaoka, Sachiro Kakinoki, Mitsuhi Hirata, Supramolecularly movable polyrotaxane surfaces directing stem cell differentiation, The 11th International Conference on Medical Applications of Novel Biomaterials and Nanotechnology, Perugia, Italy, June 5th to 9th, 2016.
- (7) 稲田大佳輔, 寺内正彦, 利根川朝人, 田村篤志, 山口 聡, 由井伸彦, 成長因子活性を亢進する硫酸化ポリロタキサンを基本骨格とした移植用ゲルの調製と機能評価, 第 65 回高分子学会年次大会, 神戸国際会議場, 兵庫, 2016 年 5 月 25 日.
- (8) 由井伸彦, 生体機能調節を目指したポリロタキサンの細胞内外からのアプローチ, ポリマーフロンティア 21 医療を支える機能性高分子材料の研究最前線, 東京工業大学蔵前会館, 東京, 2016 年 4 月 21 日.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：堤 祐介

ローマ字氏名：TSUTSUMI Yusuke

所属研究機関名：東京医科歯科大学

部局名：生体材料工学研究所

職名：准教授

研究者番号（8桁）：60447498

研究分担者氏名：田村 篤志

ローマ字氏名：TAMURA Atsushi

所属研究機関名：東京医科歯科大学

部局名：生体材料工学研究所

職名：准教授

研究者番号（8桁）：80631150

研究分担者氏名：有坂 慶紀

ローマ字氏名：ARISAKA Yoshinori

所属研究機関名：東京医科歯科大学

部局名：生体材料工学研究所

職名：助教

研究者番号（8桁）：70590115

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。