

バイオ界面における水分子の役割は？

—— 次世代医療を切り開く生体親和性材料

Tanaka Masaru Hayashi Tomohiro Morita Shigeaki
田中 賢¹・林 智広²・森田 成昭³

Keyword

生体適合性(biocompatibility), 血液適合性(blood compatibility), 細胞接着(cell adhesion), 水の構造と運動性(water structure and mobility), 中間水(intermediate water)

人工血管などの医療機器の多くは、プラスチックから構成されている。医療機器の性能を向上させるためには、血管が詰まる原因となる物質が付着しにくく、生体の修復を促進する、生体に優しい材料(=生体親和性材料)の開発が望まれている。

医療機器表面に血液が接触すると、血液中の水分子が医療機器表面にただちに吸着する。したがって、吸着した水分子の状態が医療機器の性能に大きな影響を与えると考えられる。ここでは、生体と医療機器との境界面である“バイオ界面”(図1)を解析するためのツール、およびバイオ界面の設計に関する最近のトピックスを紹介する。

優れた生体親和性を示す表面

これまでに親水性表面、マイクロ相分離表面、両性イオン型分子を含む細胞膜類似表面などの生体親和性が報告されている¹⁾。また、医療機器の表面処理剤として使用されているポリ(2-メトキシエチルアクリレート)(PMEA)²⁾(図2)は、血液細胞の活性化と異物反応が軽微であり、血液中に存在するタンパク質の吸着変性が少なく、吸着タンパク質が脱離しやすい特徴がある。しかし、これらのメカニズムは解明されていない。

含水した状態のPMEAの示差走査熱量計(DSC)測定の結果、水の低温結晶形成に由来する発熱ピークおよび水の低温融解に由来する吸熱ピークが観測された(図2)。含水量とDSCによる各転移における熱量から、高分子中に存在する水を①自由水、②中間水、③不凍水に分類した。ここでは低温結晶形成し、かつ低温融解する水を中間水と定義した。また、この中間

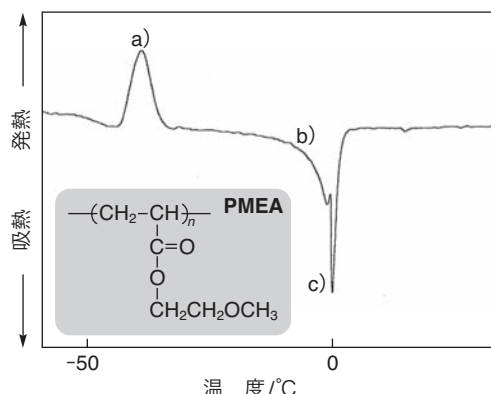


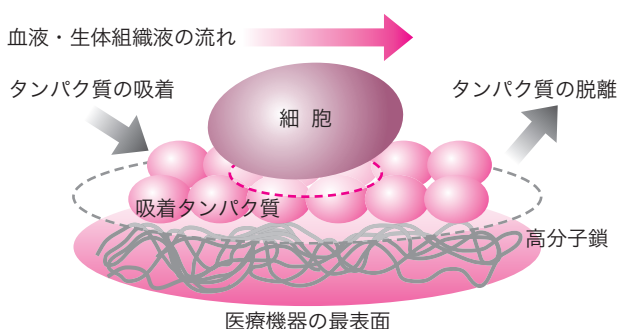
図2 飽和含水PMEAの昇温曲線

a) 水の低温結晶形成(中間水), b) 中間水の融解, c) 降温時に凍結した自由水の融解。

水は生体親和性に優れているヒアルロン酸などの多糖、ゼラチンなどのタンパク質、ポリエチレングリコール、リン脂質高分子、その他すでに医療機器に使用実績のある高分子などに共通して観測された。さらに、PMEAと同様の中間水をもつ高分子の生体親和性が報告されている²⁾。一方、生体親和性が劣るポリ(2-ヒドロキシエチルメタクリレート)(HEMA)などの高分子には、中間水は認められなかった。以上の結果から、中間水の存在が生体親和性発現のキーポイントになると推察された。

中間水の構造

時間分解赤外分光(*in situ* ATR-IR)法により、PMEAの官能基レベルでの水和構造が明らかになった³⁾。O-H伸縮振動領域には、不凍水、中間水、自由水に帰属されるバンドが、それぞれ異なる水の吸着時間で観測された(図3)。吸着初期(図3a)では、PMEA側鎖カルボニル基の水素結合バンドが現れ、不凍水はカルボニル基と水素結合していることがわかった。吸着中期(図3b)では、側鎖末端メトキシ基に帰属されるO-CH₃ロックバンドにシフトが見られたことから、中間水は側鎖末端メトキシ基と相互作用していることがわかった。吸着後期(図3c)では、バルク水と類似した水素結合構造をもつ水が吸着しており、自由水の吸着が示唆された。また、吸着中期で見られた3400 cm⁻¹付近のバンドは、自由水ほど大きなクラスターではないが、不凍水ほど孤立していない中間的な大



吸着タンパク質-細胞界面で組織化された水分子
高分子鎖-吸着タンパク質界面で組織化された水分子

図1 バイオ界面の模式図

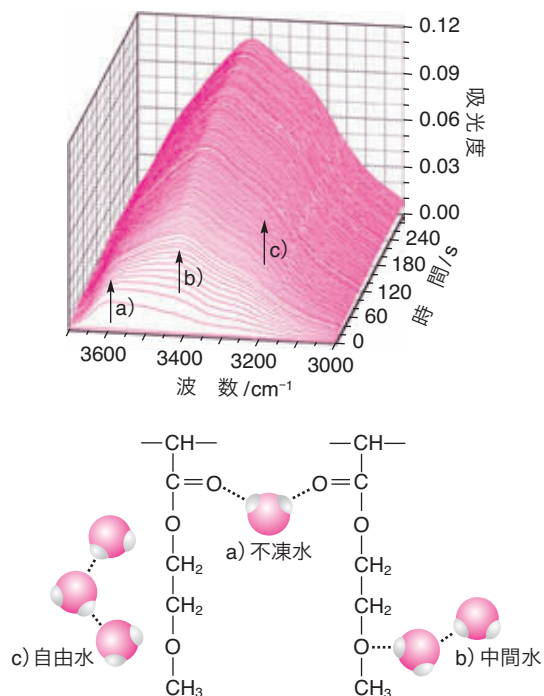


図3 PMEAに水が吸着する過程における時間分解 *in-situ* ATR-IR スペクトルの O-H 伸縮振動領域
a) 不凍水, b) 中間水, c) 自由水.

きさの水の構造を示していると考えられる.

さらに、界面選択的な分光法である和周波発生分光 (SFG) により、最表面の PMEA 側鎖カルボニル基の大部分が水分子と水素結合を形成していることがわかっている⁴⁾。近年、気液界面の分子構造と配向を解析できる SFG 装置が開発され、負に帯電したモデル膜界面における水の配向は水分子の水素が上向きであり、正に帯電した場合はその逆であることが明らかにされた⁵⁾。本手法の適用により、バイオ界面の水の配向構造の解析ができる可能性がある。

中間水の分子運動性

温度可変の ²H 固体 NMR 測定から、PMEA には、0 °C 以下でも凍結しない分子運動性の高い水 (中間水) が確認された⁶⁾。また、水分子の運動性は高分子の運動性と深くかかっていると考えられることから、高分子の温度可変 ¹³C 固体 NMR の測定を行った。生理温度においては、PMEA は主鎖および側鎖ともに 10⁸ Hz 以上の速い分子運動性を示し、一方、PHEMA は主鎖および側鎖ともに 10⁵ Hz 以下の分子運動性を示した⁶⁾。NMR, IR, SFG, 表面自由エネルギーなどの測定の結果、①高

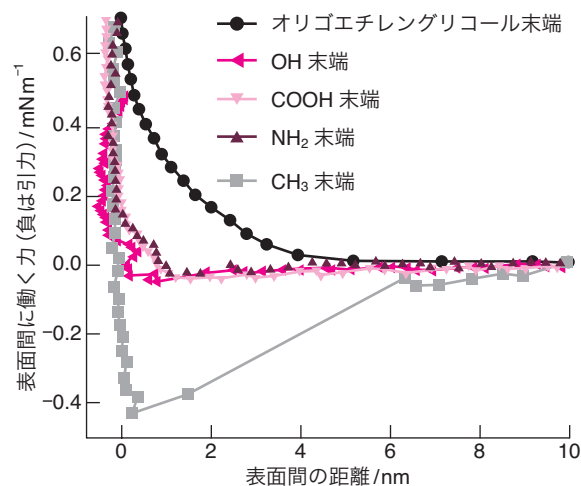


図4 AFM を用いて測定したリン酸緩衝溶液中における SAM 間に働く相互作用の距離依存性

い分子運動性をもつ PMEA 鎖に弱く束縛され、低温下でも分子運動性の高い中間水の存在、②中間水は自由水と不凍水の中間の物性、③中間水は高分子表面にも安定に存在することが示唆された。

生理環境下での医療機器の最表面の情報が入手できれば有益である。原子間力顕微鏡 (AFM) 探針にタンパク質を固定し、高分子との相互作用を検討した結果、PMEA とタンパク質の相互作用が小さいことが明らかになった⁷⁾。最近、AFM を用いてさまざまなモデル有機表面によって引き起こされる相互作用の解析も可能になっている⁸⁾。図4は自己組織化単分子膜 (SAM) 間に働く相互作用が膜の最表面の官能基に大きく依存することを示しており、タンパク質などの生体分子の吸着、血小板の接着と密接な相関があることがわかっている。今後、材料最表面の水の構造、運動性、それによってもたらされる相互作用に関する包括的な議論が待たれる。

近年、材料表面の電荷、親水・疎水性などの化学的性質のみならず表面の凹凸などの微細形状・サイズ・曲率や機械的強度などの物理的性質が細胞接着や幹細胞の運命決定に及ぼす影響についても研究されている^{9~12)}。これらの因子の上位概念に相当すると考えられる水分子の構造、運動性との相関関係が解明され、材料設計が可能になることが期待される。

【¹山形大学大学院理工学研究科・²東京工業大学大学院総合理工学研究科・³名古屋大学エコトピア科学研究所】

1) 石原一彦, 埴隆夫, 前田瑞夫 編, 『バイオマテリアルの基礎』, 日本医学館 (2011). 2) M. Tanaka, A. Mochizuki, H. Kitano, *J. Biomat. Sci. Polym. Ed.*, **21**, 1827 (2010). 3) S. Morita, M. Tanaka, Y. Ozaki, *Langmuir*, **23**, 3750 (2007). 4) G. F. Li et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 12198 (2004). 5) J. A. Mondal et al., *ibid.*, **132**, 10656 (2010). 6) Y. Miwa et al., *Polymer*, **50**, 6091 (2009). 7) T. Hayashi et al., *Biointerphases*, **2**, 119 (2007). 8) 林智広, 田中勇作, 原正彦, *表面科学*, **30**, 444 (2009). 9) A. E. Nell et al., *Nat. Mater.*, **8**, 543 (2009). 10) E. K. F. Yim et al., *Biomaterials*, **31**, 1299 (2010). 11) S. F. Majkut, D. E. Discher, *Biophys. J.*, **100**, 296a (2011). 12) A. Richter-Dahlfors, P. Kjäll, M. Tanaka, *Biochim. Biophys. Acta*, **1810**, 251 (2011).