

図3 飽和含水状態のPMEAcのDSC昇温カーブ

着した水の構造が明らかになっている²⁾。赤外スペクトルは水素結合による水の構造を反映してその形が変わるので、得られたスペクトル形状から吸着した水の構造を分子レベルで予測することができる。生体親和性材料の飽和含水状態を示す水の吸着後期では、バルク水と類似した水素結合構造をもつ水が吸着していた。また、吸着中期では、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きさの水和構造が示された。

固体NMRの温度可変測定の結果²⁾、含水した生体親和性高分子のDSC測定により観測された低温結晶形成を示す中間水が検出された。この水は、分子運動性が高いことがわかった。一方、生体親和性に劣る高分子材料に吸着した水の分子運動性は、含水率や温度に依存して大きく変化し、含水率が低く、測定温度が低いほど吸着水の分子運動性が低いことがわかった。また、水の分子運動性を支配する駆動力の一つは高分子の主鎖と側鎖の分子運動であり、これに吸着した水は高分子との協同運動をしていると考えられる。すなわち、生体親和性発現には高分子の主鎖と側鎖そのものの運動性も大きくかかわっていることが示唆された。

NMR、IR、SFG、表面自由エネルギーなどの測定の結果、(1) 高い分子運動性を有する高分子鎖に弱く束縛され、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間のものである、(3) 中間水は高分子表面にも安定に存在することが示された。つまり、中間水は、生体親和性を有する合成高分子と天然高分子に共通して観測される、自由水と不凍水の間のものであると定義できる。

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、生体親和性高分子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。高分子-タンパク質間に作用する接着力の測定をさまざまなpH、イオン濃度の溶液条件で行ったところ、高分子-タンパク質間の弱い相互作用は、疎水性相互作用・親水性相互作用、水素結合や静電的相互作用では説明できず、高分子およびタンパク質表面の中間水が物理的

なバリアーとして重要な役割を果たしていることが示唆された^{1),2)}。なお、生理環境下において、高分子表面での中間水の存在は、各種表面・界面解析・計算によって示されている^{1),2)}。

以上の結果より、これまで報告されてきた各種物性では説明がつかなかった生体親和性のより上位の指標として、中間水が位置づけられる可能性が考えられる。

5. 中間水を有する高分子

上述のような特徴を有する中間水は、以下に示す高分子に共通して観測された(表1)。

天然高分子としては、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリンなどの多糖、ゼラチン、アルブミン、チトクロームCなどのタンパク質、デオキシリボ核酸、リボ核酸などの核酸などに観測されている。

合成高分子としては、PEG、PVP、PMEA、ポリメチルビニルエーテル、ポリテトラヒドロフルフリルアクリレート、図2に示した両性イオン型高分子などに共通して観測された。一方、生体親和性が劣る高分子には、親水性、疎水性にかかわらず中間水は認められなかった。また、中間水が形成されるためには、含水状態でのガラス転移温度、水和力、分子運動性の組み合わせが重要であることがわかった。中間水は、天然高分子と生体親和性合成高分子の共通点であることから、優れた高分子材料の簡便なスクリーニング方法としても有用である。

共重合体の場合、水のプライミング効果により最表面とバルク物性が大きく異なるケースに注意が必要であるが、HEMAをベースとするアミン系モノマーとの共重合体および長崎らにより合成されたHEMAグラフト共重合体²⁾にも中間水が観測され、HEMAホモポリマーに比べて優れた血液適合性を示した。これは、少量のアミンや高分子鎖の分子運動性により、不凍水を形成している水素結合が破壊され、中間水が形成されやすくなったためと考えられる²⁾。

最近、水と高分子の界面の分子構造と配向を解析できるSFG装置が開発されつつあるので、バイオ界面の水の配向構造の解析への期待が高まっている²⁰⁾。

6. 材料の中間水量と細胞選別

超早期診断用ヘルスケアセンサの実現のためには、生体接触面での炎症の回避やシグナル/ノイズ(S/N)比の向上が必要不可欠である。このS/N比向上のためには、目的以外のタンパク質の基板への吸着、構造変化および目的以外の細胞の接着を抑制する必要がある。

これまでに知られている生体親和性材料の中でもとりわけ血液適合性高分子は、タンパク質の吸着・変性や細胞接着が引き起こされない性質を示すもので

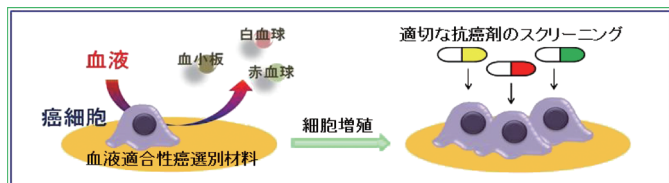


図4 血液適合性と癌細胞接着性を併せもつ高分子材料による早期癌診断・薬剤スクリーニングシステム

あった。PMEA およびその類似体は、血球細胞は接着しないが、癌細胞は接着する現象が見いだされた²¹⁾ (図4)。高分子材料に吸着するタンパク質の量および細胞接着を誘起する構造変化が、血球細胞が接着するためのリガンドであるフィブリノーゲンと癌細胞が接着するためのフィブロネクチンでは異なることが機構の一つであることがわかった²¹⁾。さらに、高分子へのタンパク質の吸着とそれにもなう構造変化は、中間水の量によって制御できることが見出された。この中間水の量は、高分子側鎖の化学構造および側鎖間隔²²⁾により制御できることが明らかにされている。

近年、国民の2人に1人が罹患する癌の早期診断技術として、血中循環癌細胞 (CTC) が注目されている。これまでに検討されてきたCTCの検出方法としては、上皮細胞接着分子 (EpCAM) に対する抗体を用いた方法が知られている²³⁾。しかし、EpCAMを喪失した癌細胞が多く、すべての種類のCTCが検出できない問題がある。また、CTCを生体外で増殖後に、抗癌剤の評価を行う場合、抗体との反応により、細胞の薬剤への応答が変化することが問題となっている。これらの課題を克服する手法として、細胞の基材への接着強度の差を利用したハイスループットな細胞選別の可能性が提案されている^{21), 24)}。最近、バイオ界面での現象を光の回折現象をはるかに超える空間分解能を有するハイスループット三次元超解像顕微鏡²⁵⁾が登場しており、含水状態でのバイオナノ空間の高解像解析が進められている。

バイオ界面水：中間水コンセプトによる材料スクリーニング技術は、医療・ヘルスケア分野のみならず、環境・エネルギー分野における汚れの付着防止技術、安全な抗菌性・抗感染性材料の設計²⁶⁾にもつながる可能性が考えられる。

7. おわりに

以上本稿では、生体親和性材料に形成される水和状態に着目したスクリーニングの例などを紹介した。優れた材料に普遍的な特徴を明らかにするためには、理論科学と実験科学を有機的につなぐ必要がある。最後に、文部科学省学術調査官の立場からの宣伝として、高分子材料に関する最近の文部科学省新学術領域には、ソフト界面 (前田瑞夫領域代表H20～H24)、融合マテリアル (加藤隆史領域代表H22～H26)、ナノメディシン分子科学 (石原一彦領域代表H23～H27)、元素ブロック (中條善

樹領域代表H24～H28)、生物規範工学 (下村政嗣領域代表H24～H28)、柔らかな分子系 (田原太平領域代表H26～H30) など、いずれの領域に関しても、材料設計に関する新しい学理の追及が行われている。材料開発における上位パラメーターに関して基礎研究が進むことにより、わが国のものづくりへの波及効果が期待できる。

文 献

- 1) a) “生体適合性制御と要求特性掌握から実践する高分子バイオマテリアルの設計・開発戦略”, サイエンス&テクノロジー (2014), b) 田中 賢ら, “バイオマテリアル-生体材料-”, **32** (2), 74 (2014)
- 2) T. Tsuruta, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, **21**, 1827 (2010)
- 3) a) M. Tanaka, T. Hayashi, and S. Morita, *Polymer J.*, **45**, 701 (2013), b) K. Haraguchi, K. Kubota, T. Takada, and S. Mahara, *Biomacromolecules*, in press, c) I. Javakhishvili, M. Tanaka, K. Jankova, and S. Hvilsted, *Macromol. Rapid Commun.*, **33**, 319 (2012)
- 4) A. Thomas, S. S. Mueller, and H. Frey, *Biomacromolecules*, in press
- 5) a) T. Xiang, R. Wang, W. Zhao, S. Sun, and C. Zhao, *Langmuir*, in press, b) J. B. Schlenoff, *Langmuir*, in press, c) X. Yu, Z. Liu, J. Janzen, I. Chafeeva, and S. Horte, *et al.*, *Nature Mater.*, **11**, 468 (2012), d) M. C. Sin, Y. M. Sun, and Y. Chang, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **6**, 861 (2014)
- 6) Y. Mei, K. Saha, S. R. Bogatyrev, J. Yang, and A. L. Hook, *et al.*, *Nature Mater.*, **9**, 768 (2010)
- 7) a) M. Chaplin, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 861 (2006), b) 上平 恒, “水の分子工学”, 講談社サイエンティフィック (1998), c) パスカル・マントレ, “細胞の中の水”, 東京大学出版会 (2006)
- 8) S. D. Bruck, *J. Biomed. Mater. Res.*, **7**, 387 (1973)
- 9) J. D. Andrade, H. B. Lee, M. S. Jhon, S. W. Kim, and J. B. Hibbs, *Trans Am Soc Artif Intern Organs*, **19**, 1 (1973)
- 10) B. D. Ratner, A. S. Hoffman, S. R. Hanson, L. A. Harker, and J. D. Whiffen, *J. Polym. Sci.*, **66**, 363 (1979)
- 11) N. A. Yamada, K. Ishikiriyama, M. Todoki, and H. Tanzawa, *J. Appl. Polym. Sci.*, **39**, 2443 (1990)
- 12) D. R. Lu, S. J. Lee, and K. Park, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **2**, 127 (1991)
- 13) J. Israelachvili and H. Wennerstrom, *Nature*, **379**, 219 (1996)
- 14) K. Feldman, G. Hahner, N. D. Spencer, P. Harder, and M. Grunze, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 10134 (1999)
- 15) K. Kataoka, H. Ito, H. Amano, Y. Nagasaki, and M. Kato, *et al.*, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **9**, 111 (1998)
- 16) K. Ishihara, H. Nomura, T. Mihara, K. Kurita, Y. Iwasaki, and N. Nakabayashi, *J. Biomed. Mater. Res.*, **39**, 323 (1998)
- 17) T. Morisaku, J. Watanabe, T. Konno, M. Takai, and K. Ishihara, *Polymer*, **49**, 4652 (2008)
- 18) J.-H. Seo and N. Yui, *Biomaterials*, **34**, 55 (2013)
- 19) a) T. Hatakeyama, A. Kishi, and M. Tanaka, *Thermochim Acta*, **532**, 159 (2012), b) T. Hatakeyama, M. Tanaka, and H. Hatakeyama, *Acta Biomaterialia*, **6**, 2077 (2010)
- 20) a) H. Kitano, *Polymer Preprints, Japan*, **63**, 27 (2014), b) S. Nihonyanagi, T. Ishiyama, T. Lee, S. Yamaguchi, and M. Bonn, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 16875 (2011)
- 21) a) T. Hoshihara, M. Nikaido, and M. Tanaka, *Adv. Healthcare Mater.*, **3**, 775 (2014), b) 田中 賢ら, 特開2012-105579 他
- 22) a) S. Kobayashi, L. M. Pitet, and M. A. Hillmyer, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 5794 (2011), b) 田中 賢ら, 特開2014-105221 他
- 23) a) H. J. Yoon, M. Kozminsky, and S. Nagrath, *ACS Nano*, **8**, 1995 (2014), b) H. Wang, G. Yue, C. Dong, F. Wu, and J. Wei, *et al.*, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **6**, 4550 (2014)
- 24) a) A. Singh, *et al.*, *Nature Methods*, **10**, 438 (2013), b) A. D. Celiz, *et al.*, *Biomater. Sci.*, in press
- 25) a) S. J. Holdena, T. Pengoa, K. L. Meiboma, and C. F. Fernandezb, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, in press, b) J. Lippincott-Schwartz, *et al.*, *Science*, **343**, 653 (2014)
- 26) a) K. Fukushima, *et al.*, *Nature Commun.*, **4**, 2861 (2014), b) 福島和樹ら, 特願2014-097237 他