

論文内容要旨 (和文)

平成25年度入学 大学院博士後期課程

バイオ工学専攻 バイオ化学分野

氏 名 佐藤 一博



論 文 題 目 高分子-水相互作用に注目した新規血液適合性材料の開発

本研究では、高分子材料が有する抗血栓性の発現機構の解明を目指し、抗血栓性高分子が含水した際に発現する、中間水と呼ばれる特徴的な水和構造と抗血栓性の関係について詳細な検討を行った。具体的には、合成が簡便であり、かつ優れた抗血栓性を発現する高分子であるポリ(2-メトキシエチルアクリレート) (PMEA)の一次構造に注目し、側鎖エチレングリコールユニット数および末端基を変更した8種類のポリ(オリゴエチレングリコール(メタ)アクリレート類) (PMEA類似体)を合成した後、高分子の一次構造と中間水量の関係を調べ、中間水量と抗血栓性の関係について検討することで、抗血栓性発現機構の解明を目指した。

第1章では、既存の血液接触型医療デバイスの課題点を挙げ、これまで合成されてきた抗血栓性高分子材料や、材料表面の物性とタンパク質吸着や抗血栓性の関係を例示し、本研究を行う意義を明確に述べた。

第2章では、高分子の一次構造に起因して発現する材料物性と中間水量の関係や、中間水量と抗血栓性との関係について本研究で議論を行うために、これまでに得られている知見を参考に分子設計したPMEA類似体を合成することを目的とした。加えて、水環境下におけるLCSTを濁度測定により解析した後、スピコート法により作製した高分子基板の表面物性を水の静的接触角測定により行った。

PMEA類似体はフリーラジカル重合により合成した。各高分子は50から90%の比較的高収率で得られたことがわかった。PEt2MAを除く7種類のPMEA類似体は、水環境下でLCSTを示したため、純水中で温度変化させた際の透過率測定によりLCSTの解析を行った結果、15から63°Cと、高分子の一次構造を変更することにより大幅に変化することがわかった。LCSTが37°C以下のPMEA類似体を用いて、PET基板上へスピコートすることで高分子基板を作製し、気相中における水の静的接触角を評価した。液滴法により水の静的接触角を測定した結果、13から86°と大きく接触角が変化したため、高分子の一次構造により材料表面の親水性が変化することがわかった。

第3章では、第2章で合成した高分子について含水試料を作製し、各高分子に吸着した水の構造をDSC測定により解析することで、高分子の一次構造と水和構造の関係について究明することを目的とした。

第2章で合成した8種類のPMEA類似体は、含水試料をDSC測定した際に昇温過程において

水の低温結晶形成が観測されたため、中間水を有する高分子であることがわかった。得られた DSC カーブから不凍水量、中間水量を算出した結果、高分子の一次構造の違いにより、形成される不凍水量や中間水量が変化することがわかった。水の低温結晶形成が必ず T_g の後に観測されていることを踏まえ、 T_g と不凍水量、中間水量の関係について検討した結果、 T_g が低下するほど各水の量は増加する傾向が得られた。この結果から、含水状態における高分子主鎖の分子運動性を調整することで、各水の量を制御できることが示唆された。

第 4 章では、水和構造解析を行った各高分子について、ヒト血小板粘着試験、micro-BCA 測定、ELISA 測定により抗血栓性を評価することで、各材料物性と抗血栓性の関係について明らかにすることを目的とした。

PMEA 類似体についてヒト血小板粘着試験を行った結果、全ての高分子上で、中間水が形成されない高分子よりも血小板粘着を抑制したことがわかった。血小板粘着数の評価結果について、各高分子の材料物性と血小板粘着数の相関性を検討した結果、各材料物性の中でも、中間水量が 0.036 g/g と少量でも存在した場合に、血小板粘着が抑制されていることがわかった。各 PMEA 類似体上で血小板粘着数が異なった理由について、高分子-タンパク質間相互作用に注目し、各基板上へのタンパク質吸着量と、血小板が粘着する部位の露出量を測定した。各基板上への血漿タンパク質吸着量は、中間水量が増加するとともに減少する傾向が得られた。しかし、血小板粘着を抑制した PEt2MA は、血小板粘着を抑制できなかった PBU2MA と同程度で血漿タンパク質が吸着した。ELISA 法により各基板上へ吸着したフィブリノーゲンの γ 鎖の露出量を検出した結果、中間水が形成される PMEA 類似体上では全て γ 鎖の露出量が少なかった。この結果から、中間水量を増減させることにより吸着したフィブリノーゲンの構造変化の度合いが制御でき、中間水量に応じた抗血栓性を発現できることがわかった。

第 5 章では、本研究を総括した。

以上本研究では、高分子の一次構造を種々変更することにより、主鎖および側鎖の分子運動性を調整すれば、高分子-水界面で発現する中間水量を制御することが可能であり、タンパク質の吸着量や構造変化を制御できるため、その水和状態に応じた抗血栓性を発現させることができるという新たな知見を得ることに成功した。

学位論文の審査及び最終試験の結果の要旨

平成28年 2月 8日

理工学研究科長 殿

課程博士論文審査委員会

主査 多賀谷 英幸



副査 阿部 宏之



副査 佐藤 力哉



副査 鳴海 敦



副査 田中 賢



学位論文の審査及び最終試験の結果を下記のとおり報告します。

記

論文申請者	バイオ工学専攻 バイオ化学分野 氏名 佐藤 一博		
論文題目	高分子-水相互作用に注目した新規血液適合性材料の開発		
学位論文審査結果	合格	論文審査年月日	平成28年 1月26日～ 平成28年 2月 8日
論文公聴会	平成28年 2月 8日	場 所	工学部3号館3-2307教室
最終試験結果	合格	最終試験年月日	平成28年 2月 8日

学位論文の審査結果の要旨

近年、我が国においては血管系の疾病が死因の中で大きな割合を占めるようになっており、血管系の疾病の解決に貢献するような血液接触型医療デバイスの開発が切望されているが、血液接触型医療デバイスに用いる材料の表面には、血液適合性の付与が最も重要な要素となる。本論文では、血液接触型医療デバイス用の機能性の高い材料開発を念頭に高分子材料が有する抗血栓性の発現機構の解明を目指し、高分子材料が含水した際に観察される水和構造に注目して詳細な検討を行った。

第1章は序論であり、新たな抗血栓性高分子材料を目指す本研究の意義が述べられている。

第2章ではこれまでに得られている知見を参考に新たに分子設計された高分子材料の合成を行った。得られた材料について下限臨界溶液温度やガラス転移温度を明らかにするとともに、スピノコート法で作製した高分子基板について、気相中における水の静的接触角や水中における気泡の静的接触角を測定し、高分子材料の一次構造や分子量と親水性などとの関係が明らかとなった。

第3章では第2章で得られた高分子材料について含水試料を作製し、高分子に吸着した水の構造を示差走査熱量測定により解析し、高分子材料の一次構造と水和構造との関係について検討した。その結果、高分子一次構造の違いにより高分子表面に形成される不凍水量や中間水量が大きく異なることが明らかとなった。それら特性とガラス転移温度との関係が見出され、高分子主鎖の分子運動性が水和構造の形成に大きな影響を与えている事が明らかとなった。

第4章では水和構造解析を行った各高分子について抗血栓性の評価を試みた。その結果、中間水量とタンパク質吸着量との関係が明らかとなり、特に中間水量/不凍水量が血小板粘着数との間で最も高い相関が得られ、優れた抗血栓性を発現する材料合成への指針が見出された。

最後の第5章は総括で、本研究の有用性が述べられている。

以上の様に、本論文では高分子の一次構造とそれにより発現する水和構造の関係を明らかにし、さらに抗血栓性に及ぼす効果を明確にした。これらの成果により高分子材料の主鎖および側鎖の分子運動性と水和構造および抗血栓性との関係が明らかになり、高分子の一次構造の設計による抗血栓性の制御の可能性を見出すなど、本論文は学術的に有意義な知見を多く含んでいる。これらの成果は欧文誌1報に主著者として掲載済みであり、主著者ではないが他に3件の発表論文がある他、国際学会でも主著者として6件の発表を行っており審査基準を満たしている。以上のことから、本論文は学術的にも工学的にも価値があるものと認め、博士(工学)学位論文として合格と判定した。

最終試験の結果の要旨

最終試験は、学位論文を中心とした40分の口頭発表、ならびに関連ある科目も含めて30分程度の口頭による質疑応答により実施した。その結果、学位論文の内容、ならびに関連科目に関する理解度は十分にあり、博士として必要とされる専門知識および研究能力を十分に備えているものと判断し、合格と判定した。