

(研究題目) 構造の規制された親水性-疎水性ブロック及びグラフト共重合体の合成と抗血栓性材料への応用  
Synthesis of Well-controlled Amphiphilic Block and Graft Copolymers and Their Application to Antithrombogenic Material

(研究者)

研究代表者：中 浜 精 一 (東京工業大学 工学部・教授)

Seiichi Nakahama, *Tokyo Institute of Technology, Professor*

協同研究者：伊 藤 浩 一 (豊橋技術科学大学工学部・教授)

Koichi Ito, *Toyohashi University of Technology, Professor*

岡 野 光 夫 (東京女子医科大学医用工学研究施設・教授)

Mitsuo Okano, *Tokyo Women's Medical College, Professor*

平 尾 明 (東京工業大学 工学部・助教授)

Akira Hirao, *Tokyo Institute of Technology, Associate Professor*

伊津野 真 一 (豊橋技術科学大学工学部・助教授)

Shin-ichi Istuno, *Toyohashi University of Technology, Associate Professor*

鈴木 憲 (東京女子医科大学医用工学研究施設・助手)

Ken Suzuki, *Tokyo Women's Medical College, Research Associate*

### 3. 英文要旨

The hydrophilic-hydrophobic block and graft copolymers are synthesized by using the protection and anionic living polymerization techniques. The surface structures of the copolymers are characterized by TEM observation, XPS and contact angle measurements to reveal the top surface structures under dry and wet conditions. Among the copolymers, very excellent blood compatibility is found for poly[styrene-*block*-(2-hydroxyethyl methacrylate)]s *in vivo* and *in vitro* experiments.

## 4. 研究成果

### 4-1. 研究目的

ヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA)−スチレンブロック共重合体は多数の材料の中で最も優れた抗血栓性を示すことが既に申請者らによって見いだされ、その医用デバイスへの応用が期待されている。本研究では明確な組成と構造を持ち、分子量の規制された親水性・疎水性ブロック共重合体、グラフト共重合体を合成し、それらのモルフォロジー、ドメインサイズ、表面構造の関係を明らかにする。さらに、これらの共重合体の抗血栓性を生体内および生体外での総合的検討をおこない、抗血栓性に及ぼす共重合体の分子設計の確立とともに抗血栓性発現の理論的解明とその評価方法を確立することを、目的とする。

### 4-2. 研究経過および成果

本研究は東京工業大学（中浜、平尾）、豊橋技術科学大学（伊藤、伊津野）、東京女子医科大学（岡野、鈴木）の3グループで協同しておこなった。1992年8月にはワシントン州立大学B.D.Ratner教授、D.Castner準教授、テルモ（株）野尻博士、千秋氏を招き、3グループの研究成果の経過報告と討論をおこなった。以下それぞれの研究グループの成果をまとめて報告する。

中浜、平尾グループでは、親水性セグメントとしてPHEMAおよびポリ（2,3-ジヒドロキシプロピルメタクリレート）（PDIMA）を、疎水性セグメントとしてはポリスチレン（PSt）、ポリオクチルスチレン（POctSt）、ポリイソブレン（PIsp）を選び6種類の組み合わせからなるジブロック共重合体を保護基を用いるアニオンリビング重合法により合成し、その表面構造を電子顕微鏡観察、接触角測定、XPS測定により解析した。その結果、いずれのas-cast膜の最表面も疎水性のセグメントで覆われていることが明らかになった。次に水中で表面構造を固定、染色することにより、ぬれたPHEMA-*block*-PStフィルム表面のTEM観察に成功し、最表面のポリスチレン層は消失し、PHEMAセグメントで覆われた球状のマイクロドメインが現われることが明らかになった。その後空气中で乾燥しても大きな変化はなく親水性のままであるが、さらに空气中90℃で加熱すると、もとのポリスチレンマイクロドメインが再び最表面を形成し疎水性表面に戻ることが確かめられた。

PDIMA-*block*-PStフィルムでは、一旦親水性になった表面はアニーリングによっても容易には疎水性表面に戻らず、PHEMA-*block*-PIspフィルムの濡れた表面は空气中で長時間放置すれば疎水性表面に戻ることが明らかになった。また、電顕観察で濡れた表面構造の変化を数秒から数分のオーダーで捉えることができた。

伊藤、伊津野グループでは、構造の明確なスチレン−HEMAグラフト共重合体を合成するため、枝成分としてマクロモノマーを用い、幹成分モノマーと共重合する方法をとった。まず、次の4種類のマクロモノマーを合成した。(1)メタクリロイル末端

ポリスチレン (2)ビニルベンジル末端ポリスチレン (3)メタクリロイル末端ポリ HEMA(PHEMA-MA) (4)ビニルベンジル末端ポリHEMA。これらマクロモノマーはスチレンまたはトリメチルシリル基で水酸基を保護したHEMAのリビングアニオン重合法により、分子量および分子量分布を制御することができた。また、末端重合性基の導入は、それぞれp-ビニルベンジルクロリド、エチレンオキシド-メタクリロイルクロリドを用いた。

上記マクロモノマーと、スチレンまたはHEMAとの共重合によってPHEMA-g-PSやPS-g-PHEMAを合成した。これら共重合において、マクロモノマーの相対反応性は、対応する低分子量モノマーにくらべて低いことがわかった。

得られたグラフト共重合体の外部環境に対する両セグメントの応答および、凝集状態を、 $^1\text{H}$ NMR、接触角の測定により解析した。その結果メタノール中ではPSを核、PHEMAを殻としたミセルを、またクロロホルム中では逆のミセルを形成していることを示唆している。接触角の測定からは、フィルムのキャスト溶媒にDMFまたはクロロホルムを用いると、PS凝集表面を、またメタノールを用いると、PHEMA凝集表面を形成することが明らかとなった。PS凝集表面をもつ共重合体を水中に漬けることで、PHEMA凝集表面に再配列することも可能であり、表面の凝集状態が外部環境に対応して変化することをあきらかにした。

岡野、鈴木グループでは、血小板が材料表面と接触した際に生起する活性化の初期過程を血小板内遊離カルシウム濃度変化に反応して変化する色素の蛍光特性から解析した。その結果、スチレン-HEMAブロック共重合体表面に接触した血小板は一過性の $\text{Ca}^{2+}$ 濃度上昇の後、その抑制が働くが、それは $\text{Ca}^{2+}$ のくみ出しによる能動的な抗血小板活性化機構によることが明かにされた。さらに親水-疎水型のマイクロドメイン構造表面は、血小板のATP代謝を伴う能動的粘着過程への移行を選択的に阻害していることも判明した。

このように長期の抗血栓性が血小板と材料の初期反応によって支配されることが明らかになり、抗血栓性材料の分子設計に新しい局面を作り出すことができた。内径3 mm、長さ7 cmのダクロンの細小人工血管を作成し、犬の頸動脈に端一端で吻合して長期に観察した。これより単分子層のタンパク質が材料表面をおおい、1年以上に渡って、このタンパク質層の厚さは変化することなく維持され、従来の内皮細胞の増殖による新生内膜化によらない、世界で初めての細小人工血管の長期開存に成功した。

#### 4-3. 発表論文リスト

中浜精一、平尾 明 (東京工業大学工学部)

- 1) D. G. Castner, B. D. Ratner, D. W. Grainger, S. W. Kim, T. Okano, K. Suzuki, D. Briggs and S. Nakahama: *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, 3, 6, 463-480 (1992)
- 2) C. Nojiri, T. Okano, H. Koyanagi, S. Nakahama, K. D. Park and S. W. Kim:

*J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, **4**, 2, 75-88 (1992)

- 3) T. Ishizone, A. Hirao and S. Nakahama: *Macromolecules*, **26**, 25, 6964-6975 (1993)
- 4) H. Mori, A. Hirao and S. Nakahama: *Macromolecules*, **27**, 1, 35-39 (1994)
- 5) H. Mori, A. Hirao, S. Nakahama and K. Senshu: *Macromolecules*, **27**, 15, 4093-4100 (1994)

伊藤浩一、伊津野真一（豊橋技術科学大学工学部）

- 6) K. Ito, K. Hashimura, S. Itsuno, E. Yamada: *Macromolecules*, **24**, 14, 3977-3981 (1991)
- 7) D. Chao, S. Tsuno, K. Ito: *Polymer J.*, **23**, 9, 1045-1052 (1991)
- 8) S. Itsuno, I. Moue, K. Ito: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1599-1601 (1991)
- 9) H. Yoshida, S. Tsuno, K. Ito: *Polym. Prep., Jpn.*, **41**, 1911 (1992)
- 10) S. Isuno, D. Chao, K. Ito: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **31**, 287-291 (1993)

岡野光夫、鈴木 憲（東京女子医科大学医用工学研究施設）

- 11) 阿部一彦、鈴木 憲、岡野光夫、櫻井靖久、菅原基晃、堀江俊伸：人工臓器、**21**, 162 (1992)
- 12) 鈴木 憲、由井伸彦、岡野光夫、櫻井靖久：人工臓器、**21**, 228 (1992)
- 13) T. Okano, K. Suzuki, N. Yui, Y. Sakurai, S. Nakahama: *J. Biomed. Mater. Res.*, **27**, 1519 (1993)
- 14) C. Nojiri, S. Nakahama, K. Senshu, T. Okano, N. Kawagoishi, T. Kido, H. Koyanagi, T. Akutu: *ASAIO J.*, **39**, M322 (1993)
- 15) 阿部一彦、鈴木 憲、岡野光夫、櫻井靖久、菅原基晃、堀江俊伸：人工臓器、**22**, 380 (1993)
- 16) 阿部一彦、鈴木 憲、岡野光夫、櫻井靖久、堀江俊伸：人工臓器、**23**, 740 (1994)