

濃厚ポリマーブラシの *in vitro*・*in vivo* 抗血栓性

(NIMS) ○吉川 千晶

緒言

わたしたちの研究グループでは、リビングラジカル重合法の設計自由度と濃厚ポリマーブラシ(CPB)の構造・物性における新規性に着目したバイオインターフェースの開発を行っている。これまでに、CPB 表面ではその「特異的なサイズ排除効果」を原理として、タンパク質の非特異的吸着が抑制されることを実証している。¹ また、タンパク質に対してバイオイナートな CPB 表面では、血管内皮細胞や繊維芽細胞など種々の細胞接着が阻害されることも確認している。² このようにバイオイナート特性に優れた CPB は血液適合性にも優れると期待されるため、本研究では CPB の抗血栓性について検討した。³ 具体的には化学組成・グラフト密度の異なるポリマーブラシを用いて、*in vitro* でヒト血漿タンパクの吸着試験およびヒト血小板粘着試験を実施し、化学組成やグラフト密度が抗血栓性に与える影響について詳しく検証した。次に、*in vitro* 試験で最も抗血栓性に優れた CPB をウサギ経静脈へ埋め込み、その血液適合性と長期安定性について確認した。

結果と考察

まず、表面開始原子移動ラジカル重合法 (SI-ATRP) によりグラフト密度の異なるポリマーブラシをシリコン基板またはシリカ微粒子上に作成した (準希薄・濃厚ポリマーブラシ)。ここでは poly(poly(ethylenoxide)methyl ether methacrylate) (PPEGMA)、poly(2-Hydroxyethyl methacrylate) (PHEMA)、poly(2-methoxyethyl acrylate) (PMEA)、poly(2-hydroxyethyl acrylate) (PHEA) の 4 種類のポリマーブラシを用いた。次に、得られたポリマーブラシ表面にヒト血小板を播種し、接着数や形状について検討した。同種ポリマーで比較すると、準希薄ポリマーブラシに比べて CPB 表面では血小板の粘着数が抑制されることが確認できた。その一方で、血小板の活性化は化学組成に大きく依存し、側鎖にヒドロキシル基を有する PHEA および PHEMA ブラシ表面では CPB 表面においても血小板の活性化が著しかった。そこで、吸着タンパク質と血小板粘着特性との相関性について調べるため、各ブラシ表面に不可逆吸着したタンパク質を回収し、液体クロマトグラフィー質量分析測定によりその種類を同定した。その結果、検出されたタンパク質の種類や数はポリマーブラシのグラフト密度のみならず、化学組成にも依存することがわかった。最も性能の良かった濃厚 PPEGMA ブラシを用い、ヒト循環血液 (拍動流速 40-120 ml/min) を用いた血小板粘着試験を実施した。ここでは SI-ATRP により、フッ素系 (FEP) フィルム上に濃厚 PPEGMA ブラシをグラフトして用いた。未処理の FEP フィルム上では血小板の粘着・活性化によるフィブリン形成がみられるのに対し、濃厚 PPEGMA ブラシをグラフトしたフィルム表面には血小板はほぼ粘着しないことが確認された。最後に、生体内における血液適合性および長期安定性について検証するため、動物実験を実施した。SI-ATRP により濃厚 PPEGMA ブラシをカテーテル表面 (FEP) にグラフトし、約 1 か月間、ウサギ頸静脈に埋め込んだ。未処理のカテーテル表面が血栓で覆われているのに対し、濃厚 PPEGMA ブラシ表面では血栓の形成はほとんど認められなかった。以上、CPB はその長期安定性と優れた血液適合性から、抗血栓性を必要とする様々な医療デバイスへの展開が期待できる。

参考文献

1. Yoshikawa, C.; Goto, A.; Ishizuka, N.; Nakanishi, K.; Kishida, A.; Tsujii, Y.; Fukuda, T. *Macromol. Symp.* 2007, *248*, 189–198.
2. Yoshikawa C.; Qiu, J.; Huang, C.; Shimizu, Y.; Suzuki J.; van den Bosch, E. *Colloid and Surfaces Part B: Biointerfaces* 2015, *127*, 213-220.
3. Yoshikawa, C.; Hattori, S.; Huang, C.; Kobayashi, H.; Tanaka, M. *J. Mater. Chem. B* 2021, *9*, 5794-5804.

In Vitro and *In Vivo* Blood Compatibility of Concentrated Polymer Brushes, Chiaki Yoshikawa: Research Center for Macromolecules and Biomaterials. National Institute for Materials Science, 1-2-1 Sengen, Tsukuba, Ibaraki 305-0047, Japan, Tel: 029-860-4717, E-mail: YOSHIKAWAChiaki@nims.go.jp