

表面・界面・情報科学の融合による 抗付着性コーティング材料の設計

林 智 広*

1. はじめに

現在、医療用生体材料は高分子、金属、セラミクスを中心に、用途に応じて多様な材料が日々開発されている。人体内に導入されるインプラント、人工組織、臓器、あるいはドラッグデリバリーのキャリアなど、開発されるデバイスを構成する材料は多岐にわたる⁽¹⁾。これらの材料は生体組織・細胞、生体分子との適切な相互作用(生体適合性・親和性)に加え、機械特性(耐摩耗性・剛性など)、化学的特性(化学的安定性、生分解性など)など、複数の特性・機能も同時に併せ持つ必要がある。バイオデバイス・材料に複数の機能を付与する手段として、表面のコーティング(被覆)は非常に強力な手法である。例えば金属製ステントの高分子によるコーティングは、血液適合性をステントに付与する。また、バイオセンサーにおいては、高分子膜・単分子膜の非特異的な吸着を防ぐコーティングによって、ターゲット分子以外の分子のセンサー表面への吸着を抑制し、ターゲット分子への選択性を高め、結果としてセンシングの精度を向上させることが出来る。このように有機物あるいは無機物によるコーティングにより、化学的安定性、撥水性など様々な機能を材料に持たせることが出来る。

様々な表面特性のなかでも、生体組織・細胞との親和性に関しては、そのメカニズムに関して不明な点が多く残されている。特に、抗付着性(ここでは抗タンパク吸着・抗細胞接着特性を指す)に関しては、水中における相互作用が複雑であり、さらに吸着・接着の振る舞いが生体分子、細胞の種類によって異なることから、目的に応じた適切な表面設計をすることが困難である場合もある⁽²⁾。

本稿では金属、酸化物表面の有機物によるコーティング方法の1つである自己組織化単分子膜(Self-assembled monolayers: SAMs)に関して、その抗付着性(抗タンパク質吸着・抗細胞接着特性)のメカニズムに関して述べる。また、機械学習を用いたタンパク質吸着特性の予測、さらには実際に応用されている高分子材料への展開に関する近年の研究成果に関して紹介したい。

SAMsは基板-分子および分子間相互作用によって、分子が自発的に高秩序な構造を形成することを利用した表面コーティングの手法である[図1(a)]。特に単結晶金表面上に作製したアルカンチオール(SAMs)は、図1(b)の走査型トンネル電子顕微鏡像から明らかなように、膜内でアルカンチオール分子が周期的配列を持ち、高密度に集積していることが分かる。また、実際に利用されることが多いSi、ガラスなどを基板とした金の多結晶表面においても、アルカンチオール分子は同様に高密度で集積することが明らかとなっている。SAMsの長所は末端基の異なる分子を用いることで、表面

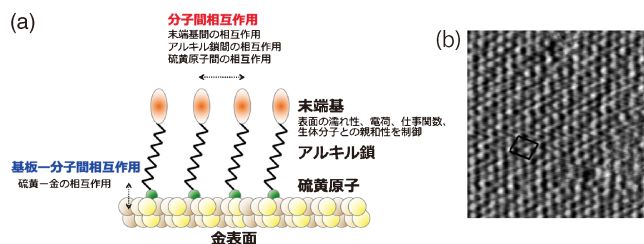


図1 自己組織化単分子膜の模式図(a)と(b)走査型トンネル電子顕微鏡(STM)像(測定領域のサイズは10×10 nm)。STM像内の四角は分子集積構造の単位格子を示す。(オンラインカラー)

* 東京工業大学物質理工学院材料系; 准教授(〒226-8502 横浜市緑区長津田町4259 G1-10)
Design of Anti-biofouling Coatings Based on the Fusion of Surface & Interface Science and Informatics; Tomohiro Hayashi* (Department of Materials Science and Engineering, School of Materials and Chemical Technology, Tokyo Institute of Technology, Yokohama)
Keywords: anti-biofouling, biomaterials, atomic force microscopy, surface & interface science, machine learning, Informatics, artificial neural network, protein-resistance, self-assembled monolayers (SAMs), polymer blush
2022年7月4日受理[doi:10.2320/materia.61.765]

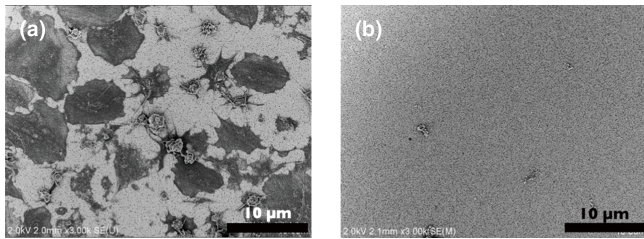


図2 (a)メチル基末端, (b)オリゴエチレングルコール(OEG)末端SAMへの血小板細胞の粘着試験結果。(オンラインカラー)

の物理化学的特性を自在に制御することが可能である点である⁽³⁾。

一般的に抗付着性を示す末端基として, オリゴエチレングルコール(OEG), 糖類などの非イオン性の官能基, ベタインなどの双性イオン型の官能基が挙げられる。これらの官能基は化学構造が全く異なるにもかかわらず, 同様に高い抗付着性を示すことが非常に興味深い⁽²⁾。図2にSAMsへの血小板粘着実験の例を示す。図2(a)はメチル基を末端に持つチオール分子のSAMに血小板細胞を含む血漿を接触させた後に電子顕微鏡測定を行った結果であるが, 無数の接着物が観察される。これらは血小板細胞であり, それらの多くは活性化して, 周囲の血小板と結合し, 血栓形成の初期段階にあることが分かる。一方で, 図2(b)のOEG末端基を持つSAMでは粘着した血小板はほとんど確認出来ず, これはSAMの血小板適合性が高く, 血小板細胞の粘着・活性化を誘起しないことを示している⁽⁴⁾。

上記の結果は, 末端基の種類によって, 細胞とSAMsの界面相互作用が全く異なることを示しており, 抗付着性を持つ単分子膜は生体分子, 細胞に対して反発力を作用していると予想できる。そこで我々は原子間力顕微鏡(AFM)を用いた表面間力測定によって, SAMsが引き起こす界面相互作用の定量的な解析を試みた(図3)。ここでは, 測定における感度の向上, 相互作用の定量的な解析のために, マイクロスケールサイズのシリカコロイドをカンチレバー先端に固定したコロイドプローブを使用した(図3(a)上)。表面間力測定においては, 基板, コロイドプローブ双方に金の蒸着, SAMsの形成を行い, リン酸緩衝生理食塩水中での表面間力測定を行った(図3(b)上)。

まず, 抗付着性をもたないSAMsの表面間力測定結果について述べる。疎水性SAM(C8)間には6nm程度の表面間距離から, 疎水性相互作用とvan der Waals相互作用による引力が観測された。また, 親水性SAMであるスルホン酸基(SA), トリメチルアミン基(TMA)基を有するSAMでは0.2~2nmの距離においてvan der Waals引力のみが観測された。一方, 抗付着性を有するOEG末端, スルホベタイン(SB)には, 引力相互作用は観察されず, 表面間距離5nm程度から斥力が観測された。この斥力の減衰長は1.5nm程度であり, 溶液のデバイ長(0.7nm)よりもはるかに長いことから, 電気2重層による斥力とは考えられない。筆者ら

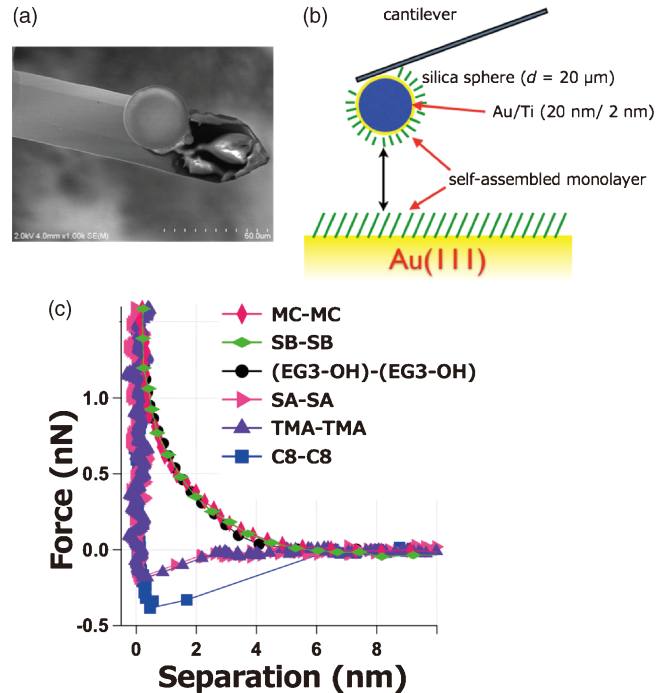


図3 (a)シリカコロイドを原子間力顕微鏡カンチレバーの先端に固定したコロイドプローブの電子顕微鏡像, (b)表面間力測定の様式図, (c)リン酸緩衝生理食塩水中で測定したSAMs間に働く表面間力測定の結果(表面間力-距離曲線)。(オンラインカラー)

は水分子間の水素結合状態に変化を与えるエタノールを加えることによって, この斥力が消失したことから, この斥力はSAMと水の界面に存在する界面水分子に因るものであると結論した。上記の実験を系統的に行うことにより, 界面水分子による反発力と抗付着性の相関が明確となり, 筆者らは抗付着性SAMに共通して存在する界面水分子の障壁が生体分子, 細胞の接近を防ぎ, 抗付着性特性を発現していると結論した⁽⁵⁾⁻⁽⁹⁾。最近, 筆者らは表面選択的な振動分光である, 表面増強赤外分光法による水素結合状態の解析, 周波数変調型AFMを用いた, 界面水分子の可視化など様々な手法で, 抗付着性SAMが持つ界面水分子の特殊な水素結合状態の解析を行っている⁽⁷⁾⁽¹⁰⁾。

田中らは示差走査熱測定を用いて, 高分子近傍の水を不凍水, 中間水, 自由水の3種類に分類し, 血液適合性が非常に高いPoly(2methoxyethylacrylate)(PMEA), Poly(ethyleneglycol)(PEG)などの高分子材料の水和水には中間水が多いことを発見した。我々の赤外分光法を用いた分析結果も, PEG, PMEAと抗付着性を有するSAMsの水和水の水素結合状態の類似性が確認されている⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹¹⁾。表面間力測定による界面の水分子が引き起こす相互作用, 振動分光法による界面水分子の水素結合状態の解析は, 抗付着性発現における界面水分子の重要性を示しており, 界面水分子の挙動の制御が抗付着性材料の開発に肝要であることを示している。

2. 生体材料に対する生体分子・細胞の応答データを取得するためのプラットフォーム

前述のように、抗付着性と界面の水分子の関係が明らかになりつつある。一方で、望むべきタンパク質・細胞との相互作用を示す材料の設計は、依然として試行錯誤的な手法、セレンディピティーに依存する場合が多い。そのような状況を打開するために、近年では情報科学の手法を用いた材料設計が注目されている。特に機械学習を用いて、材料の化学構造とその機能の相関を解析する手法[一般的には定量的構造物性相関 QSPR: Quantitative Structure – Property Relationships)と呼ばれる]は固体触媒、バッテリーの電極材料などの固体材料の開発において成果を挙げている。一方でバイオマテリアル分野での情報科学的手法の応用例は少ない^{(12)–(14)}。

固体材料開発においては、機械学習に用いる大規模で系統的かつ網羅的なデータセットを第一原理計算などの計算科学によって構築可能である。一方、生体材料開発においては、材料に対するタンパク質の吸着、細胞の接着、組織応答を計算科学で求めることは不可能であり、どうしても実験データを基にデータセットを構築する必要がある。このことから、効率的な材料の化学組成と材料に対する生体分子細胞・組織の応答に関するデータの取得が要求される。ここでは単一の基板上に2種類の異なる末端基を持つチオール分子の組成が場所によって連続的に変化する基板(傾斜基板)をデータ取得に応用した例について述べる(図4)。図4では抗付着性・親水性を持つOEG基末端、疎水性でタンパク質・細胞を接着するメチル基末端を持つチオール分子で構成される傾斜基板を用いた例を示す。表面における分子の集積構造、血小板の粘着・活性化の特性は、2つの分子の割合によって大きく異なることが分かる。この基板に対し、タンパク質吸着実験、細胞接着実験を行うことで、大量のデータを一度に取得することが可能となる。さらに、異なる分子の組み合わせを用いて基板の作製・データの収集をすることで、網羅的な

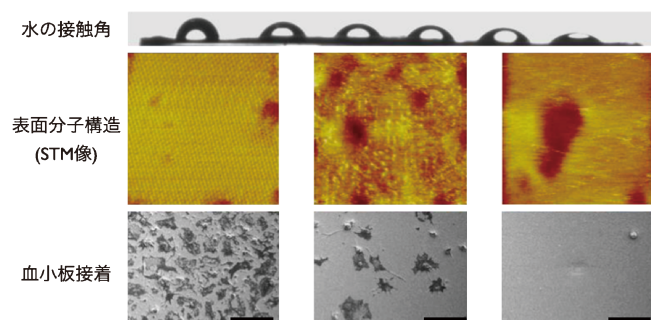


図4 2種類のチオール分子の組成が基板上で連続的に変化する傾斜基板を用いた水の接触角(上), STMによる表面分子構造(中), 血小板粘着(下)実験の例。基板の右側に行くほどOEG基末端のチオール分子の割合が高くなる。(オンラインカラー)

データセットを構築することができる。

このようなコンビナトリアル的手法の特筆すべき長所は、同一の条件で調整したタンパク質、細胞を用いてデータを取得出来ることである。バイオ実験の特有の生体分子・細胞のサンプルのロット間の違い、細胞の播種までの培養条件などの違いなどによるデータのばらつきを最小限に抑え、“品質の良い”データセットを構築できる点である。

3. 機械学習を用いた抗付着性材料の設計

ここでは上述のように取得されたデータを用いて、単分子膜を構成する分子の化学構造から、タンパク質の吸着量を予測する回帰モデルの構築について述べる。与えられた条件(説明変数)から結果(目的変数)を求めるには、様々なアルゴリズムが存在する。データセットのサイズ・特徴、説明・目的変数の数などによって、最適なアルゴリズムは変わってくることから、研究者はその都度、アルゴリズムの選択、および回帰モデルを記述する様々な条件(ハイパーパラメータと呼ばれる)の組み合わせの最適解を網羅的な調査によって見つけ出す必要がある。

図5にSAMを構成する分子構造から水の静的接触角、タンパク質吸着量を予測した例を示す。様々なアルゴリズムを用いた回帰モデルの比較の結果、人工ニューラルネットワークモデルが、予測の正確性という観点から最も適したアルゴリズムであることが分かった。図5(b, c)から明らかなように、学習(訓練)後のニューラルネットワークは単分子膜の水

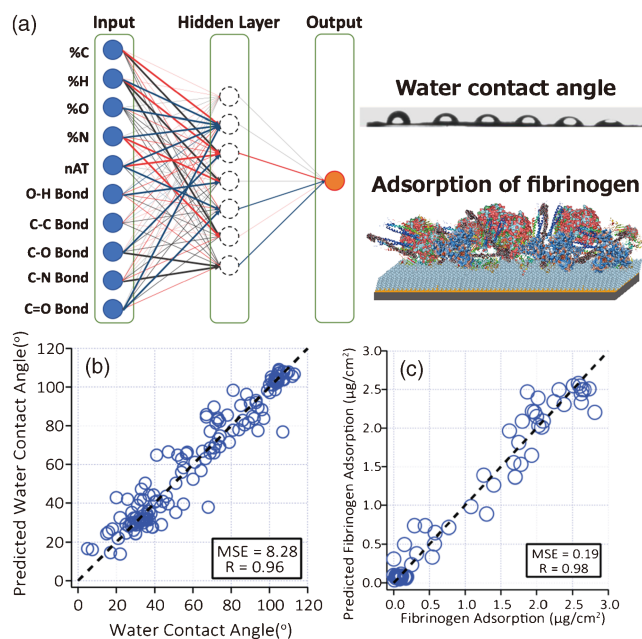


図5 (a) SAMsを構成する分子の化学構造からタンパク質吸着量を予測するために用いた人工ニューラルネットワークモデル。機械学習を用いて分子の化学構造から予測したSAMsの接触角(b), タンパク質(フィブリノーゲン)吸着量(c)と実験値との比較⁽¹⁵⁾。(オンラインカラー)

