

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造解析とその医用分野への応用
Title(English)	
著者(和文)	千秋和久
Author(English)	
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:乙第3325号, 授与年月日:1999年6月30日, 学位の種別:論文博士, 審査員:
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:乙第3325号, Conferred date:1999/6/30, Degree Type:Thesis doctor, Examiner:
学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

学位論文

親水性-疎水性ブロック共重合体の
表面構造解析とその医用分野への応用

千秋 和久

目次

第1章	序論	1
第2章	合成方法の異なる2種類の2-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の表面構造	
2-1	はじめに	22
2-2	試料と実験	25
2-3	アニオンリビング重合で合成されたpoly(HEMA- <i>b</i> -styrene- <i>b</i> -HEMA)のTEM観察による表面構造解析	33
2-4	テレケリックポリマーの付加反応から合成されたpoly(HEMA- <i>b</i> -styrene- <i>b</i> -HEMA)のTEM観察による表面構造解析	40
2-5	静的接触角測定によるpoly(HEMA- <i>b</i> -styrene- <i>b</i> -HEMA)の表面構造解析	45
2-6	動的接触角測定によるpoly(HEMA- <i>b</i> -styrene- <i>b</i> -HEMA)の表面構造解析	50
2-7	結論	56
第3章	HEMA/イソプレンブロック共重合体の表面構造とその環境応答性	
3-1	はじめに	59
3-2	試料と実験	60
3-3	poly(HEMA- <i>b</i> -Isoprene)のTEM観察による表面構造解析	64
3-4	poly(HEMA- <i>b</i> -Isoprene)の接触角測定による表面構造解析	73
3-5	poly(HEMA- <i>b</i> -Isoprene)のXPS測定による表面構造解析	78
3-6	結論	83
第4章	2, 3-ジヒドロキシプロピルメタクリレート (DIMA)/イソプレンブロック共重合体の表面及びバルクの構造解析	
4-1	はじめに	85
4-2	試料と実験	90

目次

		92
4-3	poly(DIMA- <i>b</i> -Isoprene)のTEM観察による表面及びバルクの構造解析	102
4-4	結論	
第5章	ポリ(4-オクチルスチレン)を疎水性成分とするブロック共重合体の表面構造解析	104
5-1	はじめに	105
5-2	試料と実験	109
5-3	poly(HEMA- <i>b</i> -4-octylstyrene)のTEM観察による表面構造解析	115
5-4	poly(DIMA- <i>b</i> -4-octylstyrene)のTEM観察による表面構造解析	120
5-5	結論	
第6章	HEMA/4-(7'-オクテニル)スチレンブロック共重合体のモルフォロジーと環境変化に応答した表面構造の再構築との関係	122
6-1	はじめに	123
6-2	試料と実験	128
6-3	poly[HEMA- <i>b</i> -4-(7'-octenyl)styrene]の接触角測定による表面構造解析	131
6-4	poly[HEMA- <i>b</i> -4-(7'-octenyl)styrene]のTEM観察による表面構造解析	141
6-5	poly[HEMA- <i>b</i> -4-(7'-octenyl)styrene]のXPS測定による表面構造解析	146
6-6	結論	
第7章	種々の親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造の比較	148
7-1	はじめに	
7-2	親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造に対する親水性成分の化学構造の影響	152
7-3	親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造に対する疎水性成分の化学構造の影響	158
7-4	結論	161

第8章	親水性-疎水性ブロック共重合体の血液適合性とその人工血管への応用	
8-1	はじめに	164
8-2	poly(HEMA- <i>b</i> -styrene- <i>b</i> -HEMA)を内面にコーティングした人工血管の 長期開存性	168
8-3	親水性-疎水性ブロック共重合体の血液適合性	176
8-4	親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造と血液適合性との関係	184
8-5	結論	186
8-6	実験	187
第9章	総括	197
List of Publication		202
謝辞		205

第1章 序論

人類は天然高分子と共に長い歴史を歩んできた。生命そのものである化合物、即ち多糖類・タンパク質・核酸も天然高分子のひとつと考えると、我々に衣・食・住を提供してくれているだけでなく分子レベルで遺伝を制御している重要な材料である。一方、合成高分子はこれに比べるとわずか60～70年の歴史であるが、急速な勢いで我々の生活に入り込んだ。特に石油化学工業の発展に伴ったこの30～40年間の高分子工業の進歩は著しいものであり、天然高分子の代替品としてだけではなく合成高分子ならではの多種多様な機能を有する高分子材料が生み出され、科学技術の発展に貢献してきた。更に近年では金属やセラミックスなどとの複合化に対しても研究が進み、各材料の特徴を合わせ持つような高付加価値素材も創製されている。このような時代に生活する我々は、常に合成高分子に囲まれていると言っても過言ではないだろう。

合成高分子は日常生活のみならず、医療分野に対しても大きく貢献している。診断や患者のケアの面では、従来ガラス製であった注射器がプラスチック製に入れ替わり、ディスポーザブル化されたことで病院側には滅菌作業の軽減、患者側には感染防止という大きな利点が生まれた。また点滴の際に使用される薬液ボトルがガラス製からプラスチック製に替わったことで、操作性の向上・落下時の破損防止・クローズドシステムの構築などが実現可能になった。さらには、治療を目的とした高機能カテーテルの素材としても合成高分子は利用されており、さまざまな医療器具の研究・開発が行われている。

合成高分子は医療用具素材としてだけでなく、人工臓器を構成する材料としても医療分野に貢献している。コンタクトレンズのように身近なものから、複雑なシステムである埋め込み型人工心臓に至るまでその適用分野は幅広く、人工臓器の中で合成高分子を利用しないものはないに等しい。現在実用化されている医療用具や人工臓器とそれらの素材の一覧を表1-1にまとめてみた。実にさまざまな人工臓器が高分子によって支えられていることは明らかであろう。しかし、ここ

で用いられている高分子材料はそのほとんどが工業用汎用材料として開発された素材であり、医用材料（バイオマテリアル）として分子設計されたものではない。高度な治療・生体に優しい治療が強く望まれている今、現存するバイオマテリアルのかかえる問題点を再認識し、真の意味での高機能化されたバイオマテリアルの材料設計への指針と方法への取り組みが必要であろう。

バイオマテリアルとひとことに言っても、材料の要求される機能によってさまざまな種類に分類することが可能である。例えば、生体組織との親和性に優れた材料、血液を凝固させない材料、ドラッグデリバリーシステムやバイオセパレーターに応用できるような材料などが挙げられる。その中で最も高機能化の要求が強く、且つ研究が進んでいる領域が血液を凝固させない材料、即ち血液適合性材料の分野である。

そこで血液適合性材料に注目してみよう。生体は異物を敏感に認識してそれを排除しようとする自己防衛反応を示す[1]。特に血液においては、異物が認識されると凝固因子のカスケード反応が始まり、不溶性フィブリンの生成や血小板凝集による白色血栓が形成され、最終的に典型的な赤色血栓が形成される[2]。この赤色血栓が人工臓器にとっては大きな問題である。例えば人工血管の場合、形成された血栓は流路を塞いでしまい血液を通過させるという初期の目的を達成できなくするだけでなく、微小血栓が血流と共に体内へ散布され、脳のような主要臓器の毛細血管を閉塞させ、最終的には死に至ることも決してまれではない。このような赤色血栓の形成を抑制できる材料が血液適合性に優れた材料と呼ばれるものである。

血液適合性に関する研究は非常に数多く、現在までにも実にさまざまな血液適合性材料が創製されてきた。血液適合性材料をその機能発現のメカニズムから分類すると、1)偽内膜形成型、2)血栓形成抑制型、3)血栓溶解型の3つに大きく分類することができる。

偽内膜形成型表面は血液と接触した初期において適度に凝固因子系や血小板の活性化を誘起させ、その表面上に薄い血栓膜を形成させる。この血栓膜を足場として内皮細胞が生着・増殖し、

抗血栓性を示すものである。これは材料自体が抗血栓性を示すのではなく、むしろ血栓形成をさせることが必要条件であり、主には内皮細胞という生体の助けを借りて初めて機能を発現する、いわゆるハイブリッド型抗血栓性材料とも言えるであろう。延伸ポリテトラフルオロエチレン(Gore Tex®)やダクロン®はこの種の代表的な材料であり、動脈系の優れた人工血管として臨床応用されている。この材料の欠点は、初期に血栓膜を形成するために静脈系や小口径の人工血管としては、ほとんどの場合、内皮細胞の生着の前に閉塞してしまう。この解決策として、埋入前に人工血管内に内皮細胞や骨髄細胞を播種したハイブリッド型人工血管[3, 4]が開発され、優れた性能を示しているが、免疫系の問題を含んでおり臨床段階には至っていない。

血栓形成抑制型は更にふたつに分類される。ひとつは血小板活性抑制型、もうひとつは凝固因子活性抑制型である。血小板は血栓形成に重要な役割を果たしていることから材料表面に血小板の粘着・機能変化を抑制させる特性を表面に付与することで抗血栓性を発現させるものが血小板活性抑制型である。これについては後で詳細に述べるが、表面にミクロ均質構造を有する材料[5-7]や、リン脂質構造を有する疑似生体膜表面[8]、ポリエチレングリコール(PEO)鎖を材料表面に導入して材料表面を流動的にしたもの[9]などが含まれる。

凝固活性抑制型としては凝固因子活性化を阻害するヘパリンを材料表面にコートしたもの[10]や、ヘパリンを化学結合によって材料表面に固定化したもの[11]がその代表例としてあげられる。ヘパリンによって血栓形成は抑制できるものの材料表面自身が血小板の粘着・凝集は抑制不可能なこと、ヘパリンが不活性化してしまうと血栓形成すら抑制できないなどの問題点を有しており、短時間の使用にしか耐えられないことがわかっている。

血栓溶解型としては線溶系賦活化酵素であるウロキナーゼを材料表面に固定化したものがあげられる[12]。これもヘパリン固定化材料と同様に、血小板粘着や生理活性物質の不活性化の問題を有しており、短時間の使用にしか耐えられない。しかし、これらのような生理活性物質を材料表面に固定化したカテーテルは抗血栓性のメカニズムも明確であり術者である医師も受け入れや

すいことから何種類かの製品(アンスロン[®]、メディカット[®]UK IIなど)がすでに市場に出回っている。

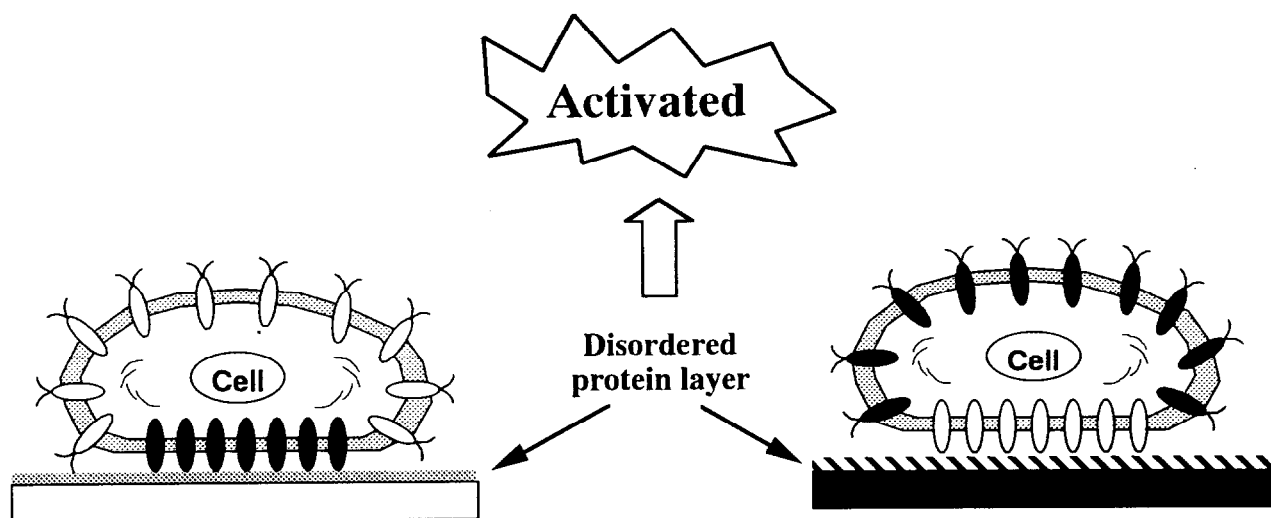
血液適合性材料の中で最も精力的に研究が続けられているのは、血小板活性抑制型の血液適合性材料である。そのきっかけは1960年代後半のミクロ相分離構造と抗血栓性との相関に関する議論である。今井らはポリウレタンが優れた抗血栓性を示すことからミクロ不均質な表面が血小板粘着を抑制するという仮説を立てた[13, 14]。またその同時期にLymanらは特定のポリエーテル分子量を用いたセグメント化ポリウレタン表面においてアルブミンの吸着性及び血小板の粘着性が低下したことから、ポリウレタン表面のミクロ相分離構造の血液適合性への影響を考察した[15]。その後Ratner、Hoffmanらは2-ヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA)とエチルメタクリレートからなるランダム共重合体の生体内埋植実験から、血液適合性には親水性と疎水性のバランスが重要であることを指摘した[16]。また岡野らはpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)表面の有する血液適合性について詳細に検討した。その結果、ラメラ状のミクロ相分離構造を有する場合に最も優れた血液適合性を示し[5]、そのドメイン幅には最適値が存在すること[17, 18]、親水性及び疎水性ドメインにはそれぞれ選択的にアルブミンとイムノグロブリン(IgG)が吸着すること[19]、吸着したタンパク質は吸着直後から1年以上にわたるまで単層吸着の状態を維持していること[20]、表面に粘着した血小板は活性化されずに穏和に付着しているだけであることを示した[21, 22]。これ以降、ミクロ相分離構造を有する合成高分子による血液適合性材料表面の設計が盛んに行われるようになり、鶴田・片岡らによるポリアミングラフト共重合体[23]、緒方・由井らによるセグメント化ポリエーテルポリアミドマルチブロック共重合体[6]、明石・古菌らによる芳香族ポリアミド-ポリジメチルシロキサンマルチブロック共重合体[7]などが相次いで設計され、荷電-非荷電型、結晶-非晶型など種々の異種連鎖から構成されたミクロ相分離構造表面によって、血小板活性化が回避されること、リンパ球分離が可能であることが次々と明らかにされてきた。そしてこれらの一連の研究からミクロドメイン構造表面の血小板活性化抑制メカニズムとし

て図1-1に示したような、ミクロドメインの形・サイズ・化学構造によって吸着タンパク質が組織化され、細胞膜の流動性が制御されることで細胞の活性化が抑制されるという説「capping control」が岡野・片岡らによって提案され[24, 25]、抗血栓性材料の機能発現と表面構造には密接な関係があることが認められるようになった。しかし、材料表面が発現する抗血栓性という機能については十分に評価・解析・議論がなされてきたものの、材料表面が生体側に対してどのような足場を提供しているのか、すなわち生体内における材料の表面状態については未だ明らかにされていないのが現状である。そこで、本研究ではミクロ相分離構造を有する親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造を詳細に検討し、血液適合性という機能発現との相関について考察することとした。

Table 1-1. Polymeric Materials used as Artificial Organs and Medical Devices

Polymeric Materials	Examples
poly(methyl methacrylate) (PMMA)	Interocular lense Hard contact lense Bone cement Dental resin Hollow fiber of artificial kidney (blood dialysis)
poly(dimethyl siloxane) (PDMS)	Soft-tissue replacement material Surgical dressing catheter
poly(ethylene terephthalate) (PET)	Artificial vessel Heart valve Blood collecting tube
polytetrafluoroethylene (PTFE)	Artificial vessel Suture Tendon
segmented polyurethane (PU)	Artificial heart catheter tubung
polypropylene (PP)	Suture Hollow fiber of artificial lung (blood oxygenator) Syringe
poly(vinyl chloride) (PVC)	blood bag tubing catheter
poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (HEMA)	Soft contact lense
polyethylene (PE)	acetabular cup
cellulose	Hollow fiber of artificial kidney (blood dialysis)
polysulfone	Hollow fiber artificial kidney (blood dialysis)

Homogenius Surface



Heterogenius Surface

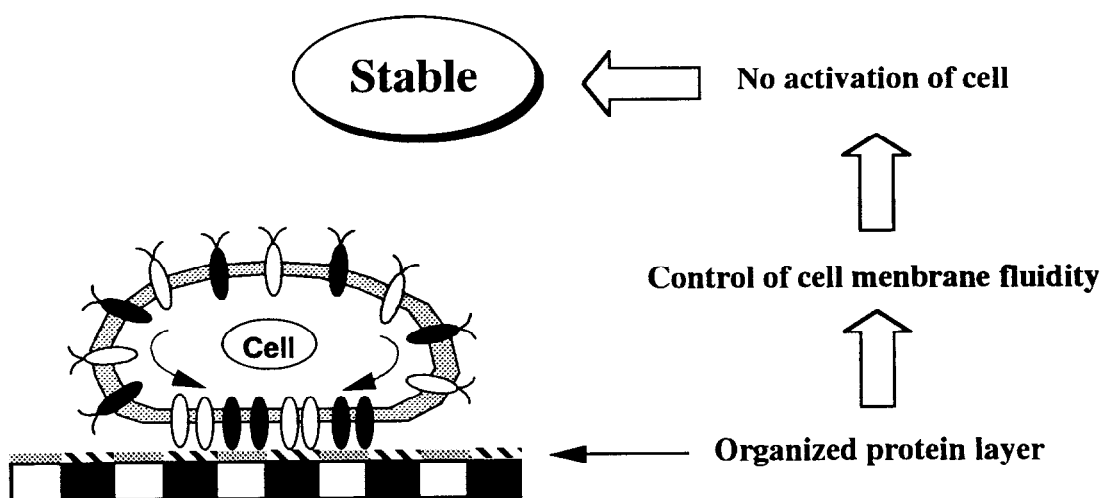


Figure 1-1. A schematic illustration of nonthrombogenic materials with microdomain surface.

次に表面構造解析法について考察してみる。高分子材料の古典的な表面解析法と言えば接触角測定が一番に挙げられるであろう。接触角測定から得られる表面情報の深さは数Åと言われており、極最表層の情報を得ることができる[26]。また測定時間も短時間であり、表面構造の経時変化を観察するにも優れた方法である。接触角測定には液滴を試料表面に滴下し、試料と液滴の角度をゴニオメーターを用いて測定する静的接触角法(液滴法)[27]と、板状の試料を液体中に浸漬・引き上げし、その時の荷重の変化をから前進接触角と後退接触角を求める動的接触角法(Wilhelmy Plate法)[28]の2つの方法がある。動的接触角測定では材料表面のダイナミクスに関する情報が得られることが大きな特徴である。

また、半導体産業の著しい進歩に伴い、実にさまざまな表面分析機器が実用化されてきた。そしてこれらの機器は高分子分野にも応用展開されるようになった。例えば、高分子分野で特に利用されている分析装置としては、Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR)、X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS), Secondary Ion Mass Spectrometry (SIMS), Ion Scattering Spectroscopy (ISS), Auger electron Spectroscopy (AES), などが挙げられる。ここに挙げたさまざまな分析手法は表1-2に示したように、測定できる深さ、測定できる環境、定量や定性の程度など、それぞれが一長一短の特徴を有している。

例えばXPSは、高真空中で試料に軟X線を照射し、表面から出てくる光電子の運動エネルギーと光電子量を測定することにより、表面から約100 Åの深さの原子組成や化学結合に関する情報を定量的に得ることが可能な分析手法である[29]。また、試料と検出器との角度を変化させることで深さ方向の情報を得ることも可能である(Angular-dependent XPS)。軟X線発生源開発の進歩により数10 μm程度の微小領域での分析が可能であること、単色化されたX線を用いることで高分子のように熱に弱い試料に対しても非破壊的に分析が可能なることから高分子分野において利用されることの最も多い分析手法のひとつである。特に最近では試料を凍結したままの状態で測定

を行うFreeze-dry XPSの手法も確立されており、濡れた表面の情報をも得ることが可能となっている[30-32]。

SIMSは高真空中で試料にイオンビームを照射したときに表面から放出される二次イオンを質量分析することで最表面に存在する元素や分子種の分析を高感度に行う装置である[33]。XPSは元素種の解析であり、例えばポリエチレンとポリプロピレンの区別は不可能であるが、SIMSでは分子種の分析が可能のためこの両者を区別して扱うことができるのが大きな特徴である。SIMSは照射するイオンビームの電子密度によってDynamic-SIMS (D-SIMS)とStatic-SIMS (S-SIMS)に大別され、通常は 1×10^{12} ions/cm²以上をD-SIMS、以下の場合をS-SIMSと区別している。D-SIMSでは表面をエッチングしながら深さ方向の分析を行うことが可能である。一方、S-SIMSではほとんど非破壊的に極最表層(～10 Å)の分析を行うことが可能である。また、一般的にS-SIMSには定量性がないと言われているが、特定フラグメントに注目することで、定量的な知見を得ることができるとの報告もある[34]。

接触角測定とこれらの分光学的手法を組み合わせた解析方法によって、さまざまな高分子の表面構造が明らかにされてきた。特にブレンドポリマーやグラフト、ブロック共重合体などの多相系高分子の表面構造解析は、さまざまな研究者らによって精力的に行われ、多相系高分子の表面はバルクとは異なる組成を有することや、溶媒の種類や乾燥温度、製膜基質の種類などの製膜条件によって表面組成は大きく異なることが明らかにされてきた。

例えば、Clarkらはバルク組成の異なるpoly(dimethylsiloxane-*b*-styrene)を合成し、それらのキャストフィルムの接触角測定を行った。その結果、接触値はバルクの組成に関わらずpolydimethylsiloxaneホモポリマーとほぼ同等の値であったことから、表面への低エネルギー成分濃縮を示唆した[35]。また、Ratnerらはポリエーテル種、鎖延長剤の異なる数種類のセグメント化ポリウレタンを合成し、DSC, FT-IRからバルク構造解析を、angular-dependent XPS,

S-SIMSから表面構造解析を行った。その結果、表面に低エネルギー成分が濃縮していることや、その濃縮の度合いはミクロ相分離構造が明瞭なポリウレタンほど顕著であることを明らかにした[36, 37]。

また、多相系高分子において表面への一成分濃縮が必ずしも起こらない例も報告されている。例えば、H. R. Thomasらはpoly(styrene-*b*-ethylene oxide)及びpoly(ethylene oxide-*b*-styrene-*b*-ethylene oxide)の表面構造をangular-dependent XPSから解析し、フィルム表面にはポリスチレン成分が濃縮しているものの、極最表層にはポリエチレンオキサイドとポリスチレンの両成分が存在していることを示唆している[38, 39]。また、緒方・由井らはポリプロピレンオキサイド-ナイロン610マルチブロック共重合体の表面構造をangular-dependent XPSから解析し、フィルム最表層の組成比とバルクの組成比にはほとんど違いがないことを示している[40]。これらはいずれも結晶性成分を含むブロック共重合体であり、低エネルギー成分の表面濃縮よりも結晶成分の結晶化のほうが動力学的に優位に進行するためであると説明されている。

最近ではこのような静的な条件下での表面構造のみでなく、動的な表面構造、即ち、表面の組成が外部環境に応じてどのように変化するかという表面構造の再構築に着目した研究も行われている。例えばHollyとRefojoは水中に浸漬したポリHEMAゲルに空気泡を接触させたときの接触角の経時的変化を調べ、高分子主鎖を中心に α -メチル基と水酸基が回転運動していることを示唆している[41]。また、GarbassiらはポリHEMAフィルムの動的接触角測定を行い、フィルムの水中浸漬速度とヒステリシスループの形状との関係から水酸基の回転運動について考察している[42]。

多相系高分子についても同様の解析が試みられている。手塚らはポリウレタン(PU)を幹成分、ポリジメチルシロキサン(PDMS)を枝成分とするグラフト共重合体を合成し、製膜直後の表面状

態と水中浸漬後の表面状態を接触角測定から調べた。その結果、製膜直後の試料表面は疎水性を示しているが、水中浸漬によって親水性に変化することを明らかにした[43]。これは製膜直後の最表面は枝成分であるPDMSで覆われているが、水中浸漬によってPDMS鎖が膜内部に潜り込むためと説明している。

RatnerらはFreeze-dry XPSを用いてポリHEMAを表面にグラフトしたシリコーンゴムの水中と空気中における表面構造の比較を行った[30]。その結果、水中では表面のポリHEMA鎖がシリコーンゴム表面を覆っているが、空気中に放置するとポリHEMAに由来するピークが観測されなくなり、ポリHEMA鎖がシリコーンゴム内に包埋されることを明らかにしている。また、高原・梶山らはソフトセグメントに親水性であるポリエチレングリコール(PEO)、もしくは疎水性であるPDMSを含むセグメント化ポリウレタン(PU)を合成し、空気中と水和後の表面構造をFreeze-dry XPS測定から測定した。その結果、空気中ではPEOを含むPU(PEO-PU)ではハードセグメントが、PDMSを含むPU(PDMS-PU)ではPDMSが表面濃縮しているが、水和後の表面にはPEO-PUではPEO成分が、PDMS-PUではハードセグメントが濃縮しており、環境変化に依存した表面構造の再構築が起こることを示している[31]。

上に例を挙げたようなここ数年間の多相系高分子に関する表面構造解析結果の重要な要点をまとめると

- 1) 空気中では低エネルギー成分が表面濃縮する。
- 2) 外部の環境変化に応答して表面構造の再構築が起こる。
- 3) 結晶性成分を含む場合は結晶化が優先して進行し、表面構造はそれに従い形成される。

の3点を挙げるができるであろう。

このように分光学的手法や接触角測定の結果から予想される静的な表面構造や動的な表面構造再構築の様子は模式的にはとらえられているものの、直接的にその様子を観察した例はない。そこで本研究では多相系高分子の表面状態を視覚的にとらえることを主目的として検討を進めた。

Table 1-2. Surface Analytical Methods and their Characteristics

Method	Measuring Conditions	Depth Sensitivity	Sample Damage	Quantification	Elemental Analysis	Notes
Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR)	atmospheric	1~5 μm	No	Semiquantitative	No	Functional Group Identification
X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS)	high vacuum	10~100 $\text{\AA}$	No (monochromated X-ray)	Accurate	Yes	Depth Profiling (angular-dependent)
Dynamic-Secondary Ion Mass Spectrometry (D-SIMS)	high vacuum	~15 $\text{\AA}$	Yes	No	Yes	Depth Profiling (with etching)
Static-Secondary Ion Mass Spectrometry (S-SIMS)	high vacuum	~15 $\text{\AA}$	Small	Semiquantitative	No	Fragment Identification
Ion Scattering Spectroscopy (ISS)	high vacuum	3~5 $\text{\AA}$	Yes	No	Yes	Shallow Surface Identification
Auger Electron Spectroscopy (AES)	high vacuum	10~20 $\text{\AA}$	No	No	Yes	2D Imaging

そこで、表面構造の視覚化の方法について次に考察した。表面構造をミクロの領域で捉えられる形態学的方法としては走査型電子顕微鏡(Scanning Electron Microscopy, SEM)、透過型電子顕微鏡(Transmission Electron Microscopy, TEM)などの電子顕微鏡[44]の他にここ数年に偉大なる発展をとげた走査型プローブ顕微鏡(Scanning Probe Microscopy, SPM)[45]が挙げられる。SPMの中でも表面のtopologicalな情報をnmオーダーで画像化できる原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscopy, AFM)[46]は絶縁材料をそのままの状態を観察できることから特に有機高分子材料の研究に適している。また、最近では摩擦力(Frictional Force Microscopy, FFM)や磁気力(Magnetic Force Microscopy, MFM)、電気化学力(Electrochemical AFM, EC-AFM)、更には粘弾性力(Scanning Viscoelasticity Microscopy, SVM)などを画像化する手法が確立され、高分子分野への貢献もめざましい。例えば、高原・梶山らはポリエチレン単結晶の表面状態をAFMとFFMから解析し、分子量や分子量分布が分子鎖おりたたみ構造に大きく影響していることを明らかにした[47]。また、熊木・橋本らは水面上に単分子粒子状に展開したpoly(styrene-*b*-methyl methacrylate)をマイカ上に1層積層した試料のAFM観察(タッピングモード)を行い、分子鎖1本のランダムコイルの直接観察に成功している[48]。更に梶山らは単分散ポリスチレンフィルム表面の動的粘弾性をSVMを用いて解析し、分子量が26600以下の場合には室温下でフィルム表面はゴム状態にあることを報告している[49]。また、最近ではAFMによってさまざまなブロック共重合体のミクロ相分離構造が観察されている[50-52]。しかし、観察条件によっては相分離構造の様子が大きく異なり、どのような表面状態が観察されているかについては未だ未解決な点も多い。また、AFMでは表面の情報しか得ることができないが、TEM観察では試料の調製法を工夫することで表面からバルクまでを観察することが可能である。そこで我々は表面構造の形態学的観察手段としてTEMを用いることとした。バルクのミクロ相分離構造観察に関してはTEMは30年以上の実績があり、表面近傍におけるミクロ相分離構造観察の目的に最も適していると思われる。

TEM観察のための試料調製法は大きく3つに分けられる。最も簡便な方法は、試料の薄膜をグリッド上に直接製膜し、観察する直接法である[53]。例えば由井・緒方らはポリプロピレンオキシドとナイロン610からなるマルチブロック共重合体の0.1%蟻酸溶液をカーボン膜を貼った銅メッシュ上に滴下して製膜した試料を直接観察することでフィブリル状に成長した球晶の観察を行っている[54]。結晶成分は非晶成分に比べて電子線の透過度が低いため、染色を施さなくても結像することが可能であると報告している。

二つ目の方法はレプリカ法である。これは表面の極僅かな凸凹を写し取ったレプリカに対してシャドウイングをかけ、凸凹を見かけ上大きくして観察する手法である[38]。レプリカ法から得られる表面情報は凸凹のみであり、最近のSPMの発達からこの方法は希となってしまった。

三つ目の方法が超薄切片法である。試料から50~100nm程度の厚さの超薄切片を切り出し、染色を行い、像観察する方法である。超薄切片を得るためにもさまざまな工夫が施されている。室温で十分に硬い材料を切削する場合は特に問題ないが、柔軟な材料はダイヤモンドナイフを用いても薄切が不可能なことが多い。そこで、四酸化オスミウムや四酸化ルテニウムなどの染色剤を用いて試料を硬化させてから、もしくは試料を T_g 以下に冷却し凍結したままの状態で行う。凍結切片を得るためには特別な冷却装置が必要であり、一般的とはいえない。そこで、通常は染色剤を用いた構造の固定・染色を行ってから切片切削を行う。例えば加藤らは分子内の炭素-炭素二重結合が四酸化オスミウム(OsO_4)と反応して固定・染色されることを明らかにし、ABS樹脂のミクロ相分離構造をTEM観察から明瞭にとらえている[55]。また、Trentらは四酸化ルテニウムを用いることで四酸化オスミウムでは染色されなかったような材料も固定・染色が可能であることを報告しており、ポリエチレンのラメラ状ミクロ相分離構造やナイロン11の球晶の様子を観察している[56]。

以上の3種類の中で、ブロック共重合体の表面構造をとらえるには超薄切片法が最も適している。なぜなら直接法で観察される像は膜最表面の構造のみでなく、グリッド上に存在する薄膜すべて

の構造を透過した情報であり、すべてが重ね合わせられた像として観察されてしまうからである。

また、レプリカ法では表面のtopologicalな情報しか得られず、一成分の表面濃縮に関するような情報を得ることはできない。一方、超薄切片法ではフィルムに対して垂直方向に切り出した超薄切片の膜表面近傍を観察することで表面でのミクロ相分離構造をとらえることが可能である。例えば加藤らは酸エッチング前後のABS樹脂の表面構造をこの方法から観察・比較し、エッチングによってブタジエン層が選択的に消失していることを明らかにしている[57]。橋本・長谷川らは組成比が1:1のpoly(styrene-*b*-isoprene)共重合体のトルエン溶液から製膜されたフィルムの断面TEM像から、バルクはラメラ状のミクロ相分離構造であること、膜最表面は完全にポリイソプレン層で覆われていることを明らかにした[58]。また、製膜溶媒に一成分の貧溶媒を用いた場合、バルクのミクロ相分離構造はラメラ状から海島状に変化するが、最表面の構造は変化せずポリブタジエン層で覆われていることを視覚的にとらえている[59]。Annisらはpoly(styrene-*b*-butadiene)共重合体の表面構造をTEM、AFM、低加速電圧高分解能SEMから比較検討し、すべての方法から得られる表面構造に矛盾がないことを示している[50, 60]。しかし、いずれの例も静的な条件下での表面構造をTEM観察からとらえているのみであり、動的な表面構造の再構築の様子を視覚的にとらえた例は今までに報告されていない。

ここで、再び血液適合性材料に論点を戻したい。ポリウレタンをはじめとするさまざまな血液適合性材料についても表面構造解析が行われ、表面構造と血液適合性との関係が論じられてきた。しかし、先に述べたように多相系高分子は外部の環境変化に応答して表面構造が変化するため、分析条件下である真空中もしくは空気中と実際の使用条件下である生体内では表面構造が異なることが多いに予想される。また、体内は一概に濡れた状態というだけでなく、疎水性部を有するタンパク質や界面活性作用を示す脂質成分を含んだ血球が多量に存在しており、非常に複雑な系である。このような環境下で、血液適合性材料が生体側にどのような表面を提供しているのか

を明らかにするためには、表面構造に対する理解を土台から組み上げてゆくことが最重要課題であろう。また、そこで得られる知見は次世代の血液適合性材料の分子設計に役立つだけでなく、表面の特徴を利用している接着・界面・濡れ・膜・有機-無機複合材料の分野でも多いに有用であると確信している。

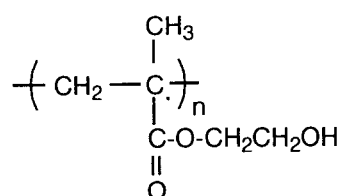
以上のような背景を基に、本研究では血液適合性材料としての実績を有する親水性-疎水性ブロック共重合体に着目し、それらの表面構造について詳細な検討を行った。また、生体内での表面構造を*in situ*にとらえることは困難であるため、生体内に類似した環境として水中での表面構造についても詳細な解析を行い、環境変化に対する材料表面の応答性や水和過程における表面構造の変化についての検討を行った。そして生体内での材料表面の振る舞いを予想した。構造解析の手段としては、形態学的手法であるTEM観察に要点を絞った。ブロック共重合体表面が環境変化に応答して再構築を示すことに関しては先に例を示したように、まるで見てきたかのような模式図が示されているが、実際の再構築の様子を視覚的にとらえた例は未だ存在せず、これらの様子を視覚的にとらえることは非常に有意義であると考えられる。しかし、非常に複雑な系が予想されるブロック共重合体の表面構造であり、たったひとつの分析手段から表面状態を決定することには危険を伴う。そこで、併せて接触角測定とXPS測定からも解析を行うこととした。

さて、このような親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造解析を行う場合、共重合体そのものの分子量や分子量分布、鎖構造といった一次構造を十分に制御する必要がある。一次構造の制御されたブロックポリマーを得る方法としてはアニオンリビング重合[61, 62]、カチオンリビング重合[63, 64]、ラジカルリビング重合[65]、配位リビング重合[66]、グループ転移重合[67]などが挙げられる。この中でも一次構造の厳密な制御が可能で、且つ適用可能なモノマー種が豊富である点からアニオンリビング重合が最も優れていると思われる。すでに森・中浜らは

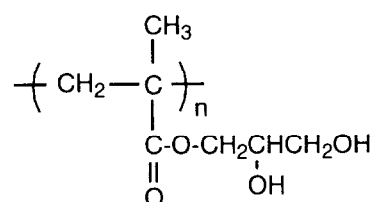
親水性成分にHEMAもしくは2, 3-dihydroxypropyl methacrylate (DIMA)を、疎水性成分にスチレン、イソプレン、4-オクチルスチレンを有する組み合わせでの親水性-疎水性ブロック共重合体をアニオンリビング重合から合成することに成功しており[68]、本研究においては、これらのブロック共重合体を対象とした表面構造解析を行うこととした。また、新たな疎水性成分として側鎖末端に炭素-炭素二重結合を持つ4-(7'-オクテニル)スチレンを有するブロック共重合体についても表面構造解析を行った。図1-2に本研究で扱った親水性-疎水性ブロック共重合体の各成分の化学構造を示した。それぞれの分子設計概念については各章で詳細に説明するが、親水性度の違い、化学構造の僅かな違い、Tgの違いが表面構造や環境変化に応答した表面構造再構築にどのような影響を及ぼすかを明らかにすることを目的に構造設計を行っている。特に4-(7'-オクテニル)スチレンに関してはTEM観察による表面構造解析のために合成されたものである。第6章で詳細に述べるが、炭素-炭素二重結合は染色剤である四酸化オスミウムによって素早く染色・固定されるため、短時間での構造の変化をとらえることが可能であると予想している。

本論文は9章からなる。本章に続く第2章ではまず合成法の異なる2種類のHEMA/スチレンブロック共重合体の表面構造について述べる。第3章では疎水性成分をイソプレンとしたHEMA/イソプレブロック共重合体の表面構造とその環境応答性について、第4章ではDIMA/イソプレブロック共重合体の表面とバルクのマクロ相分離構造について、第5章では4-オクチルスチレンを疎水性成分としたブロック共重合体の表面構造について、第6章ではHEMA/4-(7'-オクテニル)スチレンブロック共重合体のバルクのマクロ相分離構造のモルフォロジーと表面構造との関係について述べる。そして第7章では各種ブロック共重合体の表面解析についての比較検討結果についてまとめ、その一次構造と表面構造や表面構造再構築との関係を明らかにした。第8章ではこれら親水性-疎水性ブロック共重合体の血液適合性とその人工血管への応用例、および血液適合性と材料表面との関係について述べる。第9章では本論文を総括した。

Hydrophilic Segment

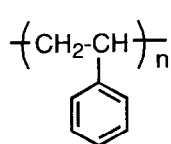


poly(2-hydroxyethyl methacrylate)
(polyHEMA)

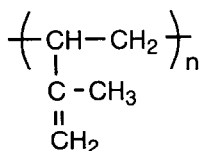


poly(2, 3-dihydroxypropyl methacrylate)
poly(DIMA)

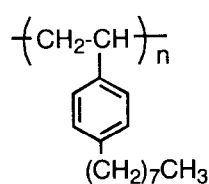
Hydrophobic Segment



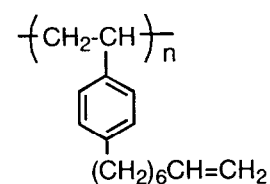
polystyrene



polyisoprene



poly(4-octylstyrene)



poly[4-(7'-octenyl)styrene]

Figure 1-2. Chemical structures of a series of hydrophilic-hydrophobic block copolymers.

参考文献

- 1) I. Dasnishefsy, in: *Biochemistry for Medical Sciences*, Little Brown, Boston (1980), p464
- 2) 倉地幸徳, 藤川和夫: バイオマテリアルサイエンス第2集, (鶴田禎二, 桜井靖久編), 南江堂(1982), p3
- 3) 松田武久, 脳神経外科速報, **4**(6), 461 (1994)
- 4) 野一色恭晴, 高橋和裕, 山本賢二, 孟 真, 井元清隆, 近藤治郎, 松本昭彦, 人工臓器, **24**, 4 (1995)
- 5) T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, T. Akaike, Y. Sakurai, K. Kataoka, T. Tsuruta, *J. Biomed. Mater. Res.*, **15**, 393 (1981)
- 6) N. Yui, K. Sanui, N. Ogata, K. Kataoka, T. Okano, Y. Sakurai, *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, 929 (1986)
- 7) T. Furuzono, E. Yashima, A. Kishida, I. Maruyama, T. Matsumoto, M. Akashi, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **5**, 89 (1993)
- 8) K. Ishihara, R. Aragaki, T. Ueda, A. Watanabe, N. Nakabayashi, *J. Biomed. Mater. Res.*, **24**, 1069 (1990)
- 9) Y. Mori, S. Nagaoka, *Trans ASAIO*, **28**, 459 (1982)
- 10) Y. Noishiki, S. Nagaoka, T. Kikuchi, Y. Mori, *Trans ASAIO*, **27**, 213 (1981)
- 11) Y. Miura, S. Aoyagi, Y. Kusada, K. Miyamoto, *J. Biomed. Mater. Res.*, **14**, 619 (1980)
- 12) 大城 孟, 城戸良和, 小川善誉, 神前五郎, 高木邦彦, 人工臓器, **10**, 989 (1981)
- 13) 今井庸二, 渡辺昭彦, 小島幸一, 増原英一, 人工臓器, **1**, 140 (1972)
- 14) 今井庸二, 高分子, **21**, 569 (1972)
- 15) D. J. Lyman, L. C. Metcalf, D. Albo Jr., K. F. Richard, J. Lamb, *Trans ASAIO*, **20**, 474 (1975)
- 16) B. D. Ratner, A. S. Hoffman, S. R. Hanson, L. A. Harker, J. D. Whiffen, *J. Polym. Sci. Polym. Symp.*, **66**, 363 (1979)
- 17) C. Nojiri, T. Okano, D. Grainger, K. D. Park, S. Nakahama, K. Suzuki, S. W. Kim, *Trans ASAIO*, **33**, 596 (1987)
- 18) T. Okano, K. Kataoka, Y. Sakurai, M. Shimada, T. Akaike, I. Shinohara, *Artificial Organs*, **5**(suppl), 468 (1981)
- 19) T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, T. Akaike, *Polymer J.*, **10**, 239 (1978)
- 20) C. Nojiri, T. Okano, H. A. Jacobs, K. D. Park, S. F. Mohammad, D. B. Olsen, S. W. Kim, *J. Biomed. Mater. Res.*, **24**, 1151 (1990)
- 21) 阿部一彦, 関口守衛, 片岡一則, 岡野光夫, 桜井靖久, 明見 仁, 篠原 功, 人工臓器, **17**, 495 (1988)
- 22) T. Okano, K. Suzuki, N. Yui, Y. Sakurai, S. Nakahama, *J. Biomed. Mater. Res.*, **27**, 1519 (1993)

- 23) K. Kataoka, Y. Sakurai, T. Tsuruta, *Makromol. Chem. Suppl.*, **9**, 53 (1985)
- 24) 片岡一則, 岡野光夫, 赤池敏宏, 桜井靖久, 前田瑞夫, 西村隆雄, 似島嘉昭, 鶴田禎二, 島田 昌, 篠原功, *人工臓器*, **8**, 804 (1979)
- 25) 片岡一則: バイオマテリアルサイエンス第1集(鶴田禎二, 桜井靖久編), 南江堂 (1982), p93
- 26) F. Garbassi, M. Morra, E. Occhiello, in: *Polymer Surfaces*, eds: F. Garbassi, M. Morra, E. Occhiello, Wiley, Chichester, (1994), p161
- 27) T. Young, *Phil. Trans.*, **95**, 65 (1805)
- 28) J. D. Andrade, L. M. Smith, D. E. Gregonis, in: *Surface and Interfacial Aspects of Biomedical Polymers*, ed: J. D. Andrade, Plenum Press, New York (1985), vol 1, chapter 7
- 29) M. P. Seah, D. Briggs, in: *Practical Surface Analysis vol 1*, 2nd edition, Auger and X-ray Photoelectron Spectroscopy, eds: M. P. Seah and D. Briggs, Wiley, Chichester (1990), p7
- 30) B. D. Ratner, P. K. Wheathersby, A. S. Hoffman, M. A. Kelly, L. H. Scharpen, *J. Appl. Polym. Sci.*, **22**, 643 (1978)
- 31) 高原 淳, 是久金造, 高橋弘道, 梶山千里, *高分子論文集*, **49(4)**, 275 (1992)
- 32) K. B. Lewis, B. D. Ratner, *J. Colloid Interface Sci.*, **159**, 77 (1993)
- 33) M. P. Seah, D. Briggs, in: *Practical Surface Analysis vol 2*, Ion and Neutral Spectroscopy, eds: M. P. Seah and D. Briggs, Wiley, Chichester, (1983), chapter 2
- 34) D. Briggs, B. D. Ratner, *Polym. Commun.*, **29**, 6 (1988)
- 35) D. T. Clark, J. Peeling, J. M. O'Malley, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.*, **14**, 543 (1976)
- 36) M. J. Hearn, B. D. Ratner, D. Briggs, *Macromolecules*, **21**, 2950 (1988)
- 37) B. D. Ratner, D. Briggs, M. J. Hearn, S. C. Yoon, P. G. Edelman, in: *Surface Characterization of Biomaterials*, ed: B. D. Ratner, Elsevier, New York (1988), p317
- 38) H. R. Thomas, J. J. O'Malley, *Macromolecules*, **12**, 323 (1979)
- 39) J. J. O'Malley, H. R. Thomas, G. M. Lee, *Macromolecules*, **12**, 996 (1979)
- 40) N. Yui, K. Kataoka, Y. Sakurai, K. Sanui, N. Ogata, A. Takahara, T. Kajiyama, *Makromol. Chem.*, **187**, 943 (1986)
- 41) F. J. Holly, M. F. Refojo, *J. Biomed. Mater. Res.*, **9**, 315 (1975)
- 42) M. Morra, E. Occhiello, F. Garbassi, *J. Colloid Interface Sci.*, **149**, 84 (1992)
- 43) Y. Tezuka, T. Ono, K. Imai, *J. Colloid and Interface Sci.*, **136(2)**, 408 (1990)
- 44) 赤堀 宏ら: 医学・生物学電子顕微鏡観察法(社団法人電子顕微鏡学会), 丸善株式会社 (1982)

- 45) R. Wiesendanger, in: *Scanning Probe Microscopy and Spectroscopy-Methods and Applications*, Cambridge University Press, Cambridge (1994)
- 46) G. Benning, C. Quate, C. Gerber, *Phys. Rev. Lett.*, **56**, 930 (1986)
- 47) T. Kajiyama, I. Ohki, A. Takahara, *Macromolecules*, **28**, 4768 (1995)
- 48) J. Kumaki, Y. Nishikawa, T. Hashimoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 332 (1996)
- 49) T. Kajiyama, K. Tanaka, A. Takahara, *Macromolecules*, **30**, 280 (1997)
- 50) B. K. Annis, D. W. Schwark, J. R. Reffner, E. L. Thomas, B. Wunderlich, *Makromol. Chem.*, **193**, 2589 (1992)
- 51) M. A. Dijk, R. van den Berg, *Macromolecules*, **28**, 6773 (1995)
- 52) W. Stocker, J. Beckmann, R. Stadler, J. P. Rabe, *Macromolecules*, **29**, 7502 (1996)
- 53) C. S. Henkee, E. L. Thomas, L. J. Fetters, *J. Mater. Sci.*, **23**, 1685 (1988)
- 54) N. Yui, J. Tanaka, K. Sanui, N. Ogata, *Makromol. Chem.*, **185**, 2259 (1984)
- 55) K. Kato, *Polymer*, **8**, 33 (1967)
- 56) J. S. Trent, J. I. Scheinbeim, P. R. Couchman, *Macromolecules*, **16**, 589 (1983)
- 57) K. Kato, *Polymer*, **9**, 419 (1968)
- 58) Hasegawa, H.; Hashimoto, T. *Macromolecules*, **18**, 589 (1985)
- 59) Hasegawa, H.; Hashimoto, T. *Polymer*, **33**, 475 (1992)
- 60) D. W. Schwark, D. L. Vizie, J. R. Reffner, E. L. Thomas, B. K. Annis, *J. Mater. Sci. Letters*, **11**, 352 (1992)
- 61) 平尾 明, 中浜精一, *有機化学*, **47**, 448 (1989)
- 62) S. Nakahama, A. Hirao, *Prog. Polym. Sci.*, **15**, 299 (1990)
- 63) M. Minoda, M. Sawamoto, T. Higashimura, *Macromolecules*, **23**, 1987 (1990)
- 64) K. Kojima, M. Sawamoto, T. Higashimura, *Macromolecules*, **24**, 2658 (1991)
- 65) 大津隆行, 小林幸哉, 栗山 晃, *高分子論文集*, **46**, 253 (1989)
- 66) Y. Doi, T. Koyama, K. Soga, *Makromol. Chem.*, **186**, 11 (1985)
- 67) D. Y. Sogah, W. R. Hertler, O. W. Webster, G. M. Cohen, *Macromolecules*, **20**, 1473 (1987)
- 68) 森 秀晴, 平成5年学位論文(東京工業大学高分子工学専攻)

第2章 合成方法の異なる2種類の2-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の表面構造

2-1 はじめに

第1章でも述べたようにHEMAとスチレンからなるABA型トリブロック共重合体、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)は図2-1に示したように、ラジカルテロメル化反応による片末端アミノ基を有するオリゴHEMAと両末端にイソシアネート基を有するオリゴスチレンとの付加反応から、1978年に岡野らによって初めて合成された[1]。岡野らはこのpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の血液適合性材料としての可能性に注目し、詳細な検討を行った。例えばオリゴHEMAとオリゴスチレンの分子量を制御して組成比の異なる3種類のブロック共重合体を合成し、ブロック共重合体、ポリHEMAまたはポリスチレンホモポリマーと犬新鮮血液との相互作用をカラム法を用いて調べた。その結果、ホモポリマーに比べてブロック共重合体の表面には血小板が粘着しないことを、特にHEMAのモル分率が60%のブロック共重合体の表面には血小板がほとんど粘着しないことを報告している[2]。また、同じ組成のランダム共重合体には血小板粘着の抑制効果がないことも明らかにし、ミクロドメイン構造が高分子と血小板の相互作用において、重要な役割を果たしていることを示した。またブロック共重合体表面に粘着した血小板の内部構造を透過型電子顕微鏡(TEM)で調べ、ホモポリマーやランダム共重合体では粘着に伴う内部構造変化が顕著に観察されたが、ブロック共重合体に粘着した血小板はその内部構造がintactな状態とほとんど変わっておらず、ブロック共重合体表面は血小板粘着を抑制するだけでなく、粘着した血小板を活性化させないことを報告している[3]。更にはポリウレタンチューブ(内径1.5mm, 長さ15cm)内面にpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)をコーティングした人工血管を作製して*in vivo*での抗血栓性を調べ、シリコーンゴムやポリエチレン製の人工血管では2~3日で完全に

閉塞してしまうが、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)をコーティングした人工血管は19～20日間開存し、極めて優れた抗血栓性を示すことを明らかにしている[4]。このような一連の研究によってpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)は合成高分子による最も優れた血液適合性材料としての地位を得たのである。

一方、1986年には中浜らによって、図2-2に示したように、アニオンリビング重合からもHEMA/スチレンブロック共重合体の合成が可能となった[5]。野尻らはこのブロック共重合体の血液適合性をさまざまな方法から評価している。例えば、組成比を1:1に固定した種々の分子量のpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)をポリウレタンチューブ(内径1.5 mm, 長さ30cm)の内面にコーティングしたシャントチューブを作製し、家兔頸動脈間(血流量2.5mL/min)に埋入して閉塞するまでの時間を調べた。その結果、ミクロ相分離のドメインサイズが250 Åのブロック共重合体が最も優れた血液適合性を示すことを明らかにした[6]。また、内径6mm、長さ7cmのポリウレタン製人工血管内面にドメインサイズが250 Åのブロック共重合体を内面にコーティングし、成犬頸動脈に埋植した。埋植した人工血管を経時的に取り出し、内面に付着したタンパク質の厚さを測定したところ、埋植期間によらず常に200～300 Å程度の厚さであり、モノレイヤー状の安定した吸着タンパク層であることがわかった。更には免疫染色法から吸着タンパク質はアルブミンが大多数であり、血小板を活性化するとされているフィブリノーゲンほとんど吸着していないことを明らかにした。そして、HEMA/スチレンブロック共重合体の血液適合性には安定した吸着タンパク層の存在が大きく影響していることを示唆している[7]。また、最近ではブロック共重合体と接触した血小板の細胞内遊離カルシウム濃度の測定から、HEMA/スチレンブロック共重合体表面は単に血小板を活性化させないだけでなく、能動的に血小板を安定化させていることが報告されている[8]。

以上のようにHEMA/スチレンブロック共重合体の血液適合性に関する評価は多数報告されているにも関わらず、表面状態について解析した例は非常に少なく、Castner, Ratnerらの報告が一

件あるのみである。彼らはテレケリックポリマーの付加反応から得られた poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)(T-HS)、アニオンリビング重合から得られた poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)(L-HS)、及びラジカル共重合から合成された poly(HEMA-*ran*-styrene)(R-HS)の表面構造解析を試料角度傾斜法を用いたXPS測定(angular-dependent XPS, ADXPS)と static-SIMS(S-SIMS)測定から解析した。その結果、R-HSではバルクと表面組成に顕著な違いがないこと、T-HSでは表面近傍に極僅かなポリスチレン成分の濃縮が認められること、L-HSでは、表面にポリスチレン成分の顕著な濃縮が認められ、最表層はほぼ完全にポリスチレン層で覆われていることを報告している[9]。図2-1と2-2に示したそれぞれの化学構造を比較してみると、両者の違いは各成分間の結合様式の違いのみである。即ち、T-HSではアミノ基とイソシアネート基の付加反応によりウレア結合が存在しているが、L-HSではポリHEMA鎖とポリスチレン鎖が直接連結されている。このウレア結合による分子間もしくは分子内の水素結合がT-HS表面へのポリスチレン成分の濃縮を妨げているのであろうと推測されている。

このようにほぼ等しい化学構造と組成を有するブロック共重合体においても、表面構造は異なることが明らかとなった。それではこの両者の血液適合性に違いはあるのであろうか。詳細については第8章で述べるが、両者間での血液適合性に顕著な違いは認められておらず、いずれも極めて優れた血液適合性を示すことがわかっている。これは、Caster, Ratnerらのとらえた表面構造は空气中で製膜したフィルムの真空中での構造であるのに対し、血液適合性は濡れた表面が発現する機能であるためであらうと考えている。ならばこの両者の濡れたときの表面構造は同等なのであろうか。濡れた状態での表面構造を明らかにすることによって初めて血液適合性という機能との相互関係を議論できるのではないだろうか。

一方ではブロック共重合体のミクロ相分離構造の形と大きさが血液適合性に大きく影響することを述べてきた。岡野らはT-HSのミクロ相分離構造をTEM用銅メッシュ上にキャストした薄膜

を四酸化オスミウム(OsO_4)蒸気さらしてポリHEMAドメインを選択的に染色したものから観察している[1]。また中浜らもL-HSのマイクロ相分離構造の観察を、染色剤に酢酸ウラニルを用いているが、岡野らと同様に直接銅メッシュ上にキャストした試料を用いている[5]。では血液適合性評価に用いているシャントチューブや人工血管にコーティングされた状態で、HEMA/スチレンブロック共重合体はどのようなマイクロ相分離構造を有しているのだろうか。しかし、それらの状態でのマイクロ相分離構造は未だ観察されていない。

本章では以上のような背景を基に、合成法の異なる2種類のHEMA/スチレンブロック共重合体が基材にコーティングされた状態でのマイクロ相分離構造を観察した。また、乾燥状態及び濡れた状態での表面構造をTEM観察、液滴法による接触角測定、及びWilhelmy Plate法による動的接触角測定から検討した。そして今までに報告されているADXPSやS-SIMSによる表面構造との比較検討を行った。

2-2 試料と実験

2-2-1 試料

はじめに実験に用いたブロック共重合体の分子量及び分子量分布を表2-1に示す。L-50及びL-60についてはアニオンリビング重合から、T-60はテレケリックポリマーの付加反応から合成した。それぞれの合成スキーム及び化学構造は図2-1及び図2-2に示したとおりである。合成の詳細は参考文献を参照されたい[1, 5]。R-50はラジカル共重合から合成した。HEMAモノマーとスチレンモノマーを1:1(モル比)で仕込み、 N, N -ジメチルホルムアミド(DMF)中で α, α' -アゾビスイソブチロニトリル(AIBN)を開始剤として重合を行った。

L-HSに関しては、2種類のポリマーを用意した。ひとつ(L-50)はRatnerらによって表面構造解析されたものと同等の組成及び分子量を有するもの、もうひとつ(L-60)はT-60とほぼ等しい組成及び分子量を有するものである。このように組成や分子量の違いが表面構造に与える影響についても興味深い。

2-2-2 TEM観察

共重合体の製膜にはポリウレタン(PU)製シートをコーティング用基材として選択した。試料調製を行い易くするためのみならず医療材料として汎用的に使用されている基材だからである。血液適合性評価や実際の用途を考慮した場合、HEMA/スチレンブロック共重合体はコーティングされた状態で血液と接触することになる。即ち、コーティングされた状態でのミクロ相分離構造を観察することは、実際の使用下でのミクロ相分離構造について検討することになるであろう。

図2-3にTEM試料調製方法のスキームを示した。詳細は次のとおりである。まず、それぞれのブロック共重合体をDMFもしくはTHF/メタノール混合溶媒(5/1, v/v)に3wt%となるように溶解し、0.45 μm のテフロン製フィルターを通してから、洗浄したPUシート上に室温下でコーティングした。試料を一晩静置することで徐々に溶媒を留去し、更に40℃で10～12時間の真空乾燥を行った。次に試料を OsO_4 結晶蒸気に2～3日間さらすことで構造の固定・染色を行った。この操作を行うことでその後の包埋の過程で元来の表面構造が変化することを避けることが可能である。固定・染色後、エポキシ樹脂(Quetol 812, 日新EM製)で包埋し、60℃オーブン内で3日間硬化させた。片刃ナイフを用いてトリミングを行った後、刃角=35度のダイヤモンドナイフを備えたウルトラミクロトーム(2088V, LKB製)を用いて厚さ50～80nmの超薄切片を切り出した。観察には日本電子製透過型電子顕微鏡(JEM-1200EX)を用いて加速電圧80kVで観察を行った。尚、超薄切片に対する後染色は行わなかった。

濡れた状態での表面構造観察は次のような方法で行った。試料を水中に1時間浸漬した後、試料を乾かすことなく4% OsO_4 水溶液に直接浸漬することで構造の固定・染色を行った。この操作を

行うことで、濡れた状態での表面構造が固定され、乾燥後も濡れた状態での表面構造を維持している。その後、蒸留水で試料を十分に洗浄することで、 OsO_4 結晶の析出による表面への汚染を防いだ。乾燥後は上で述べた方法で、包埋・超薄切片切削を行い、TEM観察に供した。

2-2-3 液滴法による接触角測定

TEM観察と同様の方法で調製したポリマー溶液からカバーガラス上にスピコート(4000 rpm, 20 s)することで製膜した。真空乾燥は特に行わず、クリーンベンチ内に一晩静置した試料を接触角測定に用いた。

外部の環境変化に対する表面構造の応答性を検討するために、接触角測定前に試料をさまざまな環境下に一定時間静置した。即ち、1)製膜直後、2)水中浸漬後、3)水中浸漬後に室温下で風乾後(空气中)、4)80℃でアニーリング後(空气中)、の試料表面の接触角測定を行った。また、応答の再現性についても検討できるよう、上述したサイクルを繰り返した時の試料表面についても測定を行った。尚、水中浸漬後の試料については、一定時間の浸漬後、試料を素早く取り出し、表面に付着した水滴をブローと濾紙を用いて除去した後に測定を行った。

測定はゴニオメーターを備えた接触角測定装置(協和界面化学製)を用いて水に対する接触角を求めた。同一試料について5ヶ所以上での測定を行い、それぞれの値から平均値を求めた。また、測定は水滴を滴下後、30秒以内に角度を読み取った。

2-2-4 Wilhelmy Plate法による動的接触角測定

TEM観察と同様の方法で1%(wt/v)となるようにポリマー溶液を調製した。幅24×48mm、厚さ0.12~0.17mmの洗浄済みカバーガラスにポリマー溶液をコーティングしたのち、窒素雰囲気中で乾燥させた。更に40℃で10~12時間真空乾燥を行い、動的接触角測定用試料とした。

測定にはオリエンテック製動的接触角測定装置(DCA-20)を用い、移動速度=20mm/minで実

第2章

験を行った。尚、表面構造が水中浸漬によって徐々に変化する状態をとらえるために、浸漬・引き上げ(移動距離=20mm)のサイクルを5回連続的に行い、それぞれの前進及び後退接触角を求めた。また、長時間の水中浸漬後の表面状態についても検討するために、30分間水中浸漬した試料についても、同様の測定を行った。

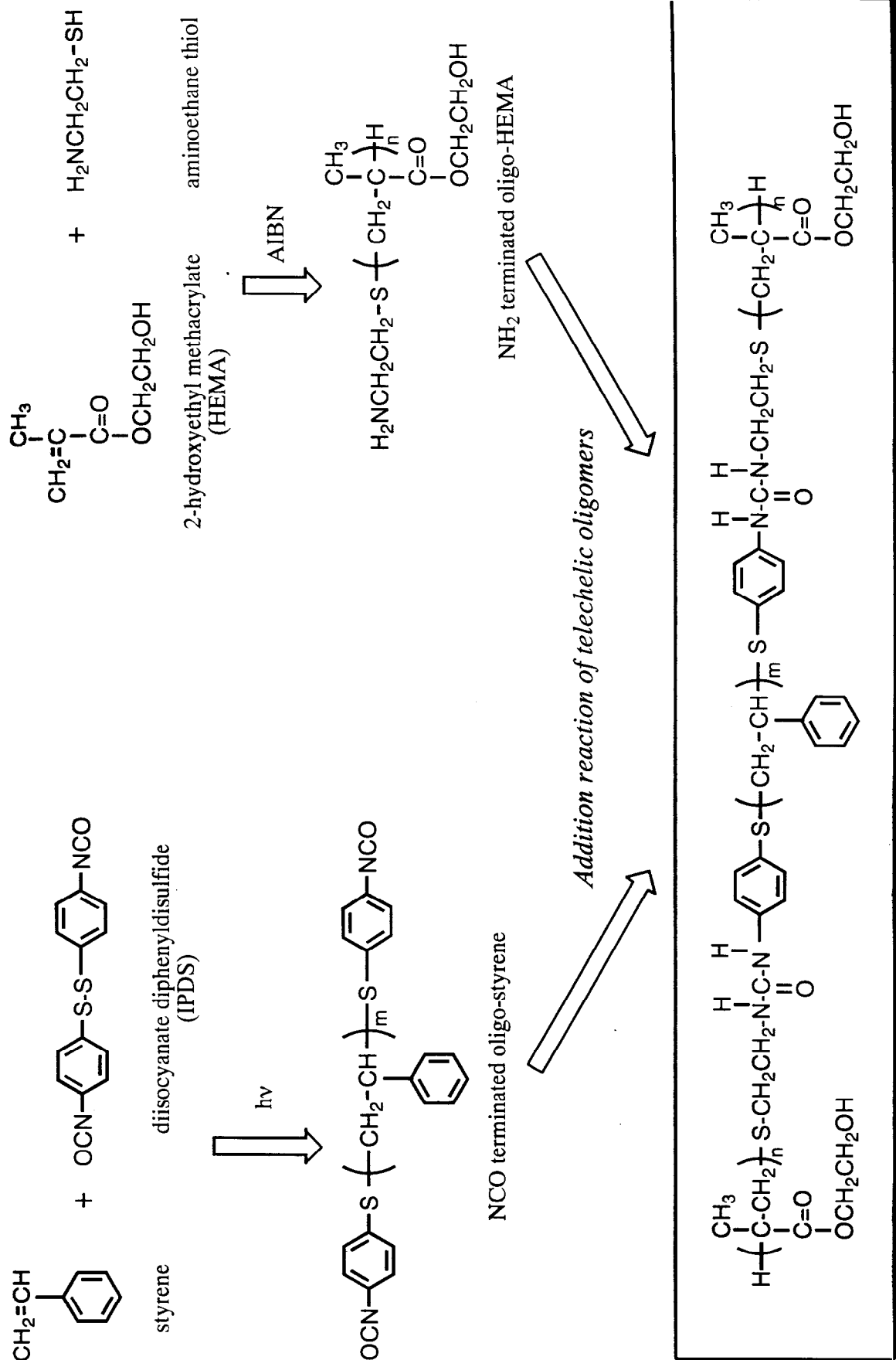


Figure 2-1. Scheme of synthetic method of poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA) by addition reaction of telechelic oligomers.

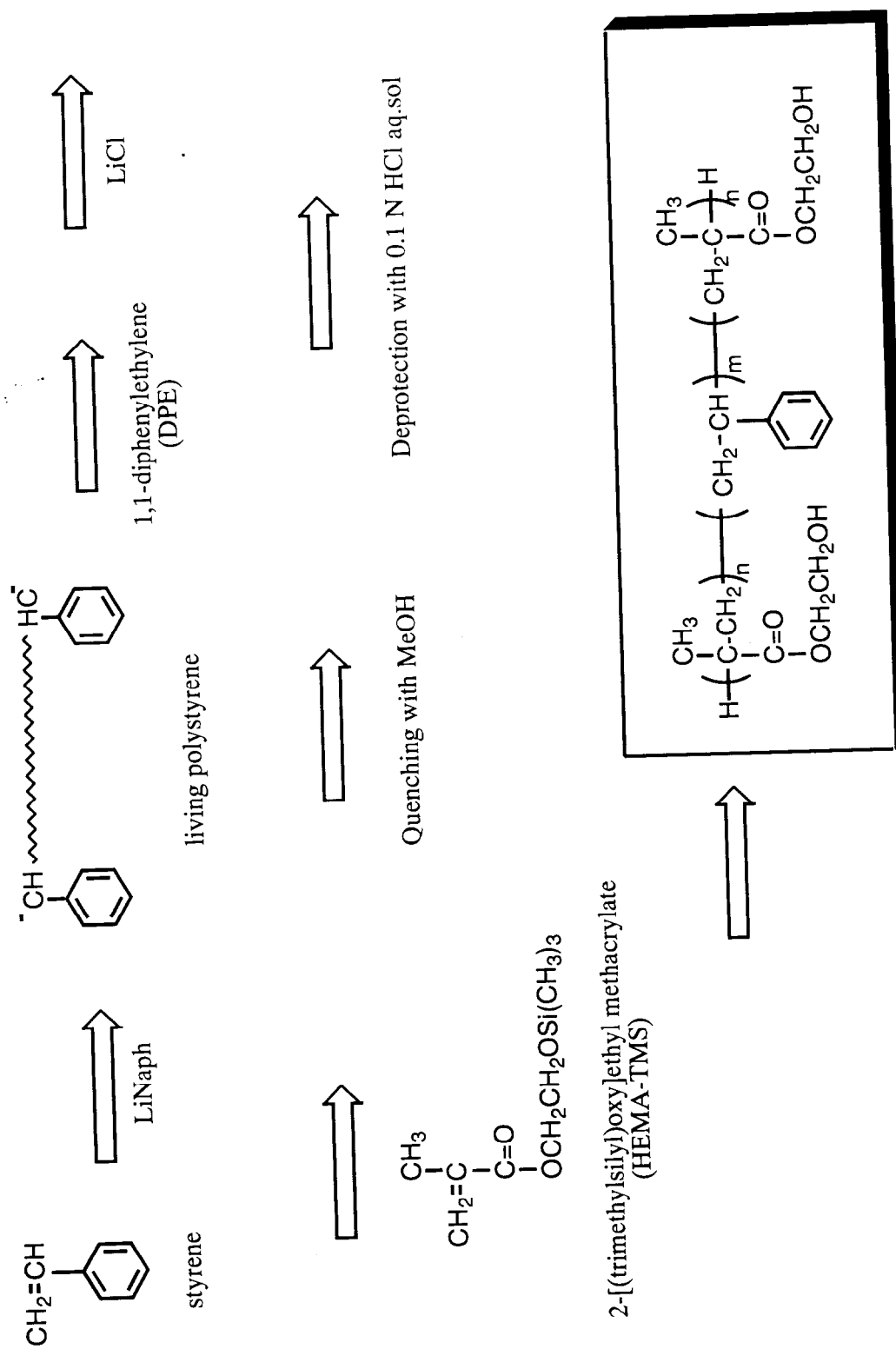


Figure 2-2. Scheme of synthetic method of poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA) by anionic living polymerization.

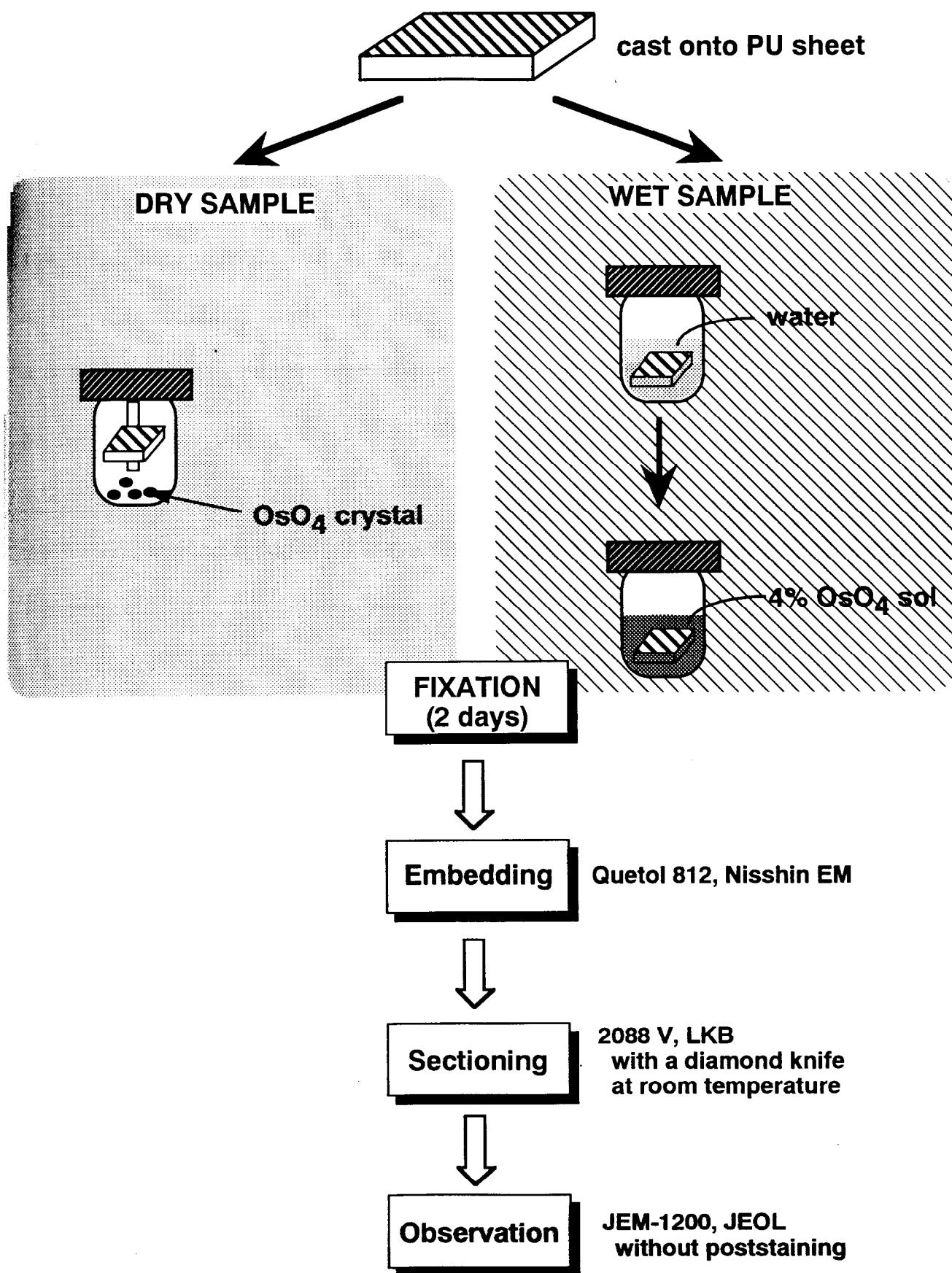


Figure 2-3. Scheme of sample preparation method for TEM observation.

Table 2-1. Characterization of HEMA/Styrene Block and Random Copolymers

sample	synthetic method	molecular weight (<i>M_n</i>)		<i>M_w</i> / <i>M_n</i> ^a	wt % of HEMA unit ^b
		polyHEMA block	polystyrene block		
L-50	anionic living	2400 × 2 ^c	5500 ^c	1.26	45
L-60	anionic living	10700 × 2 ^c	12600 ^c	1.08	61
T-60	addition reaction of telechelic oligomers	10300 × 2 ^d	12200 ^e	5.68	63
R-50	radical copolymerization	77000 (total) ^a		2.01	47

^a Determined by SEC after benzylation of hydroxyl group of HEMA unit.

^b Determined by elemental analysis.

^c Determined by ¹H-NMR and SEC (polystyrene calibration).

^d Determined by vapor pressure osmometry in methanol at 40 °C.

^e Determined by viscometry, [η]=3.64 × 10⁻⁴M^{0.64}.

2-3 アニオンリビング重合で合成されたpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の

TEM観察による表面構造解析

ブロック共重合体の表面構造を断面TEM像から観察した例は決して少なくない。その中でも1985年に長谷川・橋本らによって報告されたpoly(styrene-*b*-isoprene)の例は非常に有名である[10]。それまでは分光学的手法もしくは接触角測定からしか予想されていなかった表面への一成分の濃縮が視覚的に証明されたからである。ここではトルエン溶液から製膜されたpoly(styrene-*b*-isoprene)フィルムの最表面がポリイソプレン層で完全に覆われていることを示しており、その理由を空気とフィルムの間の表面自由エネルギー差をより小さくするために低エネルギー成分が表面に濃縮すると説明している。また彼らはキャスト溶媒の表面構造に与える影響についても検討している。キャスト溶媒に一成分の貧溶媒を用いることでバルクのミクロ相分離構造はラメラ状からシリンダー状や共連続構造状(ordered bicontinuous double diamond structure, OBDD)を経て海島状に変化するが、フィルム最表面はいずれもポリイソプレン層で覆われており、バルクと表面は異なる性質を有するものであることを報告している[11]。

我々は表面が発現する血液適合性という機能と表面状態との相互関係を明らかにするためにHEMA/スチレンブロック共重合体に対してこの手法を用いて表面構造解析を試みた。図2-4にL-50のDMF溶液及びTHF/メタノール混合溶液(5/1, v/v)から製膜されたフィルムの断面TEM像を示す。OsO₄によって黒く染色された層がポリHEMAドメインを、染色されなかった白い層がポリスチレンドメインを示している。また、写真上方のグレーの部分の部分が包埋樹脂であり、この界面に観察されるのがフィルム最表層である。DMF溶液からキャストされたL-50はドメイン幅が65~75Åのラメラ状のミクロ相分離構造を示した。L-50のバルク中のポリHEMA分率は45wt%であり、Molau則[12]に従った相分離構造であることが確認された。また、バルク中の相分離構造は不規則な形態であるが、表面からの数層はフィルム平面に平行な層構造を示しており、最表面

は染色されていない白い層、即ちポリスチレン層で完全に覆われていることがわかった。

THF/メタノール混合溶液から製膜されたL-50フィルムからもラメラ状のミクロ相分離構造が観察された。ここでも最表面は完全にポリスチレン層で覆われていたが、DMF溶液から製膜した場合と異なり、第一層のポリスチレン層が部分的に切断されていることがわかった。この原因はよくわかっていないが、溶媒蒸発速度に由来しているものと予想している。DMFは蒸発速度が遅いため、表面構造は時間をかけてゆっくりと構築され低エネルギー成分であるポリスチレンが完全な層を形成することが可能であるのに対して、THF/メタノールは蒸発速度が速いため、表面構造も短時間で形成される。そのため、連続したポリスチレン層を形成できず、部分的に切断されたような構造をとるのではないかと考えている。

Castner, RaterらはADXPSとS-SIMSからアニオンリビング重合法で合成された成分比が1:1のpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)フィルムの表面構造解析を行い、その最表面はポリスチレン成分でほぼ完全に覆われていることを報告している[9]。我々はフィルムの断面TEM像から彼らの結果となんら矛盾のない結論を導き出すことができた。また、TEM観察からは表面状態のみでなく、バルクの構造も観察することが可能であり、ブロック共重合体の表面及びバルク構造解析に非常に有用であることが示唆された。

図2-5にDMF溶液から製膜されたL-60の断面TEM像を示す。バルクのミクロ相分離構造はL-50の場合と異なり、海島状(ポリスチレンドメイン：島成分、ポリHEMAドメイン：海成分、島成分の大きさ：約100 Å)からシリンダー状のミクロ相分離構造であった。Molau則では一成分の成分比が35～65%の場合にラメラ状の相分離構造を示すと言われているが[12]、実際に得られた構造は海島状であった。この理由はキャスト溶媒にあると予想している。キャスト溶媒であるDMFはポリスチレンよりもポリHEMAの良溶媒であるため、ポリHEMAドメインの見かけ上の体積分率が大きくなり、海島状の相分離構造となったのであろう。次に最表面の状態に注目すると、

バルクのみクロ相分離構造は海島状であるにも関わらず、最表層の第一層は連続したポリスチレン層であることがわかった。しかし、像を拡大して良く観察してみると、部分的にポリスチレンドメインとポリHEMAドメインが混合したような部分(図2-5bに矢印で示した)が存在することがわかった。L-50には存在しなかったこのような表面構造の欠陥はL-60のバルク中でのポリHEMA体積の占有率が高いことによって生じたのであろう。また、この表面構造は製膜直後のものであり、製膜後に十分なアニーリングを施した場合のように完全平衡の状態とは異なるであろう。そのために存在しうる欠陥ではないかと考えている。

次に濡れた状態での表面構造について検討した。先にも述べたように、ブロック共重合体の表面構造は外部の環境に依存して変化することが予想されること、血液適合性という機能は濡れた表面によって発現されていること、直接的に観察された例がないことから非常に興味深い。我々は濡れた状態の表面構造を観察するために、構造の固定・染色方法に工夫を行った。通常のTEM観察では包埋前に OsO_4 蒸気を用いて構造の固定・染色を行うが、濡れた試料に対しては試料を乾かすことなく OsO_4 水溶液に直接浸漬することで構造の固定・染色を行った。この方法によって水中浸漬後の表面構造の固定が可能であり、濡れた状態でのTEM観察が可能となった。水中浸漬1時間後のL-60フィルムから得られた断面TEM像を図2-6に示す。製膜直後の乾燥状態で観察された膜最表面のポリスチレン層が一部には存在しているもののそのほとんどが消失しており、変わりにポリスチレンからなる短いロッド状のドメインが水中方向に向かって伸びている状態を観察することができた。ポリHEMAドメインの様子はこのTEM像からは十分に観察されていないが、ポリHEMA鎖はポリスチレン鎖と直接連結されていることから予想して、水中方向に伸びたポリスチレンドメインの回りを覆うように存在しているのであろうと考えている。また、このようなモルフォロジーの変化は表面のみで起こっており、バルクのみクロ相分離構造には顕著な違いが認められないことがわかった。

以上のように試料調製法を工夫することで濡れた状態での表面構造をTEM観察から視覚的にとらえることが可能であった。乾燥状態と濡れた状態での表面の様子はドメインサイズのオーダーでモルフォロジーが異なっており、環境変化に依存した表面構造の再構築はポリHEMA中の水酸基の主鎖を中心とした回転運動によって生じるのではなく、ドメインとしての大きな運動によるものであることが明らかにされた。

濡れた状態での表面構造を断面TEM像から視覚的にとらえた例としては、森・中浜らによってすでに報告されている、親水性成分にポリ(2, 3-ジヒドロキシプロピルメタクリレート, DIMA)、疎水性成分にポリスチレンを有するジブロック共重合体がある[13]。表面の様子をL-60の場合と比較すると、L-60では最表面のポリスチレンドメインは短く水中方向に伸びた様子が、DIMA/スチレンブロック共重合体ではポリDIMAに覆われた球状のポリスチレンミセルが最表面に多数存在した様子が観察されており、それぞれは異なる形態であった。この詳細は十分に明らかになっていないが、化学構造・分子量・ブロック型(ABA or AB)などによって表面構造再構築の様子も異なり、水中での表面状態に違いが現れるのであらうと考えている。

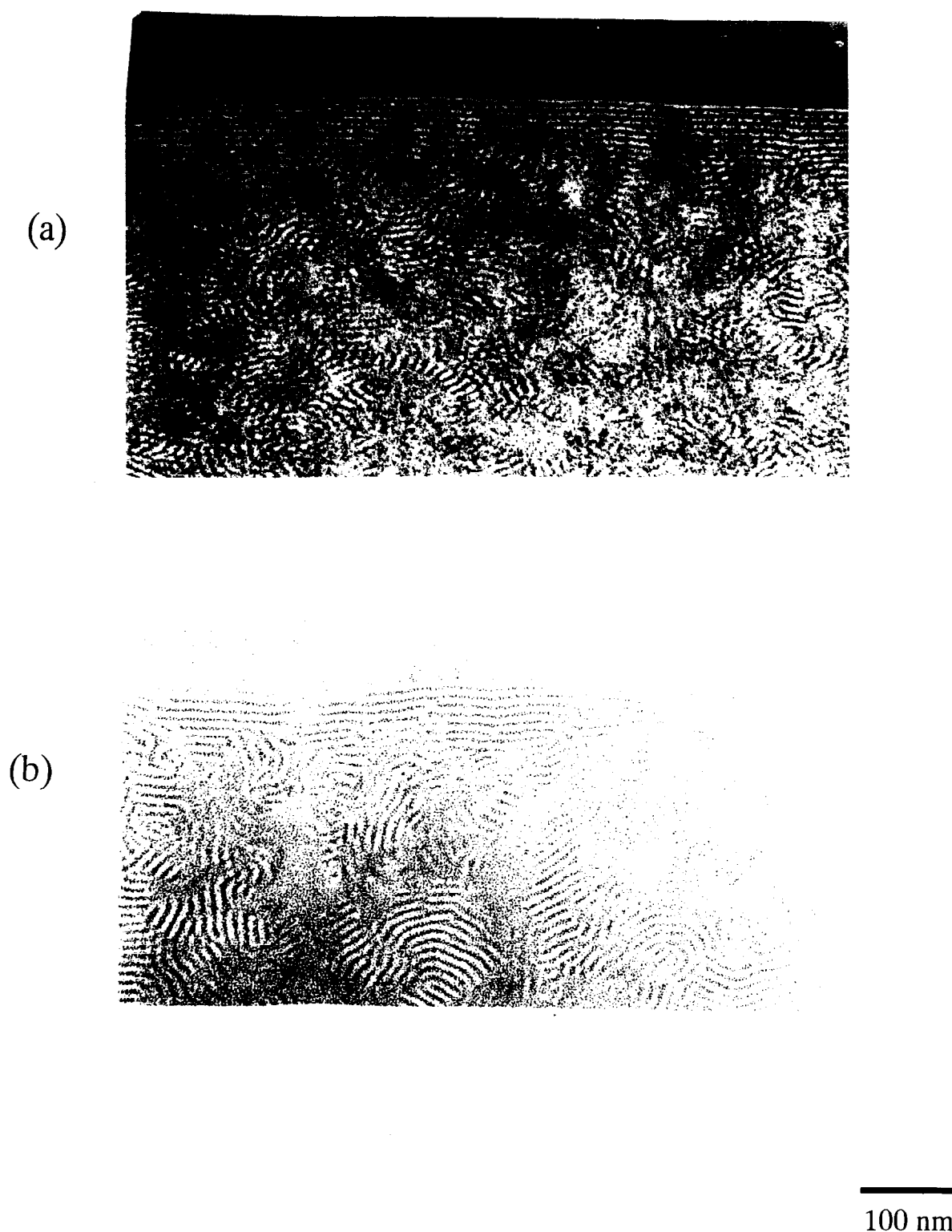


Figure 2-4. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of (a) L-50 cast from DMF, and (b) L-50 cast from THF/methanol (5/1, v/v). Black area stained with OsO_4 is polyHEMA domain, and white area corresponds to polystyrene microdomain.

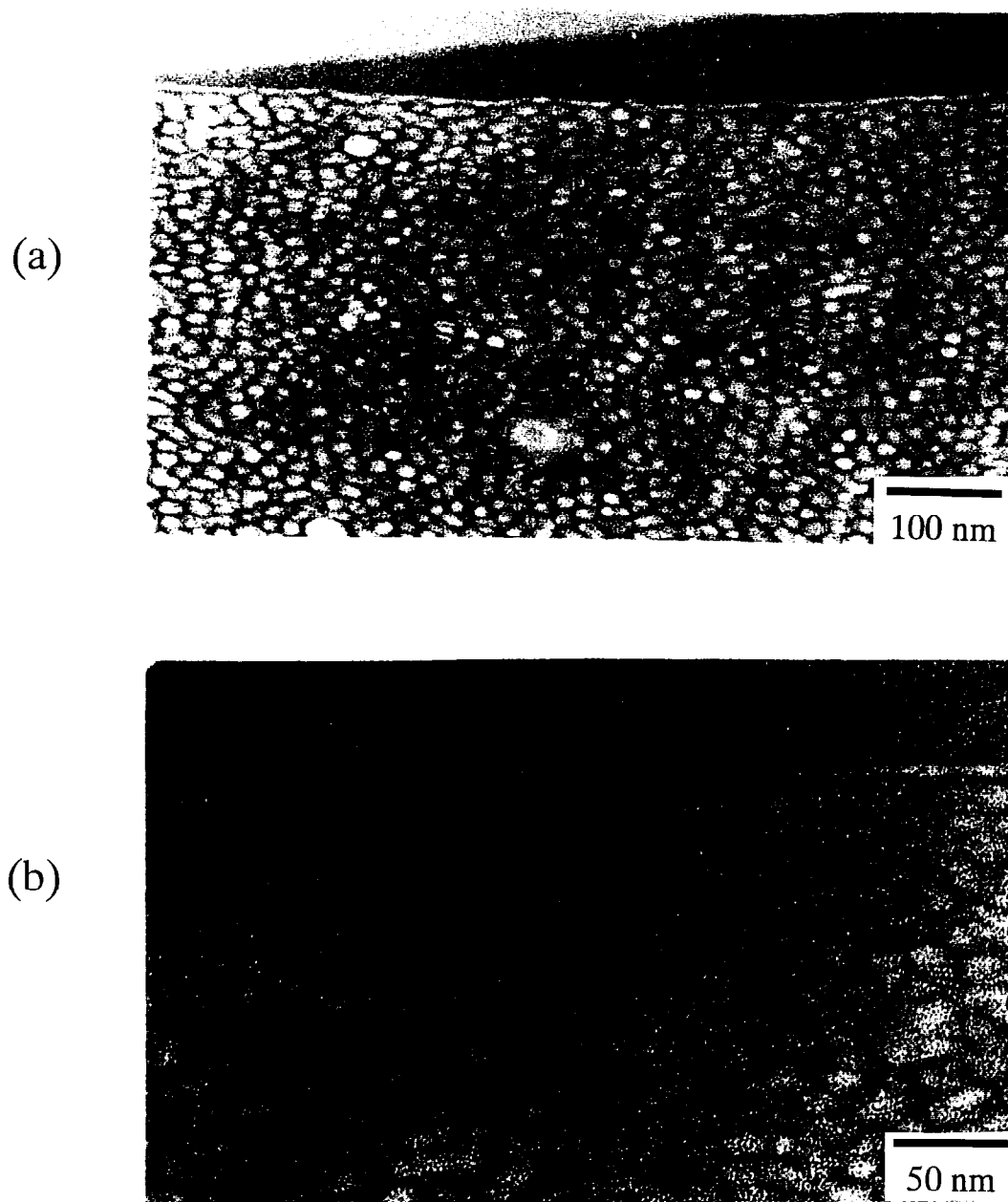
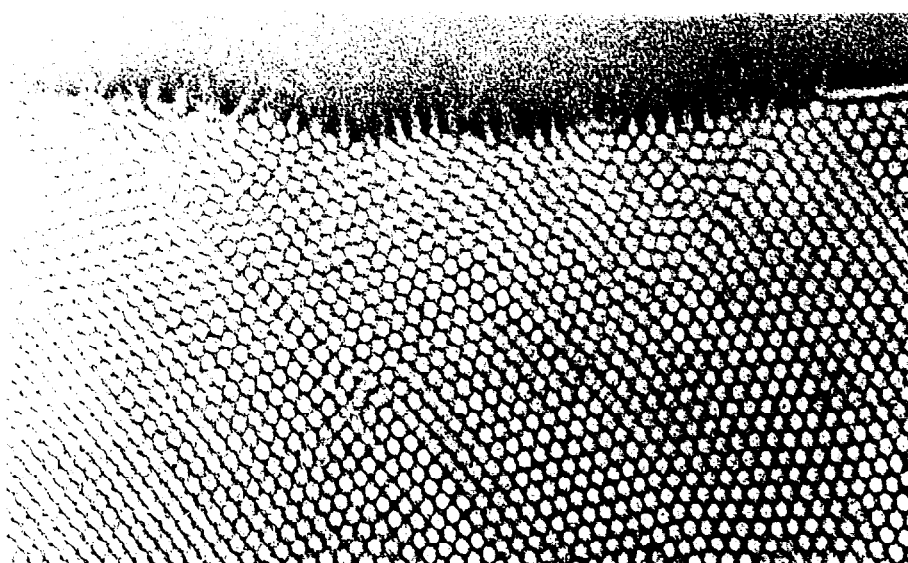


Figure 2-5. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin section of (a) L-60 cast from DMF, and (b) expanded region near surface. The arrows in Figure 2-5(b) indicate the dark spots where polystyrene and polyHEMA segments may mixed.



100 nm

Figure 2-6. Transmission electron micrograph (cross sectional view) of the ultrathin section of L-60 after hydration for 1 h.

2-4 テレケリックポリマーの付加反応から合成された

*poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)*のTEM観察による表面構造解析

2-3章ではアニオンリビング重合から合成された*poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)* (L-HS) のキャストフィルムの表面構造をTEM観察から解析し、今までに報告されていたADXPSやS-SIMSからの表面構造解析結果と比較検討した結果について述べた。次にテレケリックポリマーの付加反応から合成された*poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)* (T-HS)のTEM観察による表面構造について検討した。図2-1に示したようにT-HSにはポリHEMA鎖とポリスチレン鎖間にウレア結合が存在する。ウレア結合の存在によって表面へのポリスチレン成分の濃縮の度合いが小さいことがCastner, Ratnerらによって報告されているが[9]、実際にどのような状態で表面にミクロ相分離構造を形成しているかは興味深い。

図2-7にT-60のDMF溶液から製膜されたフィルムの断面TEM像を示す。L-HSの場合と同様に、OsO₄で染色された黒い層がポリHEMAドメインを、染色されなかった白い層がポリスチレンドメインを示している。バルクでは海島状のミクロ相分離構造(ポリスチレンドメイン：島成分、ポリHEMAドメイン：海成分、島成分の大きさ：120～150 Å)が観察され、先に述べたL-60と非常に類似していることがわかった。これは成分比・分子量がほぼ一致しているためであろう。しかし、バルク中のドメイン間の界面の様子がL-60に比較すると不明瞭であった。これはT-HSの分子量分布の大きさに起因していると考えている(Mw/Mn=5.68)。

一方、フィルム最表面の構造に注目すると、L-50やL-60で観察されたような最表層を完全に覆うようなポリスチレン層の存在は認められなかった。最表面にはポリスチレン島成分とポリHEMAマトリックスの両者が存在しており、いくつかのポリスチレン島成分が部分的に連結して大きく成長した様子が観察された。これは成分間を連結するウレア結合間での水素結合によって、分子鎖の運動性が低下した状態で製膜されたためと予想している。DMF溶媒中でポリマー鎖はポ

リスチレンコア・ポリHEMAシェルのミセルを形成しており、溶媒が蒸発してフィルムを形成する際にマイクロ相分離構造が再構築される。L-60の場合はフィルム表面が安定化するように、低エネルギー成分であるポリスチレン成分が濃縮し、最終的にはフィルム表面を完全に覆うような形でマイクロ相分離構造が再構築されるが、T-60の場合には、ウレア結合間での水素結合によって分子運動が妨げられ、マイクロ相分離構造の再構築が完全に終了する前に、即ち一部にミセルの状態を残したままでフィルム表面が形成されるため、最表面がポリスチレン層で完全に覆われないのであろうと考えている。

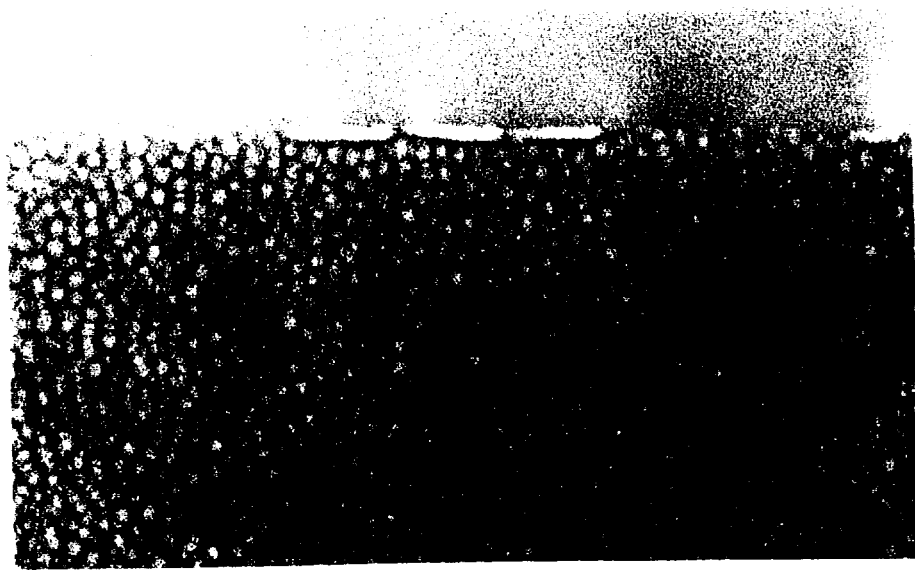
Castner, Ratnerらの結果とTEM観察の結果を比較すると、ここでも矛盾のない一致したものであった。TEM観察からはT-60においてもバルク中ではマイクロ相分離構造を形成しており、表面には低エネルギー成分であるポリスチレン成分が濃縮しているもののフィルム最表面がL-50やL-60のように完全に覆われていないことが明らかにされた。XPSやS-SIMSで得られる表面情報は二次元での平均的な情報であるため、濃縮の度合いがわずかであるという結果が導き出されたのであろう。

L-60の場合と同様に濡れた表面についても観察を行った。図2-8に水中浸漬1時間後のT-60の断面TEM像を示す。T-60の場合にも乾燥状態で観察されたような最表層に存在したポリスチレン濃縮の様子は観察されず、ポリHEMAに覆われた短いロッド状のポリスチレンドメインが水中方向に伸びたような構造が観察された。また、ここでもバルクのマイクロ相分離構造の変化は認められなかった。これらの様子は図2-6に示したL-60の水中浸漬後の表面状態に非常に良く似た構造であった。

以上のように、乾燥状態では異なる表面構造を有するL-60とT-60であったが、水中浸漬1時間後の表面状態はほぼ一致したものであることがわかった。アニオンリビング重合とテレケリック

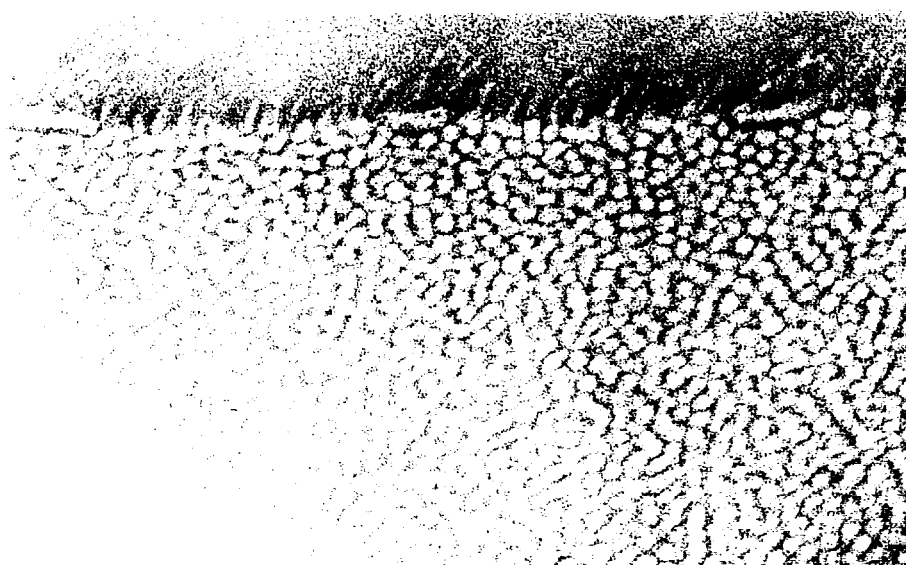
第2章

ポリマーの付加反応という合成法の違いによって分子量分布や成分間の結合様式が異なり、それによって乾燥状態での表面構造は異なるものであったが、濡れた状態での表面構造には顕著な違いがないことが明らかにされた。血液適合性という機能は乾燥した状態での表面によって発現されるのではなく、濡れた表面によって発現される機能である。L-60とT-60の血液適合性に顕著な違いがない理由が濡れた状態での表面構造解析から初めて理解された。



100 nm

Figure 2-7. Transmission electron micrograph (cross sectional view) of the ultrathin section of T-60 cast from DMF.



100 nm

Figure 2-8. Transmission electron micrograph (cross sectional view) of the ultrathin section of T-60 after hydration for 1 h.

2-5 静的接触角測定によるpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の表面構造解析

TEM観察による表面構造解析、及びCastner, Ratnerらのangular-dependent XPSとstatic-SIMSによる表面構造解析の結果からL-HSとT-HSでは乾燥状態での表面状態が異なることが明らかにされた。ここではこの両者の環境変化に応答した動的な表面構造を液滴法による接触角測定から比較検討した。

はじめに接触角について説明する。気体中で固体の上に液滴が存在するとき、気-液、気-固、液-固、それぞれの界面では平衡が保たれている。この平衡状態と接触角の関係がヤングの式であり、それを模式化したものが図2-9である[14]。一般的に接触角は空気中での水の接触角として求められ、固体表面が疎水性であるほど、接触角(θ)は大きくなり、親水性であるほど接触角は小さくなる。また、接触角測定は比較的短時間に行えるため、さまざまな環境下に置かれた表面状態の変化をとらえることが可能である。そこで、1)乾燥状態、2)水中浸漬後、3)水中浸漬後に空気中で風乾、4)水中浸漬後にアニーリングした場合のフィルムの接触角測定を行った。図2-10にL-50, T-60, 及びR-50のそれぞれの測定結果を示した。

製膜直後のL-50フィルムは91~93度と非常に高い接触角を示した。この値はスチレンホモポリマーとほぼ一致する値であり、フィルム最表面がポリスチレン成分で覆われていることが示唆される。これは先に述べたTEM観察の結果やADXPS, S-SIMSの結果と一致するものである。このフィルムを水中に10分間浸漬すると、接触角は小さくなり、水中浸漬によって表面が親水性に変化していることがわかった。また、その度合いは水中浸漬30分ではほぼ平衡に達しており、平衡時の接触角はHEMAホモポリマーとほぼ一致することがわかった。このことは水中浸漬30分によってフィルム最表面がポリスチレンからポリHEMAに入れ替わったことを示唆しており、TEM観察で明らかにされた外部環境に応答した表面構造変化に対応するものである。低い界面エネルギーを有する空気から高い界面エネルギーである水に外部環境が変わったことで、フィルム表面に存

在していたポリスチレンドメインは不安定になり、フィルム自身が高表面エネルギーとなるようにポリHEMAドメインがポリスチレンドメインと入れ替わったのであろうと考えている。また、この水中浸漬したフィルムを空气中・室温下で風乾してもわずかに疎水性になるだけであり、顕著な接触角変化は認められなかった。しかし、空气中・80℃で30分間アニーリングすると、フィルム表面は再び疎水性を示し、表面構造の再構築が起こっていることが明らかにされた。また、これらの現象は繰り返し起こることも確認された。即ち、アニーリング後のフィルムを再び水中浸漬すると表面は親水性を示し、風乾しても疎水性に戻らないが、再度のアニーリングによって再び疎水性表面に戻ることがわかった。尚、ここには示さなかったが、L-60についても同様の実験を行っている。得られた結果はL-50となんら変わらないものであり、環境変化に応答した表面構造の再構築には成分比の僅かな違いはほとんど影響しないことが確認されている。

T-60についても同様の実験を行った。製膜直後のT-60はL-50と同様にスチレンホモポリマーと同程度の疎水性を示した。これは先のTEM観察結果やADXPS, S-SIMSの結果と比較すると矛盾するものであるが、この原因は分析深さにあると考えている。接触角は表面の数Åに反映するが、XPSやS-SIMSの分析深さは15~20 Åである。またTEM観察での分解能も20 Å程度である。接触角はより浅い表面の情報であるため、このような矛盾が生じたのであろう。これより、T-60フィルムも数Å程度の極最表面はポリスチレン層で覆われていると考えた。このフィルムを水中浸漬するとフィルム表面は親水性に変化し、約30分間の浸漬で平衡に達した。また、空气中・室温下で風乾しても接触角はほとんど変化せずL-50と同様の挙動を示した。しかし、T-60はアニーリングによっても疎水性表面に戻らず、長時間のアニーリング(2時間)でも疎水性には戻らなかった。これより、L-50では可逆的であった表面構造の再構築がT-60では不可逆的であることがわかった。

一方、R-50の製膜直後の接触角はスチレンホモポリマーとHEMAホモポリマーの中間の値を示した。また、水中浸漬してもわずかに親水性に変化するのみであり、ブロック共重合体の時のよ

うに環境変化に応答した表面状態の変化は認められなかった。

HEMAとスチレンのモノマー反応性比は岡野らによるラジカル共重合の結果からそれぞれ0.85と0.33と求められている[15]。これらの値からR-50中の平均連鎖長を次式に従って求めると、

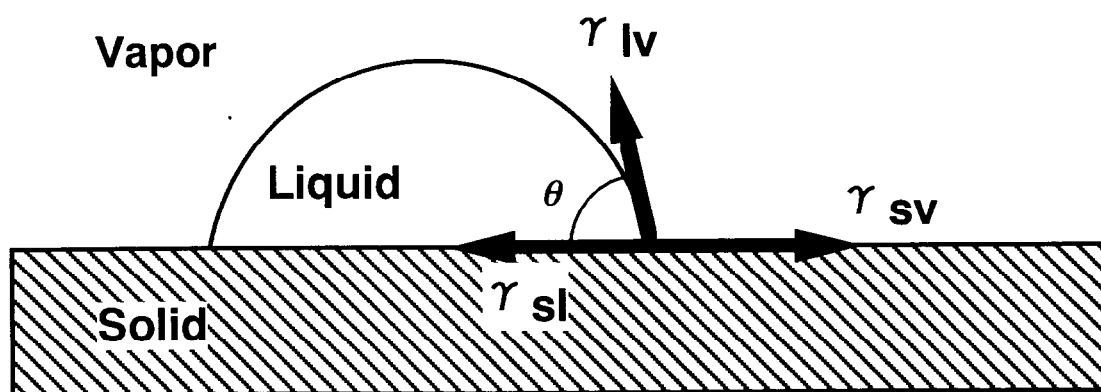
$$l_1 = r_1[M_1]/[M_2] + 1$$

$$l_2 = r_2[M_2]/[M_1] + 1$$

ここで、 $l_1(l_2)$; 平均連鎖長
 $r_1(r_2)$; モノマー反応性比
 $[M_1]([M_2])$; 仕込み中のモノマー濃度
 (本実験では等モル量の仕込みから合成した)

HEMAで1.9、スチレンで1.3となる。これより、R-50中ではHEMAユニット、スチレンユニット共に短い繰り返しであり、ドメインといえるような大きな構成単位は存在しないことがわかる。即ち、R-50フィルムの最表面にはHEMAユニットとスチレンユニットの両者が存在し、ドメインとしての運動性を有さないため、環境変化に応答した表面構造の再構築が観察されなかったであろう。わずかな接触角の変化はHEMA中の水酸基や α -メチル基の主鎖を中心とした回転運動によって起こったものと予想している。

以上、液滴法による接触角測定の結果から、ブロック共重合体では環境変化に応答した表面構造の再構築が起こるが、ランダム共重合体では起こらないことを明らかにすることができた。また、ブロック共重合体の中でも成分間が直接連結されているアニオンリビング重合から合成されたL-50やL-60では再構築が可逆的に起こるが、成分間にウレア結合の存在するテレケリックポリマーの付加反応から合成されたT-60では乾燥状態→濡れた状態での変化のみ応答し、可逆的でないことがわかった。



Young's Equation

$$\gamma_{lv} \cos \theta = \gamma_{sv} - \gamma_{sl}$$

Figure 2-9. Equilibrium contact angle and Young's equation.

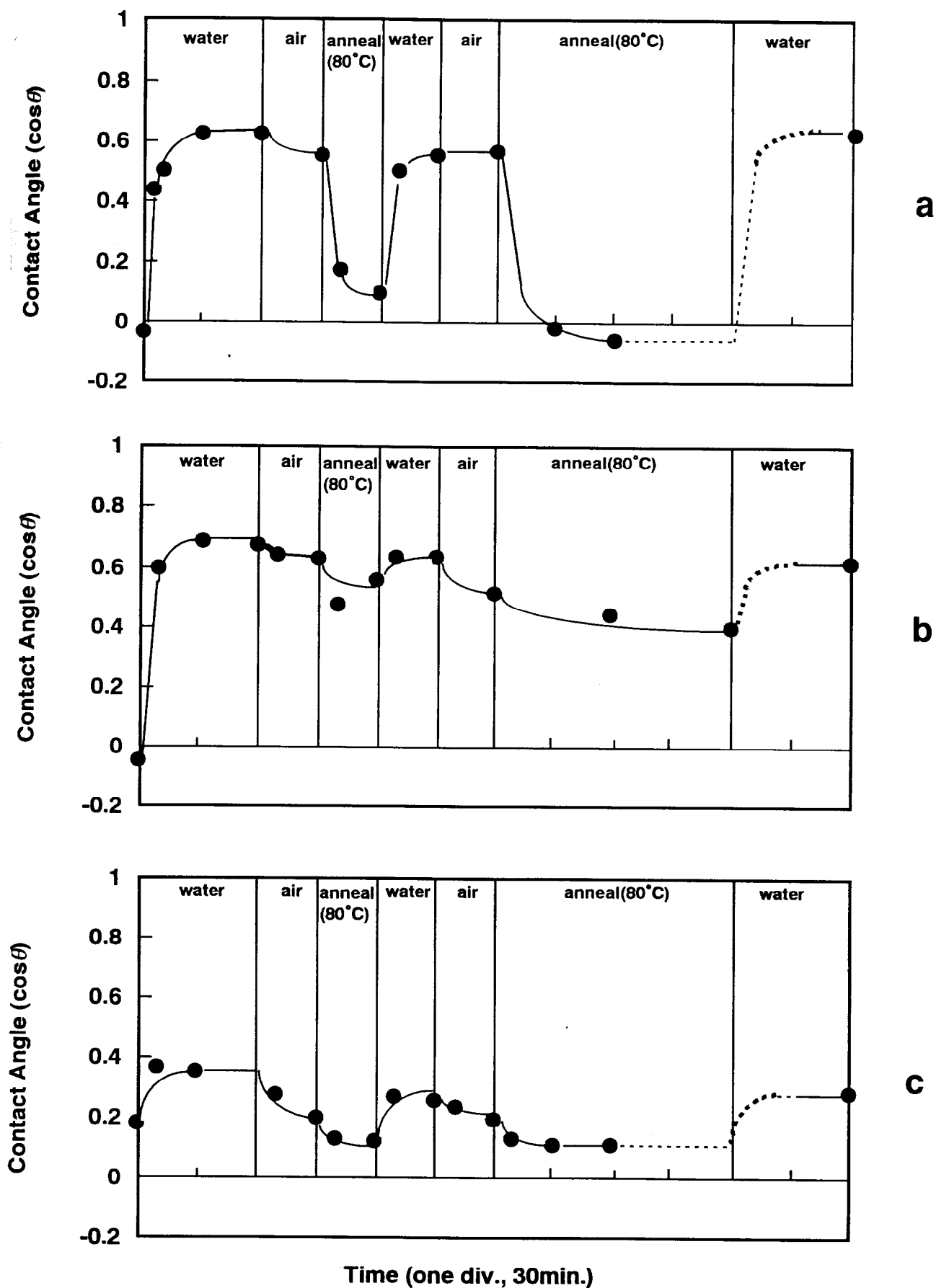


Figure 2-10. Static contact angle ($\cos\theta$) of a water droplet on (a) L-50, (b) T-60, and (c) R-50 cast films from DMF as a function of treating period under dry and wet conditions.

2-6 動的接触角測定によるpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の表面構造解析

最後にWilhelmy Plate法を利用した動的接触角測定より各共重合体の製膜直後の乾燥状態から濡れた状態に至る表面構造の変化の様子について検討した。はじめにWilhelmy Plate法について説明する。この方法はAndradeらによって開発された動的接触角測定法であり、試料の水中浸漬・引き上げ時にかかる荷重をマイクロバランスで測定し、その荷重から接触角を求める方法である[16]。試料が水中に浸漬されるときにの接触角を前進接触角、引き上げられるときの接触角を後退接触角と呼び、その両者の差をヒステリシスと言う。Wilhelmy Plate法の測定原理を図2-11に示した。Hogtらはこの方法を用いてメチルメタクリレート(MMA)とHEMAのランダム共重合体の動的接触角測定を行い、HEMAのモル分率と動的接触角値との関係から前進接触角は低表面自由エネルギー成分に、後退接触角は高表面自由エネルギー成分に敏感であると報告している[17]。これはJohnson, Dettreの接触角ヒステリシスのモデル計算からも示されており、動的接触角測定の大きな特徴のひとつである[18]。また、ヒステリシスが大きいほど表面の動的な運動性が高いと言われており、液滴法とは異なった表面情報を得ることが可能である。

L-50、T-50、及びR-50から得られたヒステリシスループを図2-12に、それぞれのループから求められた各浸漬毎の前進接触角を表2-2示した。ループに示した1～5の数字は浸漬回数を現している。それぞれのループを比較すると、L-50では浸漬回数の増加に伴い前進接触角が徐々に親水性に変化することが、T-60では1回の浸漬で平衡に達し、2回目以降のループに差がないことが、R-50ではブロック共重合体に比べてヒステリシスが小さいことがわかった。また、いずれの試料においても後退接触角は浸漬回数によらずほぼ一定の値を示した。これは上で述べたように、後退接触角は高表面エネルギー側に敏感であるためであろうと予想している。即ち、1回目の水中浸漬によって表面がわずかに親水性に変化することで後退接触角は飽和してしまうのであろうと

考えている。そこで、ここでは浸漬回数毎に変化の現れた前進接触角にのみ注目した。

L-50では1回目の浸漬ではスチレンホモポリマーと同程度の接触角を示し、液滴法と同様の結果であった。浸漬回数が増加するに従い、接触角は徐々に小さくなり、フィルム表面が親水性に変化する様子がとらえられた。しかし、浸漬5回目の接触角は水中浸漬30分後に測定した値ほどは親水性を示しておらず、5回の浸漬でフィルム表面が完全に平衡に達していないことが示唆された。試料の移動速度が20mm/min、1回の移動距離が往復で40mmであるので、1回の浸漬・引き上げに約2分を要する。5回の浸漬・引き上げで計10分水中に浸漬されていることになり、この程度の時間では再構築が完全に終了しないことが予想された。

T-60では1回目の浸漬ではL-50同様にスチレンホモポリマーと同程度の接触角を示したが、1回の水中浸漬において表面状態は平衡に達してしまい、2～5回目の接触角はほぼ一致した値を示した。また、この値は水中浸漬30分後の値とほぼ一致することから、完全に平衡状態に達しているものと予想される。即ち、T-60はL-50に比べて非常に速く表面構造の再構築が終了することがわかった。この原因としては最表層のポリスチレン層の厚さにあるのではないかと考えている。2-5章でも述べたようにT-60フィルム最表面のポリスチレン層の存在は接触角測定からのみ支持されている結果であり、非常に薄い層(数Å)であることが予想されている。即ち、短時間の水中浸漬によって容易にポリHEMAドメインとほぼ完全に入れ替わってしまうのであろう。

R-50では1回目の水中浸漬においてもスチレンホモポリマーとHEMAホモポリマーの中間程度の接触角を示し、水中浸漬回数が増加してもその値はほとんど変化しなかった。また、後退接触角もブロック共重合体に比べて大きい値を示しており、ヒステリシスが小さいことがわかった。これは、ランダム共重合体表面はブロック共重合体のそれに比べて表面のダイナミクスが小さいことを意味している。これよりランダム共重合体の表面にはスチレンユニットとHEMAユニットの両者が存在していること、大きな運動性を有するドメインが存在しないことが示唆された。また、わずかに観測されたヒステリシスはHEMAユニットの水酸基や α -メチル基の主鎖を中心とし

た回転運動によって生じる再構築に由来していると考えている。

以上、Wilhelmy plate法による動的接触角測定の結果からも、ブロック共重合体の製膜直後の最表面はポリスチレン層で覆われていること、環境変化に応答した再構築を示すことが確認できた。また、各成分間がウレア結合で連結されているT-60は直接連結されているL-50に比べて短時間で再構築を終了することがわかった。

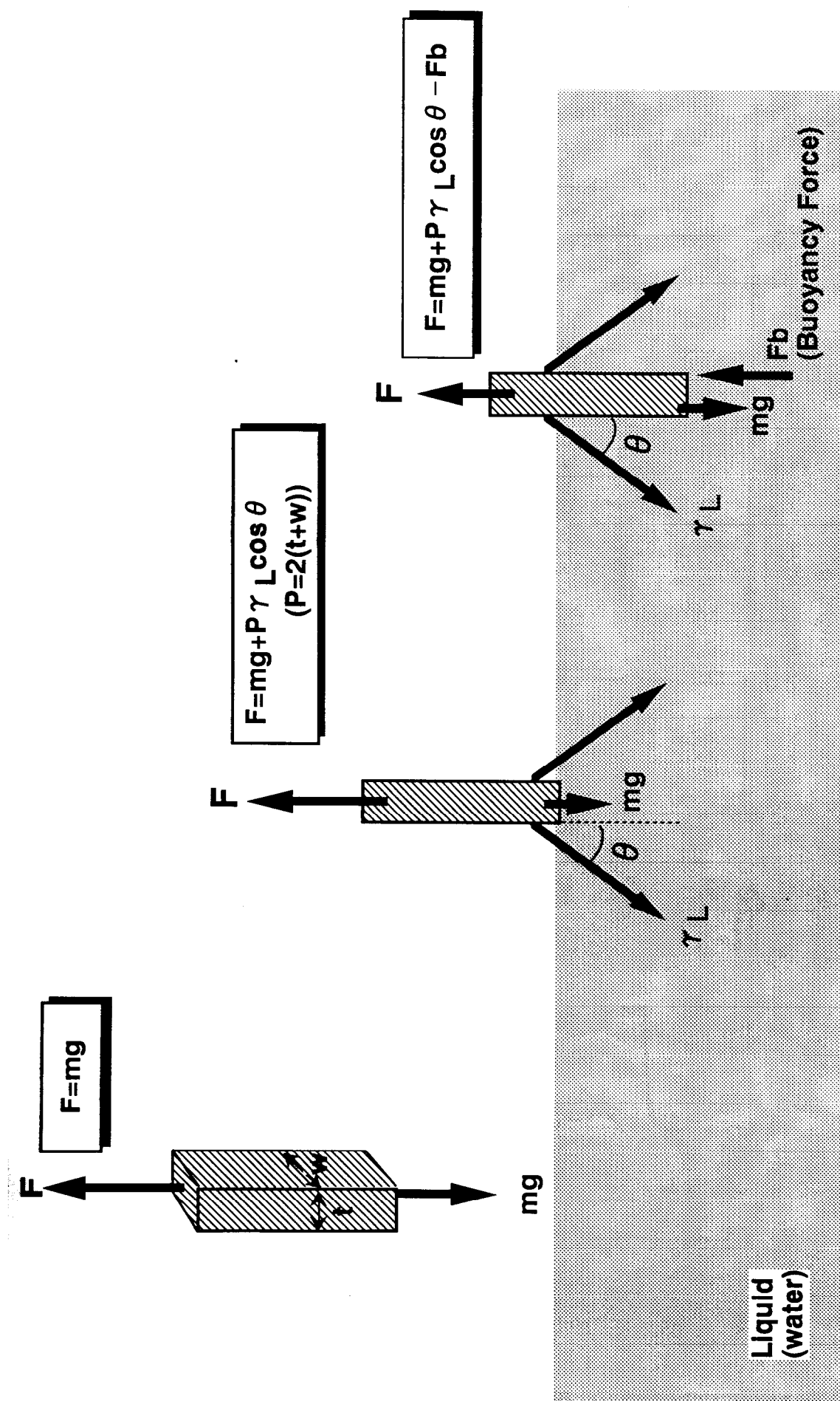


Figure 2-11. Schematic representation of principle of dynamic contact angle measurement by Wilhelmy plate technique.

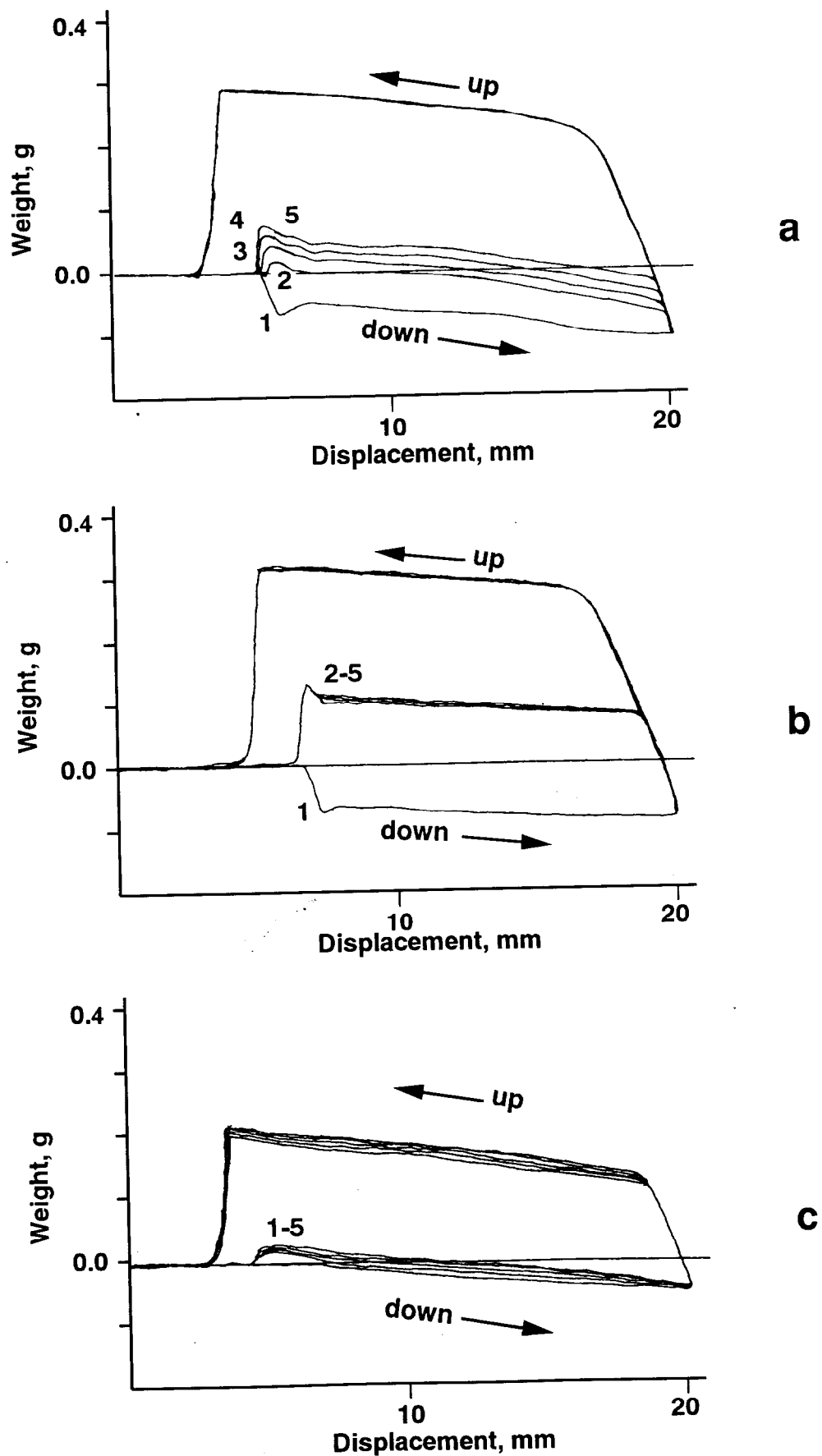


Figure 2-12. Hysteresis loops of (a) L-50, (b) T-60, and (c) R-50 cast films from DMF. The arrow indicates the immersion direction in water, and the number 1-5 indicates the cycling time.

Table 2-2. Wilhelmy Plate Advancing Contact Angles of HEMA-Styrene Block and Random Copolymers^a

sample	L-50	T-60	R-50
advancing contact angles (deg) at each immersion cycle	1st	99.6 ± 0.5	89.7 ± 0.8
	2nd	69.6 ± 0.6	86.3 ± 0.9
	3rd	70.4 ± 0.4	84.8 ± 1.4
	4th	69.1 ± 0.5	83.6 ± 1.1
	5th	65.4 ± 1.9	82.9 ± 1.6
advancing contact angles (deg) after 30 min hydration	1st	63.2 ± 1.6	83.4 ± 1.2

^a All values indicate mean ± standard deviation. Advancing angles (deg) of styrene and HEMA homopolymers at first immersion are 96.3 ± 1.3 and 57.9 ± 1.4, respectively.

2-7 結論

本章では合成法の異なる2種類のHEMA/スチレンブロック共重合体の表面構造についてTEM観察、及び接触角測定から解析を行い、それぞれの違いについて検討した。その結果、TEM観察からはアニオンリビング重合から合成された、各成分間が直接連結されているpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)(L-HS)のフィルム最表面はポリスチレン層ではほぼ完全に覆われていることが、テレケリックポリマーの付加反応から合成された、成分間にウレア結合を有するpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)(T-HS)のフィルム最表面にはポリスチレン成分が濃縮してはいるもののポリHEMA成分も存在することが視覚的に確認できた。この結果は、今までに報告されているADXPSやS-SIMSの結果と一致するものであり、TEM観察による表面構造解析の有用性が示唆された。更には濡れた状態での表面構造を視覚的にとらえることが可能であった。多相系高分子フィルムでは空気中のような乾いた状態での表面には低エネルギー成分が、濡れた状態での表面には高エネルギー成分が濃縮していることが接触角測定やXPS測定の結果から示唆されていたが、その状態を視覚的にとらえることができたのは大きな成果である。

接触角測定からは製膜直後のブロック共重合体表面はポリスチレンと同等の疎水性を示すが、水中浸漬によって親水性に変化すること、空気中で風乾しても疎水性には戻らないが、80℃でアニリングすることで再び疎水性表面に戻る様子を確認することができ、環境変化に応答した表面構造の再構築を明らかにすることができた。ここで特徴的な現象は、L-HSの環境応答性は可逆的に起こるが、T-HSのそれは不可逆的であり、一旦親水性になった表面はアニリングによっても再び疎水性に戻らなかったことである。このようにウレア結合の有無というわずかな化学構造の違いが表面構造再構築に大きく影響していることを明らかにできた。また、Wilhelmy Plate法による動的接触角測定からはL-HSとT-HSの環境応答性の速度に違いがあり、T-HSはL-HSに比べて短時間で表面構造の再構築を終了させることがわかった。

以上、わずかな化学結合の違いが表面構造やその再構築の様子に大きく影響していることが確認できた。また、バルクでは同様のミクロ相分離構造を有し、共に優れた血液適合性を示すL-HSとT-HSであるが、表面の状態には大きな違いがあることがわかった。

参考文献

- 1) T. Okano, M. Katayama, I. Shinohara, *J. Appl. Polym. Sci.*, **22**, 369 (1978)
- 2) T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, T. Akaike, Y. Sakurai, K. Kataoka, T. Tsuruta, *J. Biomed. Mater. Res.*, **15**, 393 (1981)
- 3) 阿部一彦, 関口守衛, 片岡一則, 岡野光夫, 桜井靖久, 明見 仁, 篠原 功, *人工臓器*, **17**, 495 (1988)
- 4) T. Okano, T. Aoyagi, K. Kataoka, K. Abe, Y. Sakurai, M. Shimada, I. Shinohara, *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, 919 (1986)
- 5) A. Hirao, H. Kato, K. Yamaguchi, S. Nakahama, *Macromolecules*, **19**, 1294 (1986)
- 6) C. Nojiri, T. Okano, D. Grainger, K. D. Park, S. Nakahama, K. Suzuki, S. W. Kim, *Trans ASAIO*, **33**, 596 (1987)
- 7) C. Nojiri, T. Okano, H. A. Jacobs, K. D. Park, S. F. Mohammad, D. B. Olsen, S. W. Kim, *J. Biomed. Mater. Res.*, **24**, 1151 (1990)
- 8) T. Okano, K. Suzuki, N. Yui, Y. Sakurai, S. Nakahama, *J. Biomed. Mater. Res.*, **27**, 1519 (1993)
- 9) D. G. Caster, B. D. Ratner, D. W. Grainger, S. W. Kim, T. Okano, K. Suzuki, D. Briggs, S. Nakahama, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **3**, 463 (1992)
- 10) H. Hasegawa, T. Hashimoto, *Macromolecules*, **18**, 589 (1985)
- 11) H. Hasegawa, T. Hashimoto, *Polymer*, **33**, 475 (1992)
- 12) G. E. Molau, In: *Block Copolyemers*, ed: Aggarwal, Plenum Press, New York (1979), p79
- 13) H. Mori, A. Hirao, S. Nakahama, K. Senshu, *Macromolecules*, **27**, 4093 (1994)
- 14) T. Young, *Phil. Trans.*, **95**, 65 (1805)
- 15) T. Okano, J. Aoyagi, I. Shinohara, *Nippon Kagaku Kaishi*, **1**, 161 (1976)
- 16) J. D. Andrade, L. M. Smith, D. E. Gregonis, in: *Surface and Interfacial Aspects of Biomedical Polymers*, ed: J. D. Andrade, Plenum Press, New York (1985), vol 1, chapter 7
- 17) A. H. Hogt, D. E. Gregonis, J. D. Andrade, S. W. Kim, J. Feijen, *J. Colloid and Interface Sci.*, **106**, 289 (1985)
- 18) R. H. Dettre, R. E. Johnson Jr., *J. Phys. Chem.*, **69**, 1507 (1985)

第3章 HEMA/イソプレンブロック共重合体の 表面構造とその環境応答性

3-1 はじめに

第2章では血液適合性材料としての実績を有するpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の表面構造についてTEM観察及び接触角測定から解析し、外部環境変化に応答した表面構造の再構築が起ることを明らかにした。親水性-疎水性ブロック共重合体表面は、血液適合性という機能を有しているだけでなく、外部の環境変化に対して応答性を示すという特徴も非常に興味深い。そこで、第3～6章ではさまざまな種類の親水性-疎水性ブロック共重合体の環境変化に応答した表面構造の再構築の様子について詳細に検討した。

本章では疎水性成分にポリイソプレンを用いた親水性-疎水性ブロック共重合体、poly(HEMA-*b*-isoprene)の表面構造について詳細に検討した。はじめに疎水性成分にポリイソプレンを選択した理由であるが、一番にTEM観察を容易にすることが挙げられる。第1章でも述べたように、染色剤である四酸化オスミウム(OsO_4)は炭素-炭素二重結合と反応することでマイクロ相分離構造を固定できることが知られている[1-4]。即ち、短時間に構造を固定できることが予想され、さまざまな環境下での動的な表面状態の変化をとらえることができるのではないかと考えた。2番目の理由にTgの低いことが挙げられる。poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の場合、水中浸漬することで表面は親水性に変化した。が、空气中・室温で風乾しても元の疎水性には戻らなかった。この原因にポリスチレン成分のTg(95℃)が高いことを予想している。即ち、ポリスチレンは室温下においてガラス状態にあるため、親水性表面を空气中に静置してもガラス状態のポリスチレンドメインは運動することができず、疎水性表面に戻れないのであろうと推測している。そこで、Tgが室温以下のポリイソプレン(Tg=-69℃)を疎水性成分とすることで、室温下におい

ても表面構造が再構築を起こすのではないかと考えた。また、分子構造骨格もベンゼン環を有するポリスチレンに比べると、コンパクトであり、俊敏な表面構造の再構築が予想される。

以上のような背景を基に、本章ではpoly(HEMA-*b*-isoprene)の表面構造とその環境変化に対する応答性についてTEM観察、接触角測定、及びXPS測定から解析を行い、先に述べたpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の場合と比較検討を行った。

3-2 試料と実験

3-2-1 試料

ブロック共重合体はアニオンリビング重合から合成した。合成のスキームを図3-1に示す。ベンジルカリウムを開始剤とし、THF中、 -78°C にてイソプレンを重合した。重合活性末端を1,1-ジフェニルエチレンでキャップし、ブロック共重合中の副反応を避けるためにリチウムクロライドを添加した。続けて、セカンドモノマーの水酸基をトリメチルシリル基で保護したHEMA (HEMA-TMS)を加え、共重合した。重合終了後に精製したメタノールを用いてクエンチし、水中に再沈殿することでポリマーを回収した。再沈殿法による精製を繰り返した後、0.1Nの塩酸溶液を加え脱保護を行い、最終的に目的とするブロック共重合体を得た。合成の更なる詳細については参考文献を参照されたい[5, 6]。

ポリスチレンスタンダードを用いたSEC測定、及びNMRの結果から、本実験に用いたブロック共重合体は、数平均分子量(M_n)= 1.1×10^4 (ポリイソプレンセグメント: 5700、ポリHEMAセグメント: 5300)、分子量分布(M_w/M_n)=1.14、ポリHEMA成分の重量分率=48wt%であることが確認されている。

Living Polyisoprene

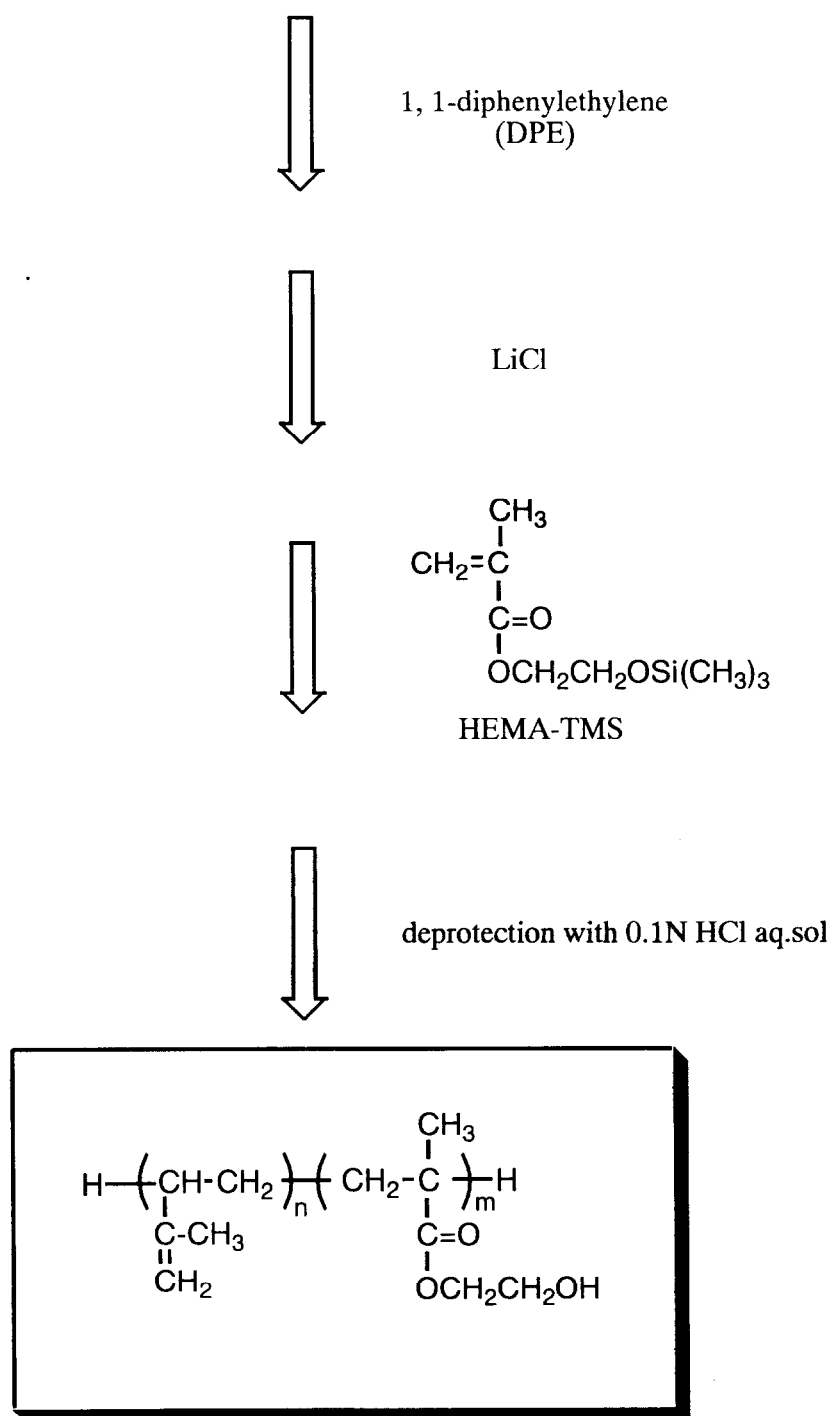


Figure 3-1. Scheme of synthetic method of poly(HEMA-*b*-isoprene) by anionic living polymerization.

3-2-2 TEM観察

2-2-2と同様の方法でTEM観察用試料を調製し、観察を行った。但し、キャスト溶媒にはDMFとTHFの混合溶媒(9/1, v/v)もしくはTHFとメタノールの混合溶媒(5/1, v/v)を用いた。また本章では乾燥状態から濡れた状態への表面構造の変化する過程を検討するために、水中浸漬時間を5, 10, 30, 60, 300秒とした。それぞれの試料を乾燥することなく素早く4%OsO₄水溶液に浸漬することで、構造の固定・染色を行った。

水中浸漬30分間の試料から得られた超薄切片に対してのみ観察直前に後染色を行った。後で詳細に説明するが、ポリHEMAドメインの染色性の低さのため、濡れた状態での最表面の構造を明瞭に観察することができなかった。そこで、ポリHEMAドメインを特異的に染色するために次のような方法で後染色を行った。超薄切片の載った銅メッシュを2.5%酢酸ウラニル溶液(水/アセトン=1/1, v/v)に15分間浸漬する。メッシュを取り出し、蒸留水でよく洗浄した後、約50℃のホットプレート上で乾燥させ、観察に供した。

3-2-3 液滴法による接触角測定

2-2-3と同様の方法で試料の調製、及び接触角測定を行った。また、水中浸漬後の親水性表面から疎水性表面への再構築に対するアニーリング温度の影響について検討するために、水中浸漬後の試料に対して34, 43, 52, 60, 及び90℃で1時間のアニーリングを施した後に、再び接触角測定を行った。

3-2-4 XPS測定

接触角測定用と同様の方法で調製した試料に対して試料角度傾斜法によるXPS測定(angular-dependent XPS, ADXPS)を行った。脱出角度(試料表面に平行な面と検出器との角度)を80, 45, 20, 10度の4点とした。測定にはPHI 5500MT(Perkin-Elmer)を用いて、単色化AlK α 線

をX線源として使用した。パスエネルギーは定性分析のためのsurvey scan時は187.85eVに、定量分析のための高分解能スペクトル測定時(C1s, O1s)は23.5eVに設定した。また、測定中は試料の帯電を避けるために中和銃(Emission Current: 0-20 mA, Electron Energy: 5-20 eV)を使用した。測定中の試料室内の真空度は 10^{-9} Torr以下であった。元素組成・ピーク分割などの解析は、すべて装置付属のソフトウェアを用いて行った。結合エネルギー(BE)はC1sスペクトル中のCH_xに由来するピークを基準(285.0eV)とした。尚、全測定には約3時間を要したが、この測定条件での試料の安定性は森らによって確認されており、ポリマー表面の劣化はないと判断している[7]。

3-3 poly(HEMA-*b*-Isoprene)のTEM観察による表面構造解析

第2章で確立したTEM観察による表面構造解析法を基に、新規親水性-疎水性ブロック共重合体であるpoly(HEMA-*b*-isoprene)のさまざまな環境下での表面構造についてバルク構造と併せて詳細に検討した。ポリスチレンのTgが95℃であるのに対して、ポリイソプレンのそれは-69℃であり、動的な表面構造の変化が期待される材料である。

はじめにDMF/THF(9/1, v/v)溶液から製膜されたpoly(HEMA-*b*-isoprene)フィルムのさまざまな環境下での断面TEM像を図3-2に示す。OsO₄によって黒く染色された層がポリイソプレンドメインを、染色されなかった白い層がポリHEMAドメインを示している。製膜直後の断面TEM像(図3-2a)からは、共重合体中のポリHEMAの重量分率は48wt%にも関わらず、海島状(島成分：ポリイソプレン、海成分：ポリHEMA、島成分の大きさ：350~400 Å)のミクロ相分離構造を示すことがわかった。これは、キャスト溶媒にポリイソプレンの貧溶媒であるDMFを使用しているために、ポリイソプレンの占める体積が小さくなったためである。しかし、最表面に注目すると、黒く染色された約80 Å厚のポリイソプレン層で完全に覆われていることがわかった。フィルム表面の界面エネルギーを小さくするように低エネルギー成分であるポリイソプレンセグメントが表面に濃縮したものと考えている。今までにもpoly(styrene-*b*-butadiene)[4], poly(styrene-*b*-methyl methacrylate)[8], poly(styrene-*b*-isoprene)[3, 4, 9]などのキャストフィルムの断面TEM像が観察され、表面への低エネルギー成分の濃縮がさまざまな研究者によって報告されているが、それらと一致したTEM像をpoly(HEMA-*b*-isoprene)でも得ることができた。次にこのフィルムを30分間水中浸漬すると、バルクのミクロ相分離構造は海島状を保っているが、フィルム最表面に存在したポリイソプレン層が消失することが確認できた(図3-2b)。外部環境が空気から水に変化したことで、フィルム表面がポリイソプレン層からポリHEMA層に入れ替わったことを示唆する像である。また、バルクの構造を詳細に観察すると、海島状である

ことには違いはないが、ポリイソプレンドメインが真球状になり、ドメイン間の距離が遠くなったことがわかる。これは、水中浸漬によってポリHEMAドメインが含水してゲル状になり、両ドメインの運動性が向上したためであろうと考えている。続けて室温・空气中で1時間の風乾を行うと、フィルム最表層は平らになり、バルクの島ドメインも密になったが、フィルム最表面にポリイソプレン層は戻ってこなかった(図3-2c)。更に24時間の風乾でも同様の結果であった(図3-2d)。疎水性成分が室温以下のT_gを有するポリイソプレンの場合には、ポリHEMAで覆われた親水性表面は風乾によって疎水性表面に再構築することを期待していたが、容易には起こらないことがこれらの断面TEM像から理解できた。そこで、空气中・90℃で30分間アニーリングを行ったところ、フィルム最表面が再びポリイソプレン層で完全に覆われた状態が観察できた(図3-2e)。また再度の水中浸漬によって再びポリイソプレン層が消失することがわかった(図3-2f)。このように外部環境変化に応答してバルクのミクロ相分離構造の形態はほとんど変化することなく、表面構造が可逆的に変化する様子を視覚的にとらえることが可能であった。これはpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)では観察できなかった様子であり、疎水性成分がOsO₄によって短時間で固定・染色されるポリイソプレンであるために観察可能であったと考えている。このようにさまざまな環境下でのバルクと表面の状態を視覚的にとらえることができたのはこの例が初めてである。

それでは乾燥状態から水中浸漬にいたる過程では、表面状態はどのように変化するのであろうか。それをとらえるために水中浸漬時間を5, 10, 30, 60, 300秒と変化させた場合の表面構造再構築の様子について検討した。THF/メタノール溶液(5/1, v/v)から製膜した poly(HEMA-*b*-isoprene)フィルムの断面TEM像を図3-3に示す。両成分の良溶媒からの製膜であり、バルクのミクロ相分離構造は明瞭なラメラ状を示した。また、製膜直後のフィルム最表面は完全にポリイソプレン層で覆われており低エネルギー成分の濃縮がここでも再確認できた(図3-3a)。しかし、わずか水中浸漬5秒後には最表面のポリイソプレン層に亀裂が生じているのが確認できる(図3-3b、

亀裂を矢印で示した)。更には水中浸漬時間の増加に伴って、最表面に存在したポリイソプレン層が徐々に消失し(図3-3c~e)、水中浸漬5分後には完全に消失した様子をとらえることができた(図3-3f)。このようなモルフォロジーの変化は最表面のみで認められ、バルクは常にラメラ状のミクロ相分離構造を維持していた。これら一連の断面TEM像から、環境変化に応答した表面構造の再構築は、表面全体が均等に疎水性から親水性に変わって行くのではなく、表面に存在する欠陥(ポリHEMA成分をわずかに含む部位)を引き金に第一層のドメインが一体となって移動しながら変化することが予想できた。このような再構築の動的な過程を接触角やXPS、static-SIMSのような分光学的な解析手法から明らかにすることは不可能であり、形態を視覚的にとらえられるTEM観察を用いることではじめて証明できた成果である。

ここで再度、製膜直後の構造に注目したい。THF/メタノールの混合溶液から製膜されたフィルムはラメラ状のミクロ相分離構造を有しており、そのドメイン幅は約230 Å(ポリイソプレンドメイン:150 Å、ポリHEMAドメイン:80 Å)である。一方、最表面に存在するポリイソプレン層の厚さは約80 Åであり、バルク中のポリイソプレンドメイン厚の約1/2であった。この現象はpoly(styrene-*b*-isoprene)フィルムでも認められることが長谷川・橋本らによって報告されており、彼らはこの理由を図3-4に示したように、バルク中のドメインはその両側からの分子鎖によって構成されるが、最表面の層には一方からの分子鎖しか存在しないためであるとしている[3]。poly(HEMA-*b*-isoprene)においても、長谷川・橋本らの説を支持することができた。

図3-2及び図3-3に示した濡れた状態での断面TEM像では、最表面のポリイソプレン層が消失していることは確認できるが、ポリHEMAドメインの染色性が乏しいため、包埋樹脂との区別がつかず、最表面の様子を十分満足に把握できなかった。そこで、酢酸ウラニルによる二重染色を試みた。THF/メタノール混合溶液から製膜したフィルムを水中に30分間浸漬した後の試料から

切り出した超薄切片に対して二重染色を行った後のTEM像を図3-5に示す。図3-3fに示したような二重染色無しの時に比べてポリHEMAドメインが染色されており、最表面がポリHEMA層で完全に覆われていることがわかった。

先にTgが室温以下のポリイソプレンを疎水性成分としても、水中浸漬後の親水性表面は、空气中・室温での風乾によって元の疎水性には戻らないことを述べた。そこで、親水性表面が疎水性表面に再構築するためには、どの程度のアニーリング温度が必要であるかについて検討した。30分間の水中浸漬の後に43, 52, 60, 90℃で1時間のアニーリングを行った時のフィルム(THF/MeOH溶媒から製膜)から得られた断面TEM像を図3-6に示す。その結果、43℃のアニーリングでは最表面にポリイソプレン層は戻ってこないが(図3-6a)、52℃及び60℃でのアニーリングによって、極薄い層(約40 Å)ではあるが、最表面にポリイソプレン層が現れた様子が観察できた(図3-6b, c)。更に90℃のアニーリングではバルク中のポリイソプレン層の約半分の厚さの層(約90 Å)が最表面に観察できた(図3-6d)。これらの結果から、外部環境が乾燥状態から濡れた状態に変わったときの表面構造の再構築は室温下で瞬時に起こるものの、濡れた状態から乾燥状態への再構築には50℃以上でのアニーリングが必要であることがわかった。水和の過程では表面近傍のポリHEMAドメインが水を吸収することで可塑化され、両ドメインが容易に運動できるために素早い再構築を起こすのであろう。一方、逆の過程ではポリHEMAドメインが吸収した水を室温下では手放さないために、アニーリングが必要なのであろうと予想している。

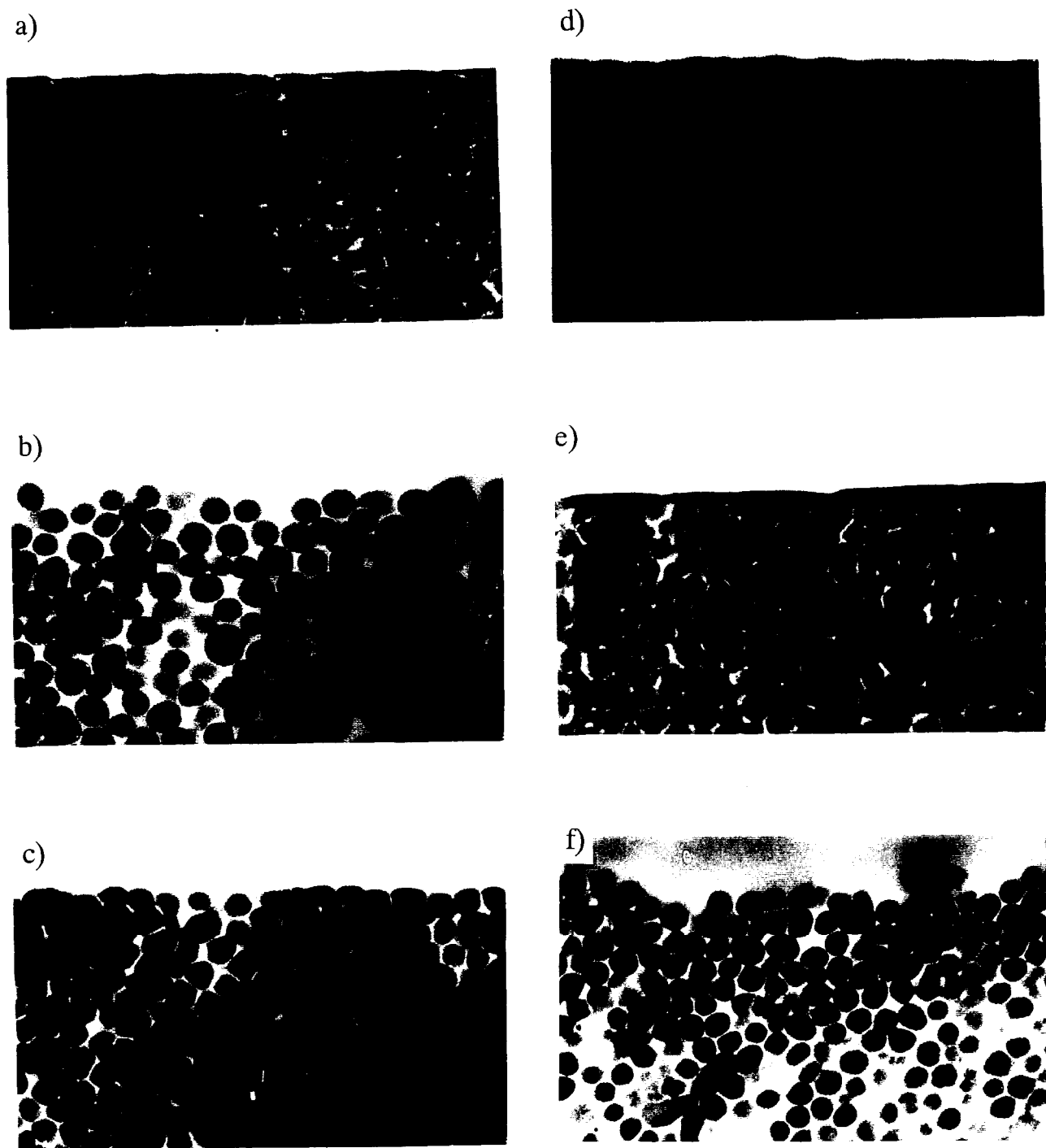
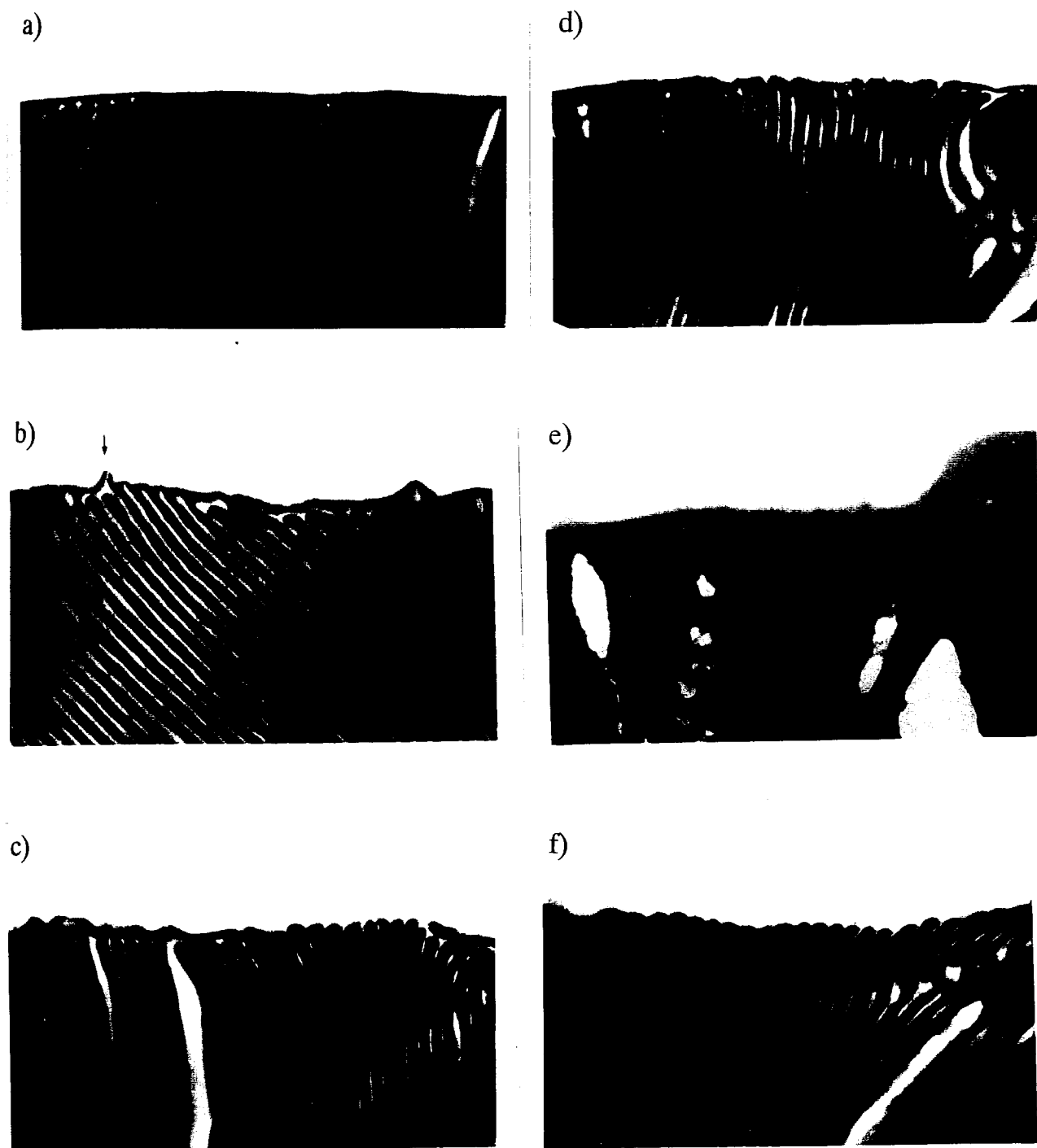


Figure 3-2. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of poly(HEMA-*b*-isoprene) cast film from DMF/THF (9/1, v/v) under various conditions. a) as-cast, b) soaking in water for 30 min, c) air-drying for 1h at room temperature after soaking in water, d) air-drying for 24 h at room temperature after soaking in water, e) annealing at 90 °C for 30 min after soaking in water, and f) soaking in water again for 30 min after annealing.



—
100 nm

Figure 3-3. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of poly(HEMA-*b*-isoprene) a) cast film from THF/methanol (5/1, v/v), soaking in water for b) 5 s, c) 10 s, d) 30 s, e) 60 s, and f) 300 s.

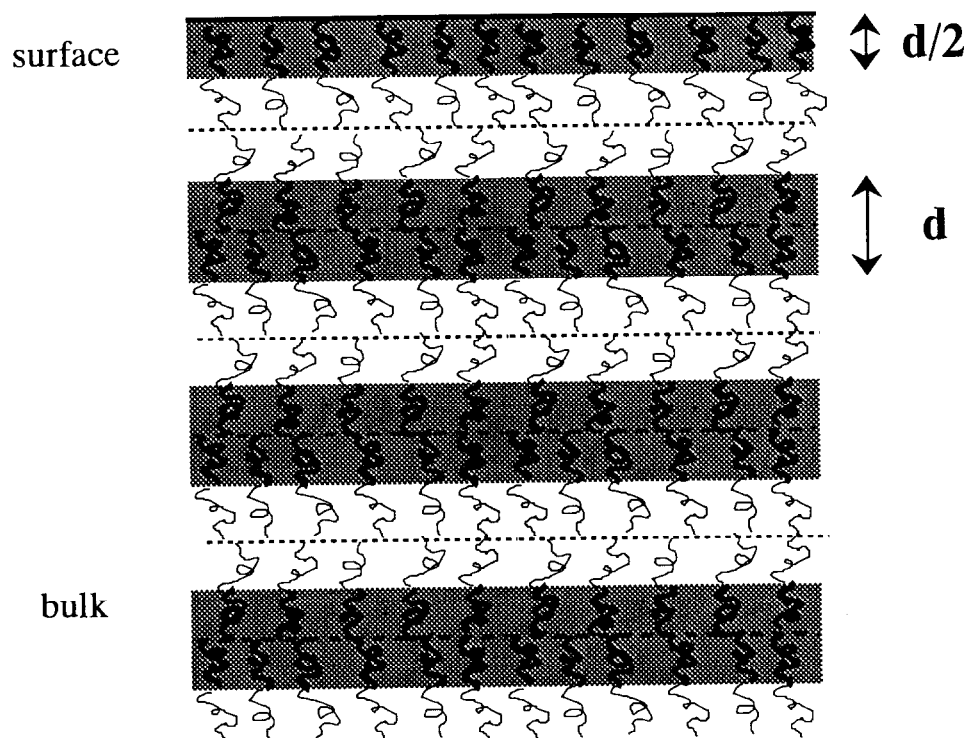
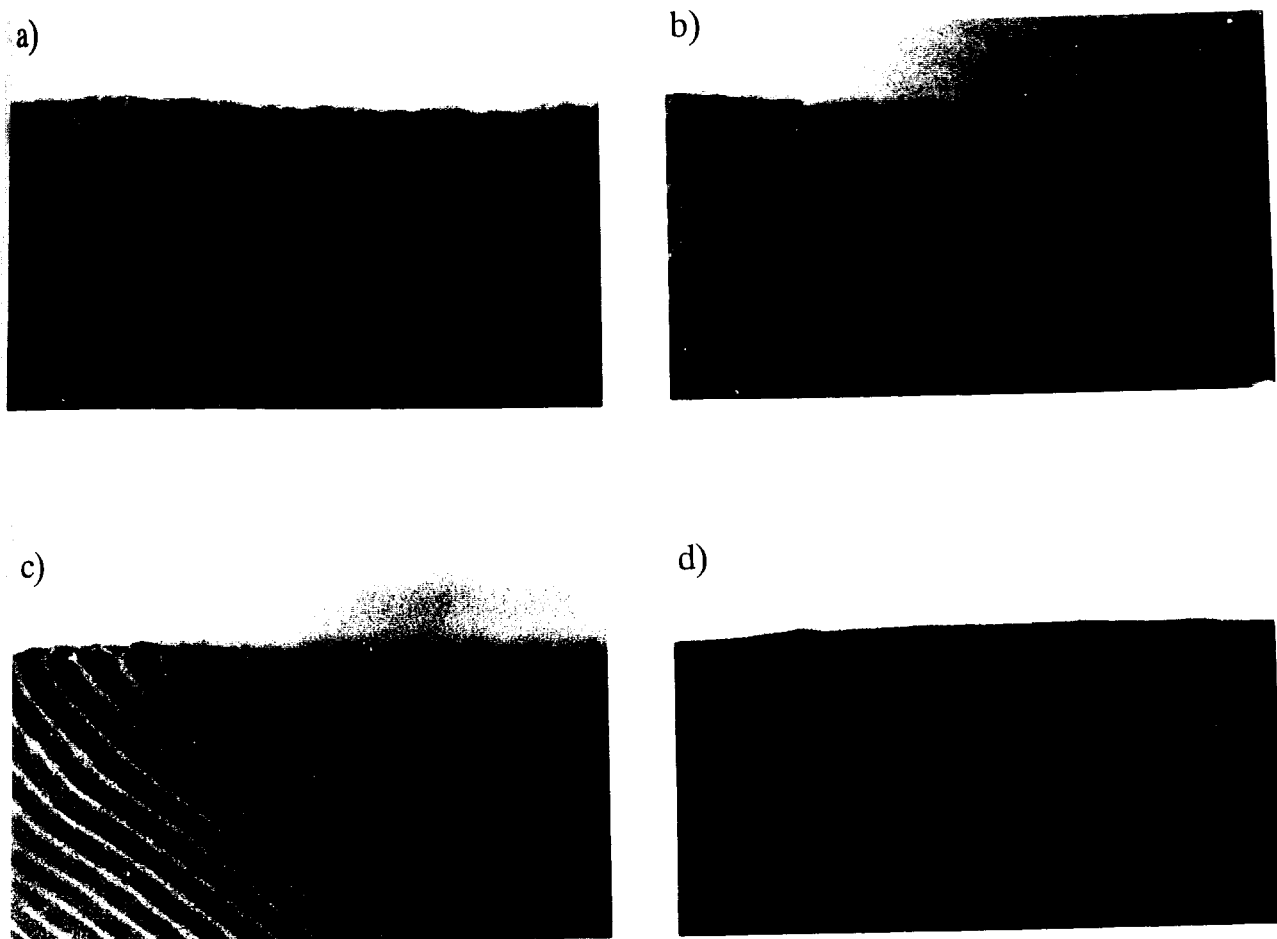


Figure 3-4. Schematic representation of lamellar microdomain structure near free surface.



100 nm

Figure 3-5. Transmission electron micrograph (cross sectional view) of the ultrathin section of poly(HEMA-*b*-isoprene) cast from THF/methanol (5/1, v/v) after soaking in water for 1 h at room temperature. Before observation, the ultrathin section is stained with 2.5 wt% uranyl acetate solution (water/acetone=1/1).



100 nm

Figure 3-6. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of poly(HEMA-*b*-isoprene) cast from THF/methanol (5/1, v/v) annealed at a) 43 °C, b) 52 °C, c) 60 °C, and d) 90 °C for 1 h after soaking in water for 30 min.

3-4 接触角測定によるpoly(HEMA-*b*-isoprene)の表面構造解析

3-3章ではさまざまな環境下に置かれたpoly(HEMA-*b*-isoprene)フィルムの表面構造をTEM観察から解析し、ブロック共重合体の表面はバルク構造を変えずに外部環境に応答して動的に変化することを視覚的に確認した。ここではこのような動的な表面の再構築を接触角測定から検討した。

図3-7にDMF/THF混合溶液(9/1, v/v)及びTHF/メタノール溶液(5/1, v/v)から製膜されたpoly(HEMA-*b*-isoprene)フィルムの1)製膜直後、2)水中浸漬後、3)空气中・室温下で風乾後、4)空气中・90℃でアニーリング後、5)再び水中浸漬後、の表面の水に対する接触角測定結果を示す。製膜溶媒が異なるこれら両者のバルクのミクロ相分離構造は、DMF/THFの場合が海島状、THF/メタノールの場合がラメラ状であることは3-3章で確認されている。両者の接触角測定の結果を比較すると、動的な表面再構築の様子はほぼ一致しており、環境変化に応答した表面構造の再構築にはバルクのミクロ相分離構造の形態はほとんど影響しないかと思われた。

製膜直後のフィルム最表面は高い疎水性を示した($\theta=95\sim97$ 度)。この値はイソプレンホモポリマーと同程度の接触角($\theta=94$ 度)であり、製膜直後のフィルム最表面はポリイソプレン層で覆われていることが示唆された。これは先に述べたTEM観察の結果と一致するものである。次にフィルムを水中浸漬すると、表面は親水性を示すことがわかった。10分以内にはHEMAホモポリマーと同程度の親水性を示すようになり、製膜直後に存在したポリイソプレン層が短時間でポリHEMAドメインと入れ替わったことを示唆している。更に、空气中・室温下で風乾しても接触角はわずかに大きくなるだけでありほとんど変化しなかったが、空气中・90℃でアニーリングすることによって再び疎水性表面に戻ることがわかった、即ち、水中浸漬によって最表面に現れたポリHEMAドメインは風乾では再構築を示さないが、アニーリングによって再びポリイソプレン層と入れ替わることがわかった。アニーリングによって再び最表面に現れたポリイソプレン層は再

度の水中浸漬によってポリHEMA層と入れ替わることで、再々度のアニールリングでポリイソプレン層に戻ることも確認できた。

しかし、2度目、3度目のサイクルでは疎水性から親水性、親水性から疎水性への再構築の応答性が遅くなっているように思われた。特に、ラメラ状のミクロ相分離構造を有するTHF/メタノール溶液から製膜されたフィルムではその傾向が顕著なように思われる。この理由として、製膜直後の最表面のポリイソプレン層とアニールリングによって再構築されたポリイソプレン層に違いがあるのではないかと考えた。3-3章で述べたように、水中浸漬によって起こる表層でのポリイソプレン層とポリHEMA層との入れ替わりは最表面に存在する欠陥(ポリHEMA成分をわずかに含む部位)をきっかけとして起こると予想している。製膜直後のポリイソプレン層には多数の欠陥が存在するが、アニールリングによって再構築されたポリイソプレン層には欠陥が少ないために応答が遅くなったのであろう。また、十分には理解されていないが、バルクのミクロ相分離構造の形態の違いによっても再構築の起こり易さが異なるため、海島状ミクロ相分離構造を有するDMF/THF溶液から製膜されたフィルムと、ラメラ状ミクロ相分離構造を有するTHF/メタノールから製膜されたフィルムとの間に応答性の違いが認められたのではないかと考えている。これについては、アニールリング時間と最表面中のポリイソプレン成分の存在比との関係について検討することで理解できるものと思われる。

最後に、水中浸漬によって親水性に変化した表面のアニールリングによる再構築の度合いとアニールリング温度との関係について検討した。先のTEM観察の結果では、50℃以上のアニールリングによってポリHEMAで覆われた表面は再びポリイソプレン層と入れ替わることを報告したが、このことを接触角測定からも再確認した。また、poly(HEMA-*b*-styrene)との比較検討も同時に行った。比較に用いたpoly(HEMA-*b*-styrene)はpoly(HEMA-*b*-isoprene)同様にアニオンリビング重合から合成したブロック共重合体であり、数平均分子量が 6.9×10^3 (ポリスチレンセグメント：

3000、ポリHEMAセグメント：3900)、分子量分布が1.07、ポリHEMAの重量分率が57wt%と、数平均分子量はやや小さいものの、疎水性成分の化学構造以外はpoly(HEMA-*b*-isoprene)とほぼ等しいものを使用した。得られた結果を表3-1に示す。THF/メタノール溶液から製膜されたpoly(HEMA-*b*-isoprene)フィルムでは34℃及び43℃でアニーリングしても疎水性表面には戻らないが、52℃以上では疎水性表面に戻るというTEM観察の結果と一致した結果を得ることができた。しかし、poly(HEMA-*b*-styrene)では60℃でアニーリングを行っても、疎水性表面には戻らず、疎水性成分のTgが表面構造再構築に影響を及ぼしていることがわかった。

以上、液滴法による接触角測定の結果から、poly(HEMA-*b*-isoprene)フィルム表面の外部環境変化に応答した動的な表面構造再構築の様子を明らかにすることができた。ここで得られた結果はいずれも3-3で述べたTEM観察の結果と一致するものであり、両解析法の信頼性を示すものである。また、TEM観察では確認できなかったバルクのみクロ相分離構造の表面構造再構築への影響についても考察することができた。ただし、これについては未だ不十分な考察であり、より詳細な解析が必要かと思われる。更には、表面構造再構築とアニーリング温度の検討からpoly(HEMA-*b*-styrene)とpoly(HEMA-*b*-isoprene)間の違いを見いだすこともでき、疎水性成分の分子鎖の運動性と表面再構築との関係を考察することができた。

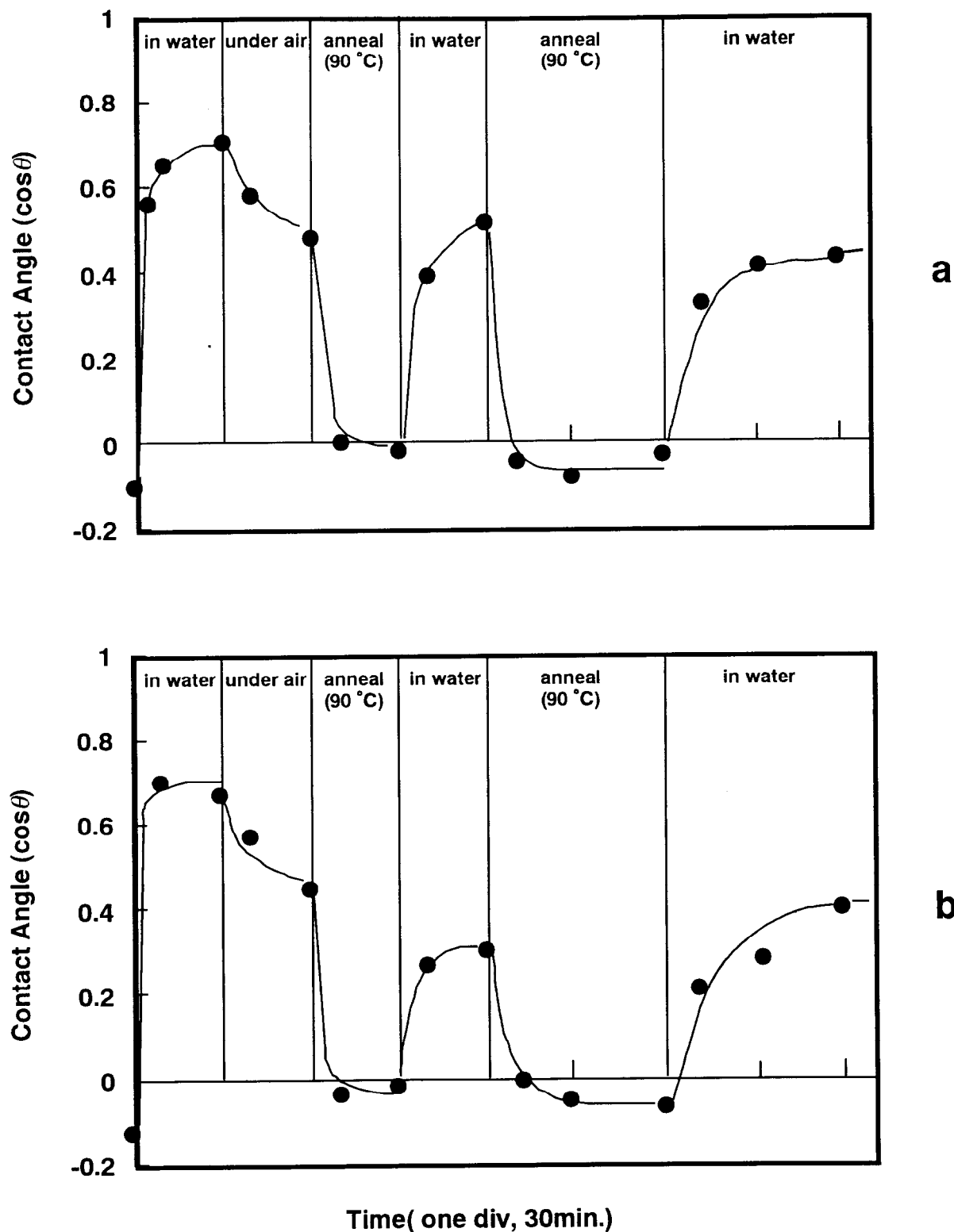


Figure 3-7. Static contact angle ($\cos \theta$) of a water droplet on (a) poly(HEMA-*b*-isoprene) ($M_n=5300-5700$, $M_w/M_n=1.14$, weight fraction of HEMA unit=48%) cast film from DMF/THF (9/1, v/v) and (b) from THF/methanol (5/1, v/v) as a function of treating period under dry and wet conditions.

Table 3-1. Static Contact Angle ($\cos\theta$) of a Water Droplet on Poly(HEMA-*b*-Isoprene) and Poly(HEMA-*b*-Styrene) Solvent-Cast Films^a

condition	Poly(HEMA- <i>b</i> -Isoprene) ^a	Poly(HEMA- <i>b</i> -Styrene) ^b
as-cast	-0.09	-0.06
soaking in water ^c	0.75	0.67
annealing ^d		
at 34 °C	0.68	0.60
at 43 °C	0.70	0.56
at 52 °C	-0.07	0.50
at 60 °C	-0.08	0.53

^a The sample ($M_n=5300-5700$, $M_w/M_n=1.14$, weight fraction of HEMA unit=48 %) was cast from a solution of THF/methanol (5/1, v/v) by spin-coating.

^b The sample ($M_n=3900-3000$, $M_w/M_n=1.07$, weight fraction of HEMA unit=57 %) was cast from a solution of DMF by spin-coating.

^c The as-cast films were soaked in water for 30 min at room temperature.

^d The hydrated samples were annealed in the air for 60 min at each temperature.

3-5 XPS測定によるpoly(HEMA-*b*-isoprene)の表面構造解析

ここまでPoly(HEMA-*b*-isoprene)の表面構造をTEM観察及び接触角測定から解析してきた。

TEM観察は表面構造を視覚的にとらえることが可能であること、接触角測定は簡便に実験が行えることなどの利点があるが、いずれの方法とも定量的な分析を行うことは不可能である。そこで、ここでは定量的な表面構造解析をXPS測定から行った結果について述べる。

第1章で述べたように、XPSは試料の約100 Åの深さの元素組成を求めることのできる分析方法である。特に図3-8に示したような脱出角度を変化させながら測定する方法(angular-dependent XPS, ADXPS)によって、深さ方向の情報も得ることが可能である。さらには、Freeze-dry XPSを用いることで水和した試料の表面状態の解析も可能となり、外部環境と表面構造との関係についての新しい知見が得られるようになった。これらの方法を用いてLewisとRatnerはさまざまな多相系高分子材料の表面構造解析を行い、多相系高分子の外部環境に対する応答性は次の三つに大きく分けられることを示している[10]。一つ目は顕著な環境応答性を示さない材料で、彼らはポリウレタンをこの代表例として挙げている。二つ目は非常に素早い応答性を示す材料で、Freeze-dry XPSを用いないと分析できないものである。例えばポリHEMAをグラフトしたシリコーンゴムはこの代表であり、水中浸漬後の試料をFreeze-dry XPSで分析すると膜表面にはポリHEMA成分が濃縮しているが、測定温度を凍結温度から室温に上げるとポリHEMA成分の表面濃縮は認められなくなる。さらには水中浸漬した試料を凍結乾燥することなく測定すると、水中浸漬しなかった時の表面と同様の結果を与えた。これはポリHEMAグラフト鎖の運動性が非常に高く、外部環境の変化に俊敏に応答するためであろうと考えられている。最後の三つ目は水和した表面状態が真空中でも比較的長く保たれる材料である。この例に親水性-疎水性ブロック共重合体のひとつであるpoly(HEMA-*b*-styrene)が挙げられている。poly(HEMA-*b*-styrene)の水中浸漬後の膜をFreeze-dry XPSで分析すると、最表面にはポリHEMA成分が濃

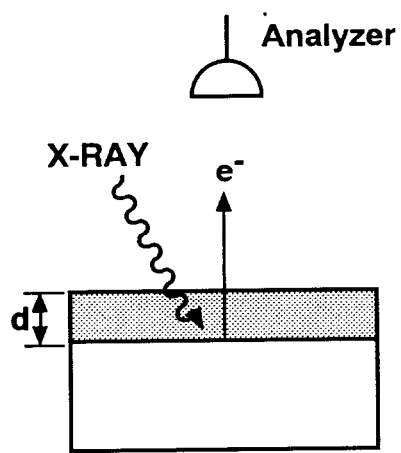
縮していることが確認されるが、測定温度を凍結温度から室温に上げても表面構造は水中浸漬後の状態を維持しており、ポリHEMA成分が濃縮したままであることを報告している。

そこで、我々はFreeze-dry XPSを用いることなく濡れた状態の表面構造をXPSからとらえることを試みた。水中浸漬後の試料表面に付着した水分をブローアーで吹き飛ばした後にすばやくXPS内に導入し、通常の方法で測定を行った。その結果、後で詳細に説明するが、乾燥状態とは異なる表面構造をとらえることが可能であった。3-4章で述べたように、水中浸漬した試料を空气中で風乾しても疎水性表面には戻らないことが接触角測定から示されており、poly(HEMA-*b*-isoprene)もpoly(HEMA-*b*-styrene)同様にFreeze-dry XPSを用いなくとも水和した表面のXPS測定が可能であった。

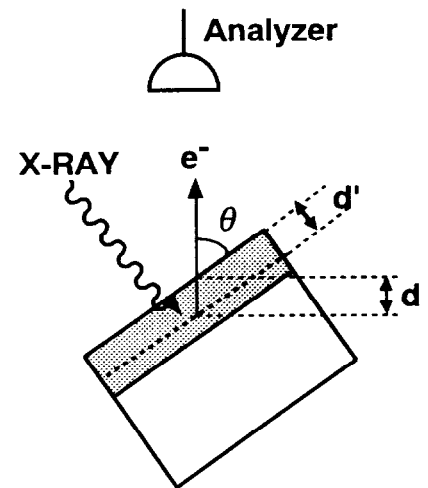
THF/メタノール溶液(5/1, v/v)から製膜されたpoly(HEMA-*b*-isoprene)フィルムの製膜直後、及び水中浸漬30分後の試料についてADXPS測定を行った。survey scanの結果、検出された元素は酸素(O1s)と炭素(C1s)のみであり、表面には汚染が無いことが確認された。そこでO1sとC1sの高分解能測定を行い、それぞれのピーク面積比から元素組成比を求めた。得られた結果を表3-2に示す。モノマー単位の組成比はO/C比から算出した値である。これより製膜直後の膜表面にはバルク以上にポリイソプレン成分が濃縮していることがわかった。また、その度合いは脱出角度が小さくなるに従い、即ち分析深さが浅くなるに従い、顕著になることもわかった。この結果は上で述べてきたTEM観察や接触角測定の結果と一致するものである。尚、3-1章で示したTEM像での製膜直後の最表層のポリイソプレン層の厚さは約80 Åであった。一方、脱出角度が45度でのXPSの分析深さは約75 Åであり、この分析深さでのポリイソプレンの組成比は88 monomer unit%であった。この結果はTEMで観察された最表層のポリイソプレン層にポリHEMA成分がわずかに含まれていることを示唆している。このことは最表層ドメインには欠陥が存在することを示しており、その欠陥が環境変化に応答した表面構造再構築の引き金となるという仮説を支持するものと考えている。尚、TEM観察では最表層は黒く染色されたポリイソプレン

層だけが観察されているが、TEMでは分子鎖の集合体としてのドメインしか観察できないため、わずかにポリHEMAが混入しているような欠陥は観察することができないのであろう。

水中浸漬30分後の結果からは、表面構造の遅い再構築が期待されたとおりの結果であり、膜最表面にはポリHEMA成分が濃縮していることをとらえることができた。C1sの高分解能スペクトルでも285.0 eVに見られるCH_xに由来するピークのみでなく、286.6 eVと288.9 eVにはそれぞれC-OとC=Oに由来するサブピークの存在も認められ、ポリHEMA成分が最表面に存在することが確認できた。定量的にも、水中浸漬によって表面組成は劇的に変化し、~100 Åの深さでは70%が、最も浅い分析深さの~15 Åでは93%がポリHEMA成分であることがわかった。これらの結果は3-3章、3-4章で述べてきたTEM観察や接触角測定の結果となんら矛盾のないものであった。



d : sampling depth



$d' = d \sin \theta$
(effective sampling depth)

Figure 3-8. A schematic diagram of angular-dependent XPS.

Table 3-2. Surface Composition of Poly(HEMA-*b*-Isoprene) ^a Film under Dry and Wet Conditions by XPS Measurement

Conditions	takeoff angle (degree)	depth (Å)	atomic percent (%)		monomer unit percent (%) ^b	
			C	O	isoprene	HEMA
as-cast ^c	80	100	93.1	6.9	87	13
	45	75	93.2	6.8	88	12
	20	35	95.4	4.6	92	8
	10	15	96.8	3.2	94	6
soaking in water for 30 min	80	100	71.7	28.3	24	76
	45	75	71.9	28.1	25	75
	20	35	71.6	28.4	24	76
	10	15	68.0	32.0	7	93
bulk ^d	-	-	-	-	67	33

^a $M_n=5300-5700$, $M_w/M_n=1.14$, weight fraction of HEMA unit=48 %.

^b Monomer unit percent was determined from the composition of carbon and oxygen.

^c The sample was cast from a solution of THF/methanol (5/1, v/v) by spin-coating.

^d Determined by elemental analysis.

3-6 結論

本章ではpoly(HEMA-*b*-isoprene)の表面構造についてTEM観察、接触角測定、及びXPS測定から解析を行った。その結果、繰り返し単位に炭素-炭素二重結合を有するポリイソプレンドメインは四酸化オスミウムによって瞬時に固定されることが明らかとなり、秒オーダーでの膜最表面の再構築の様子をとらえることが可能であった。これよりpoly(HEMA-*b*-isoprene)の乾燥状態から水和状態への再構築は、膜最表面に存在する欠陥(ポリHEMA成分をわずかに含む部位)から水分子が膜内部へ浸透することによって、マイクロドメインのスケールで起こるものであり、最表面全体が分子レベルの大きさで一様に変化するのではないことを明らかにすることができた。また、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)ではとらえることの出来なかった、水中浸漬後に風乾やアニーリングされた表面構造を視覚的にとらえることも可能であった。

環境変化に対する応答性はpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)と同様、繰り返し起こることが接触角測定からも確認できた。また、その応答の様子はバルクのマイクロ相分離のモルフォロジーによってわずかに異なり、ラメラ状マイクロ相分離構造を有するフィルムよりも海島状マイクロ相分離構造(ポリイソプレンドメイン：島状)を有するフィルムのほうが、乾燥状態から水和状態への変化に対する応答が速いことも明らかにできた。さらには水和後の親水性表面がアニーリングによって疎水性成分と入れ替わる時、poly(HEMA-*b*-styrene)に比べて低い温度で再構築できることを明らかにできた。これより、表面構造再構築に疎水性成分のTgが影響していることが示された。

XPS測定からも乾燥状態及び水和状態での表面構造をとらえることが可能であった。その結果はTEM観察や接触角測定の結果と矛盾ないものであり、特殊な方法であるFreeze-dry XPSを用いなくともpoly(HEMA-*b*-isoprene)の水和状態における表面構造を定量的に解析することができた。

参考文献

- 1) K. Kato, *Polymer*, **8**, 33 (1967)
- 2) K. Kato, *Polymer*, **9**, 419 (1968)
- 3) H. Hasegawa, T. Hashimoto, *Macromolecules*, **18**, 589 (1985)
- 4) H. Hasegawa, T. Hashimoto, *Polymer*, **33**, 475 (1992)
- 5) A. Hirao, H. Kato, K. Yamaguchi, S. Nakahama, *Macromolecules*, **19**, 1294 (1986)
- 6) H. Mori, O. Wakisaka, A. Hirao, S. Nakahama, *Macromol. Chem. Phys.*, **195**, 3213 (1994)
- 7) 森 秀晴, 平成5年学位論文(東京工業大学高分子工学専攻)
- 8) T. P. Russell, A. M. Mayes, M. S. Kunz, In : *Ordering in Macromolecular System*, eds: A. Teramoto, M. Kobayashi T. Norisue, Springer-Verlag, Berlin, 1993, p217
- 9) B. K. Annis, D. W. Schwark, J. R. Reffner, E. L. Thomas, B. Wunderlich, *Makromol. Chem.*, **193**, 2589 (1992)
- 10) K. B. Lewis, B. D. Ratner, *J. Colloid Interface Sci.*, **159**, 77 (1993)

第4章 2, 3-ジヒドロキシプロピルメタクリレート(DIMA)/ イソプレンブロック共重合体の表面及びバルクの構造解析

4-1 はじめに

第3章では親水性成分をHEMA、疎水性成分をイソプレンとしたジブロック共重合体 poly(HEMA-*b*-isoprene)の表面構造解析結果について述べた。そこでの成果のひとつにTEM観察による動的な表面構造再構築の視覚化が挙げられる。即ち、モノマー単位中に炭素-炭素二重結合を有するポリイソプレンは四酸化オスミウムと非常に短時間で反応するために、ミクロ相分離構造を瞬時に固定することが可能であり、外部環境変化に応答した秒単位での表面構造の再構築を視覚的にとらえることができた。そこで、本章では親水性成分としてモノマー単位中に水酸基を2個有する2, 3-ジヒドロキシプロピルメタクリレート (2, 3-dihydroxypropyl methacrylate, DIMA)を、疎水性成分としてイソプレンを有するジブロック共重合の表面構造解析を行い、親水性成分の違いが表面構造の再構築に与える影響について検討することとした。

poly(DIMA-*b*-isoprene)は森らによって接触角測定とXPS測定による表面構造解析がすでに行われており、製膜直後の膜最表面は疎水性成分であるポリイソプレン層で覆われていること、水中浸漬によって最表面はポリHEMA層に入れ替わること、アニーリングによって再び疎水表面に戻ることがすでに報告されている[1, 2]。そこで本章ではTEM観察による解析を中心に行い、森らの結果と併せて考察した。TEM観察は膜の断面方向からの解析であるため、表面構造のみならずバルクの構造をもとらえることが可能であり、接触角測定やXPS測定ではとらえられなかった現象を見いだすことが可能であると考えている。

はじめにpoly(DIMA-*b*-isoprene)に関する森らの報告を引用したい[1, 2]。まずホモポリマーであるが、ポリHEMAとポリDIMAの両ホモポリマーの特徴を比較した。簡単なまとめを表4-1に示す。両者のガラス転移温度や水の接触角値には顕著な違いはないものの、吸湿性に大きな違いがあることがわかっている。また、各種溶媒に対する溶解性は、ポリHEMAは水に対しては不溶であるがポリDIMAは可溶であること、ポリHEMAはエタノールに可溶であるがポリDIMAは不溶であることが確認されている。

森らによって求められたさまざまな環境下でのpoly(DIMA-*b*-isoprene)フィルム表面の液滴法による接触角測定の結果を図4-1に示す。はじめに製膜直後の表面状態であるが、フィルムに水滴を滴下するとほんの数秒で接触角は低下してしまいas-castフィルムの正確な接触角を求めることが不可能であった。そこで、100℃で1時間のアニーリングを行った後に接触角測定を行ったところ、膜表面は接触角を求める程度の時間(10~15秒)は十分に安定しており、確からしい接触角値を得ることが可能であった。そこで続けてさまざまな環境下での接触角を測定し、poly(DIMA-*b*-isoprene)は非常に短時間の水中浸漬によって膜表面が疎水性から親水性に変化すること、その後の空气中・室温での乾燥では膜表面の様子はほとんど変化しないこと、100℃でアニーリングを行っても完全な元の疎水性状態にはもどらないことが明らかにされている。また製膜直後のpoly(DIMA-*b*-isoprene)フィルムのangular-dependent XPS測定結果からは、表4-2に示したように、膜表面にはポリイソプレンドメインが濃縮しており、特に最表面(~15 Å)はほぼ完全にポリイソブレン層で覆われていることも明らかにされている。

以上のような背景の基に、本章ではpoly(DIMA-*b*-isoprene)フィルムの環境変化に応答した表面構造再構築とバルク構造の様子をTEM観察から解析を行い、森らの結果と併せて考察した。そして第3章で述べたpoly(HEMA-*b*-isoprene)の場合との比較検討を行った。

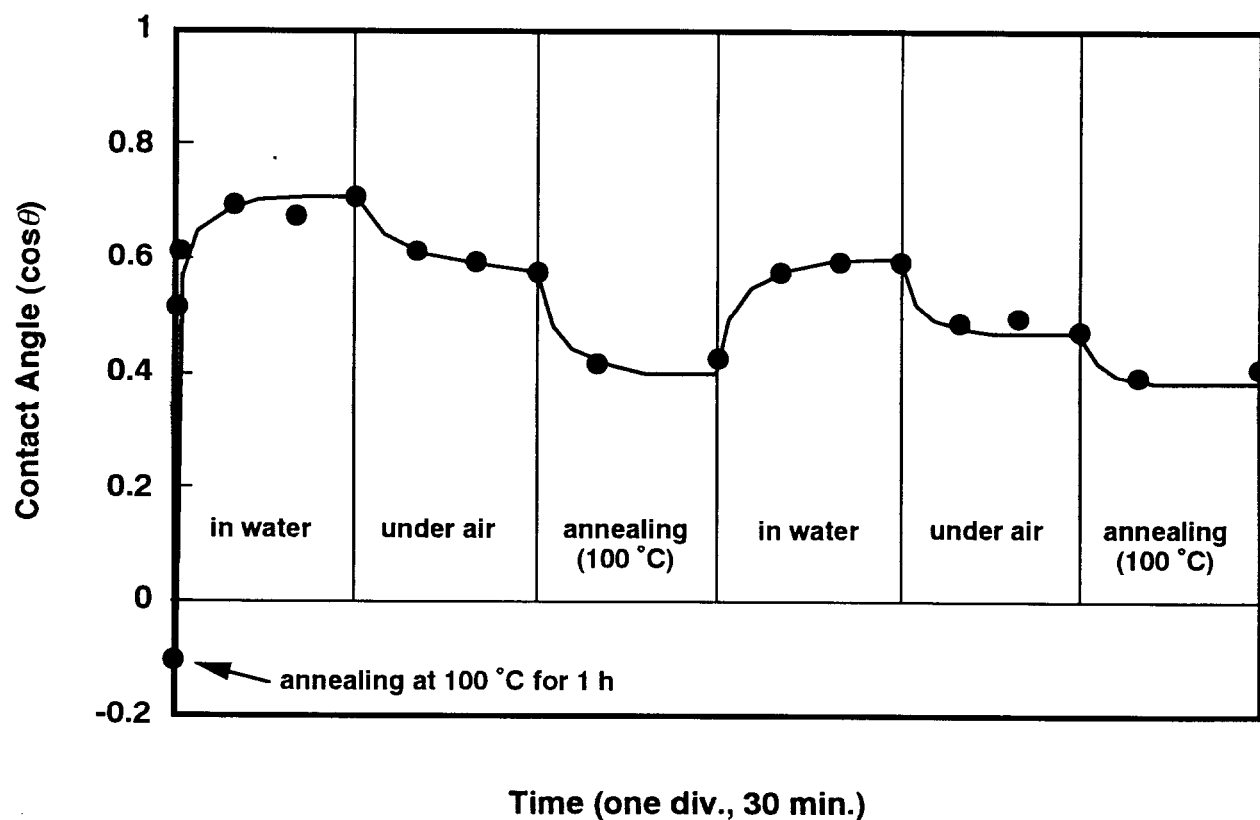


Figure 4-1. Static contact angle ($\cos\theta$) of a water droplet on poly(DIMA-*b*-Isoprene) ($M_n=9400-8500$, $M_w/M_n=1.06$, weight fraction of DIMA unit=53%) cast film from THF/methanol (5/1, v/v) as a function of treating period under dry and wet conditions.

Table 4-1. Characteristics of PolyHEMA and PolyDIMA Homopolymers

	polyHEMA	polyDIMA
Tg ^a	67 °C	69 °C
Contact angle of a water droplet	17 °	15 °
Hygroscopicity	large	very large (more than twice of polyHEMA)
Solubility	Soluble	methanol, ethanol
	Insoluble	water
		ethanol

^a Determined by DSC.

Table 4-2. Surface Composition of Poly(DIMA-*b*-Isoprene) ^a As-Cast Film by XPS Measurement

Conditions	takeoff angle (degree)	depth (Å)	atomic percent (%)		monomer unit percent (%) ^b	
			C	O	isoprene	DIMA
as-cast ^c	80	100	88.9	11.1	83.3	16.7
	45	75	93.4	6.6	90.9	9.1
	20	35	97.3	2.7	96.4	3.6
	10	15	98.6	1.4	98.1	1.9
bulk ^d	-	-	81.5	18.5	67.9	32.9

^a $M_n=9400-8500$, $M_w/M_n=1.06$, weight fraction of DIMA unit=53 %.

^b Monomer unit percent was determined from the composition of carbon and oxygen.

^c The sample was cast from a solution of THF/methanol (5/1, v/v) by spin-coating.

^d Determined by elemental analysis.

4-2 試料と実験

4-2-1 試料

ブロック共重合体はアニオンリビング重合から合成した。合成のスキームを図4-2に示す。n-ブチルリチウムを開始剤とし、ヘプタン中、室温にてイソブレンを重合した。重合活性末端を1,1-ジフェニルエチレンでキャップし、ブロック共重合中の副反応を避けるためにリチウムクロライドを添加した。続けてセカンドモノマーである2つの水酸基をジオキソラン環で保護したDIMAを加え、共重合した。重合終了後に精製したメタノールを用いてクエンチし、水/エタノールに再沈殿することでポリマーを回収した。再沈殿法による精製を繰り返した後、1Nの塩酸溶液を加え脱保護を行い、最終的に目的とするブロック共重合体を得た。合成の更なる詳細については参考文献を参照されたい[1, 2]。

ポリスチレンスタンダードを用いたSEC測定、及びNMR測定の結果、本実験に用いたブロック共重合体は、数平均分子量(M_n)= 17.9×10^3 (ポリイソブレンセグメント：8500、ポリDIMAセグメント：9400)、分子量分布(M_w/M_n)=1.06、ポリDIMA成分の重量分率=53wt%であった。

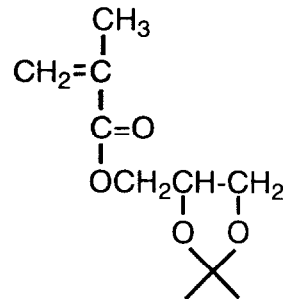
4-2-2 TEM観察

2-2-2と同様の方法でTEM観察用試料を調製し、観察を行った。但し、キャスト溶媒にはTHFとメタノールの混合溶媒(5/1, v/v)を用いた。森らによる接触角測定の結果から製膜直後のpoly(DIMA-*b*-isoprene)は瞬時に構造が変化することが予想されている。そこで、乾燥条件下でのフィルムの OsO_4 結晶蒸気でのミクロ相分離構造の固定・染色はすべて乾燥シリカゲル存在下で行った。また、水中浸漬後のフィルムの固定・染色の時に、 OsO_4 水溶液中での構造の変化が懸念されたため、製膜直後のフィルムについては結晶蒸気を用いた固定・染色のみでなく、4% OsO_4 水溶液に直接浸漬した場合についても実験を行い、結晶蒸気で染色したフィルムから得られたTEM像との比較を行った。

Living Polyisoprene

1, 1-diphenylethylene
(DPE)

LiCl



(2, 2-dimethyl-1, 3-dioxolan-4-yl)methyl methacrylate

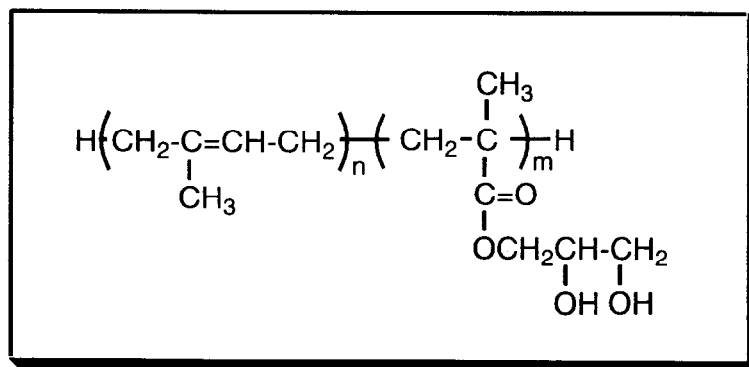
deprotection with 1N HCl / 1, 4-dioxane
at room temperature for 24 h

Figure 4-2. Scheme of synthetic method of poly(DIMA-*b*-isoprene) by anionic living polymerization.

4-3 *poly(DIMA-*b*-isoprene)*のTEM観察による表面及びバルクの構造解析

はじめに製膜直後のフィルムを乾燥シリカゲル存在下、 OsO_4 結晶蒸気で固定・染色を行った後の超薄切片から得られた断面TEM像を図4-3に示す。 OsO_4 にて黒く染色された層がポリイソプレンドメインを、染色されなかった白い層がポリHEMAドメインを示している。バルクの構造はラメラ状のミクロ相分離構造を示しており、それぞれの層の厚さは共に約70~80 Åの対称的な相分離構造であることがわかった。バルク中でのポリDIMA成分の重量分率は53wt%であり、Molau則[3]に従った相分離構造であることが確認できた。一方、表面の状態に注目すると、最表層は黒く染色されたポリイソプレン層(20~30 Å)で完全に覆われている様子が観察された。第3章でも説明したように、最表層に存在する疎水性ドメインの厚さがバルク中の1/2を示すことから膜最表面の位置を確認できる[4]。今回観察された最表層の厚みはバルク中のその1/2よりもやや小さいものであったが、最表層であると判断した。以上のように、*poly(DIMA-*b*-isoprene)*においても*poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)*や*poly(HEMA-*b*-isoprene)*同様にフィルム最表面は疎水性成分で完全に覆われていることを視覚的にとらえることができた。これは森らの示したXPSの結果[1, 2]となんら矛盾のないものである。

次に水中浸漬後の膜構造についてTEM観察を行った。はじめに水中浸漬5秒後の*poly(DIMA-*b*-isoprene)*フィルムの断面TEM像を図4-4に示す。これより、水中浸漬わずか5秒で最表層のポリイソプレン層が完全に消失してしまうことがわかった。*poly(HEMA-*b*-isoprene)*では最表層のポリイソプレン層に亀裂が発生するだけであったことから、*poly(HEMA-*b*-isoprene)*の環境変化に応答した表面構造再構築が非常に瞬時に起こることがTEM観察からも確認できた。また、表面のみならずバルクの構造までが、ラメラ状のミクロ相分離構造からシリンダーもしくは海島状の相分離構造に変化しており、バルクも再構築できることがわかった。しかし、このバルクの相分離構造の変化は膜最表面から1~2 μm程度の深さまでであり、それ以上の深さではラメラ状

に近いシリンダー状のミクロ相分離構造を保っていた(図4-4b)。一方、水中浸漬30分後のTEM像を観察すると(図4-5)、バルクのミクロ相分離構造は完全に海島状に変化しており、膜のどの深さの位置を観察してもラメラもしくはシリンダー状のミクロ相分離構造を観察することはできなかった。このことは水中浸漬による水分の膜内部への浸透の度合いが浸漬時間によって異なることを示しているものと考えられる。即ち、5秒間の水中浸漬では水分は膜最表面から1~2 μm までしか浸透しないが、30分間の水中浸漬によって膜全体に水分が浸透することが予想できた。このようなバルクの相分離構造がラメラ状から海島状に変化するのは親水性成分であるポリDIMAが水に対して可溶なためであると考えている。親水性成分がポリHEMAの場合には、水中浸漬によって水分が膜内部へ浸透してもポリHEMAドメインは膨潤するだけであり、ミクロ相分離構造はラメラ状を維持していた。しかし、poly(DIMA-*b*-isoprene)の場合にはポリDIMA鎖が水に可溶なため、水分の浸透によって膜内部ではポリDIMAドメインが膨潤するだけでなく、分子鎖が個別に分散しようとするのであろう。それによってポリDIMAドメインは可塑化されるのみでなく体積分率が極端に増加し、且つ疎水性成分であるポリイソプレンドメインもTgが室温以下に低いため自由に形態を変化させることが可能であるため、より安定した相分離構造を再構築しようとして海島状のミクロ相分離構造を示すのであろう。しかし、フィルムは水に対して不溶であったことからポリDIMA鎖が完全に水中に分散できるほどのミセル形成能は有しておらず、大部分の分子鎖どおしは水素結合やファンデルワールス力によって連結されているものと予想している。

以上のように、poly(DIMA-*b*-isoprene)はフィルムの水中浸漬によって表面のみならずバルクの構造までが再構築することを明らかにできた。このような様子を接触角測定やXPS測定からとらえることは不可能であり、表面とバルクの構造を同時に観察することが可能なTEM観察の有用性が示された。

ここでpoly(DIMA-*b*-isoprene)の俊敏な環境応答性を確認するために二つの実験を行った。ひとつは製膜直後の膜を乾燥シリカゲルの存在しない状態でOsO₄結晶蒸気にて固定・染色した時、もうひとつは同じく製膜直後の膜を水中浸漬することなくOsO₄水溶液に浸漬して固定・染色した時である。前者の条件で固定・染色されたフィルムから得られるTEM像と乾燥シリカゲル存在下で固定・染色されたフィルムから得られたTEM像とを比較することで、空気中の水分(湿度)の影響に関する知見が得られる。また、poly(DIMA-*b*-isoprene)はOsO₄水溶液への浸漬の際、ポリイソプレン内の炭素-炭素二重結合とOsO₄との反応よりも早く構造変化が起こることが懸念されるが、後者の方法から得られるTEM像と製膜直後や水中浸漬5秒後のフィルムから得られたTEM像とを比較することでOsO₄水溶液中での構造の再構築に関する知見が得られると考えた。はじめに乾燥シリカゲルの存在しない状態でOsO₄結晶蒸気にて固定・染色したフィルムから得られた断面TEM像を図4-6aに示す。バルクの構造は図4-3と同様にラメラ状のミクロ相分離構造を示しているが、最表層と思われるポリイソプレン層のドメイン厚がバルクのそれとかわらないことがわかる。これは、最表面がポリイソプレン層でないことを示唆するものであり、ここではポリDIMAドメインが染色されていないため良く観察できていないが、最表層はポリDIMAドメインで覆われているものと予想した。これは空気中の水分によって表面が疎水性から親水性に変化してしまったためと考えている。製膜直後の膜の接触角測定において、水滴がふれるやいなや接触角が低下する現象が見られたが、これと一致する現象であり、poly(DIMA-*b*-isoprene)は劇的な速度で環境変化に応答して表面構造再構築を起こすことがわかった。この再構築の速度はpoly(HEMA-*b*-isoprene)以上であり、表面構造再構築には疎水性成分であるポリイソプレン成分のTgの低さのみでなく、親水性成分の吸湿性の高さや水に対する溶解性も大きく影響を及ぼすことがわかった。

製膜直後のフィルムをOsO₄水溶液にて固定・染色したときの断面TEM像を図4-6bに示す。図4-6aと同様にバルクはラメラ状のミクロ相分離構造を示しているものの、表層に存在するポリイソプレン層のドメイン厚はバルク中のそれとほぼ同じ厚みであり、最表面はポリDIMAドメインで

覆われていると思われた。OsO₄水溶液に浸漬するやいなや、もしくは空気中の水分によってフィルム最表面は再構築を起こしてしまうためにこのようなTEM像が得られたものと考えている。しかし、水中浸漬5秒後のフィルムから得られたTEM像(図4-4)とを比較すると、バルクの構造が大きく異なることがよくわかる。同一条件で固定・染色を行った水中浸漬0秒のフィルムと5秒のフィルムの断面TEM像に違いが認められたということは、構造の固定は少なくとも5秒以内には完了していることになる。これより、OsO₄水溶液浸漬によって膜表面から第一層は再構築が起こってしまうが、5秒以内には構造固定が可能であることが予想できた。

水中浸漬後の試料を30分間もしくは24時間空气中・室温で乾燥した時の断面TEM像、及び100℃で30分間アニーリングを行った後の断面TEM像をそれぞれ図4-7a~cに示す。水中浸漬によって一旦海島状に変化したバルクのマクロ相分離構造は、その後再びラメラ状のマクロ相分離を示すことはなかった。水中浸漬によって島成分となったポリイソプレンドメインは周囲を完全にポリDIMAマトリックスに包含されているため、再びラメラ状になるためには島状ポリイソプレンドメインは隣接したドメインとおしが融合する必要がある。そのためにはポリDIMAマトリックスドメインを一定方向に押し出すという大きな運動エネルギーが要求される。しかし、両ドメイン共に室温下でそれだけの運動性を発現することができないため、ラメラ状に戻ることなく海島状の構造を維持したままポリDIMAマトリックスが収縮し、図4-7に示したような構造になるものと考えている。

ここで最表面の様子に注目すると、室温・空気中での乾燥によって最表層の一部にはポリイソプレン層が存在することがわかった(図4-7a)。しかし、24時間の室温・空気中での乾燥でも膜最表面は完全にポリイソプレン層に覆われることはなかった(図4-7b)。また、100℃のアニーリング後には最表層は完全にポリイソプレン層がもどることが確認できた(図4-7c)。水中浸漬後の親水性成分で覆われた表面が風乾によって再構築する様子はpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)や

poly(HEMA-*b*-isoprene)では決して見られなかった現象であり、poly(DIMA-*b*-isoprene)は比較的容易に環境変化に応答しうることが予想できた。しかし、室温下での再構築は表面の極一部でのみ起こることであり、水和状態から乾燥状態への完全な構造再構築にはアニーリングが必要であることがわかった。

図4-7cに示した水和後の試料を100℃でアニーリングした場合の表面の様子は接触角測定の結果と矛盾している。即ち、TEM観察ではアニーリング後の表面は完全にポリイソブレン層で覆われているにもかかわらず、接触角測定ではポリDIMAホモポリマーほどではないが親水性を示している。この理由としては、次のふたつが考えられる。ひとつは、poly(DIMA-*b*-isoprene)の有する俊敏な表面再構築に妨害されて正確な接触角が測定されていない可能性がある。as-castフィルムの接触角が測定できなかったように、風乾後やアニーリング後の表面も水滴とふれるやいなや接触角が低下してしまうため疎水性に戻った様子がとらえられていないのではないだろうか。二つ目には、TEMで観察された最表層のポリイソブレンドメインにポリDIMA鎖がわずかに混入している可能性がある。TEMによる解析は定量的でないため、観察されるドメインが100%のものであるかどうかは定かでない。そこで、表面構造を定量的にとらえるためにXPSによる解析も行ったがFreeze-dry XPSを用いない測定であったため、水中浸漬後の試料や風乾後、及びアニーリング後の試料については信頼できる結果を得ることができなかった。よって、どちらの理由が主な原因で表面解析結果に矛盾が生じたのかを明らかにすることはできなかった。この理由を明らかにするためににはFreeze-dry XPSを利用した定量的解析が必要かと思われる。



100 nm

Figure 4-3. Transmission electron micrograph (cross sectional view) of the ultrathin sections of poly(DIMA-*b*-isoprene) cast film from THF/methanol (5/1, v/v). The as-cast film was stained with OsO₄ vapor under desiccated conditions.

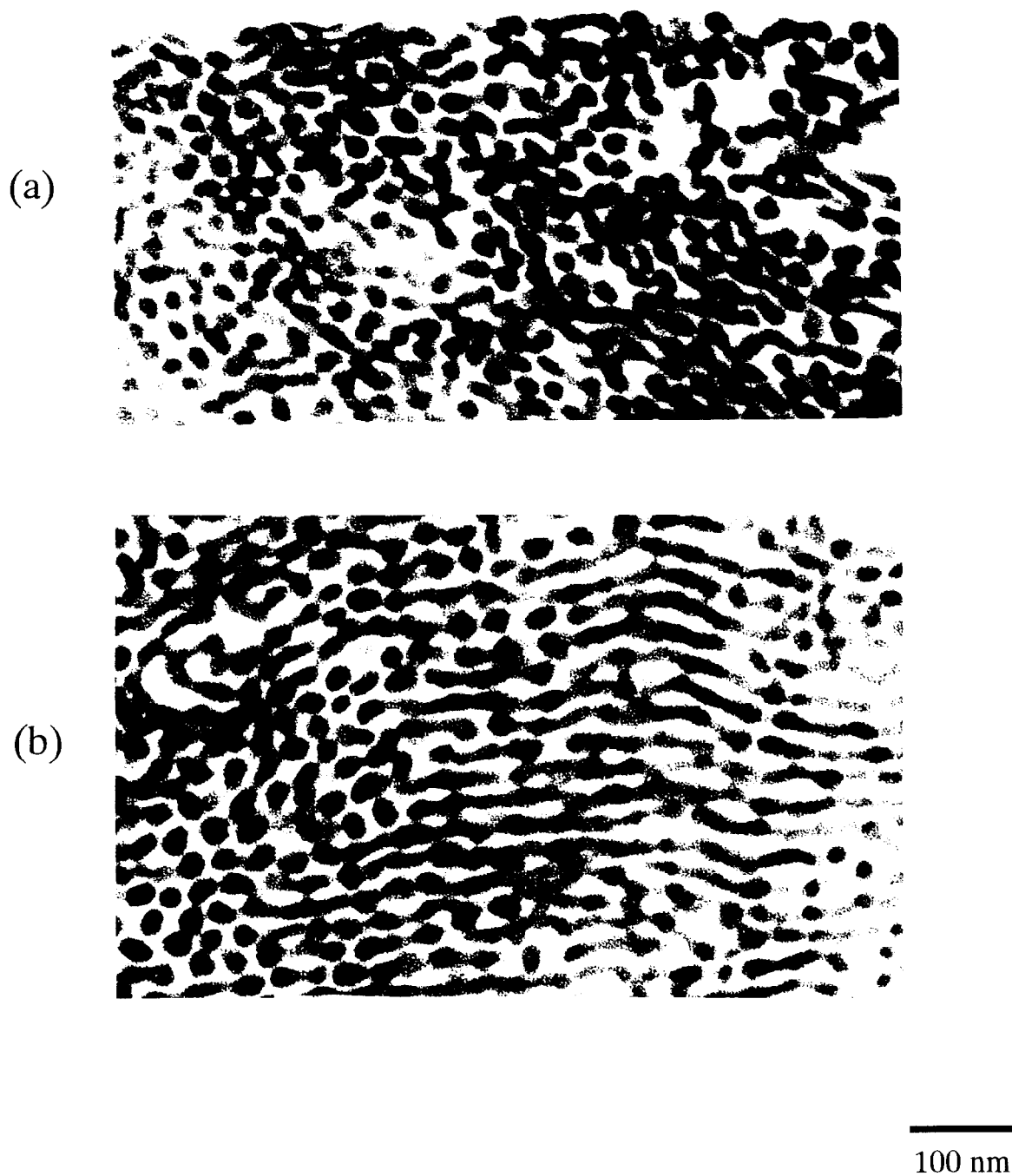
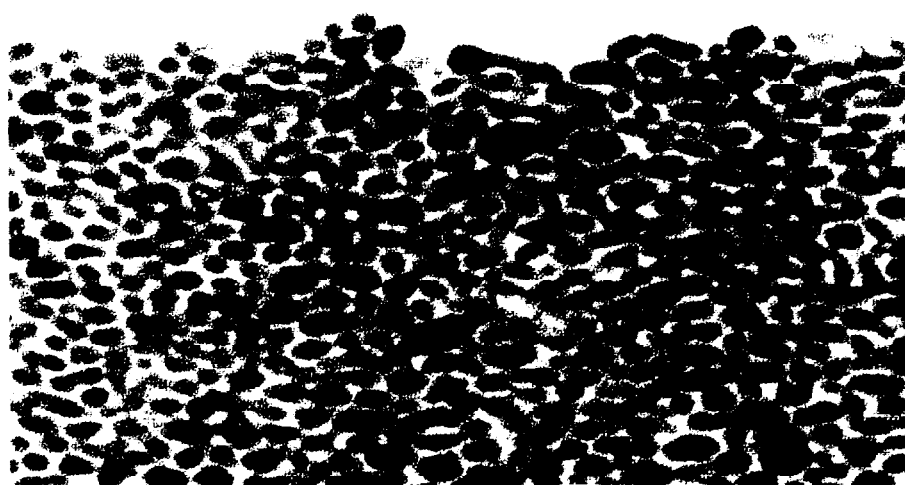
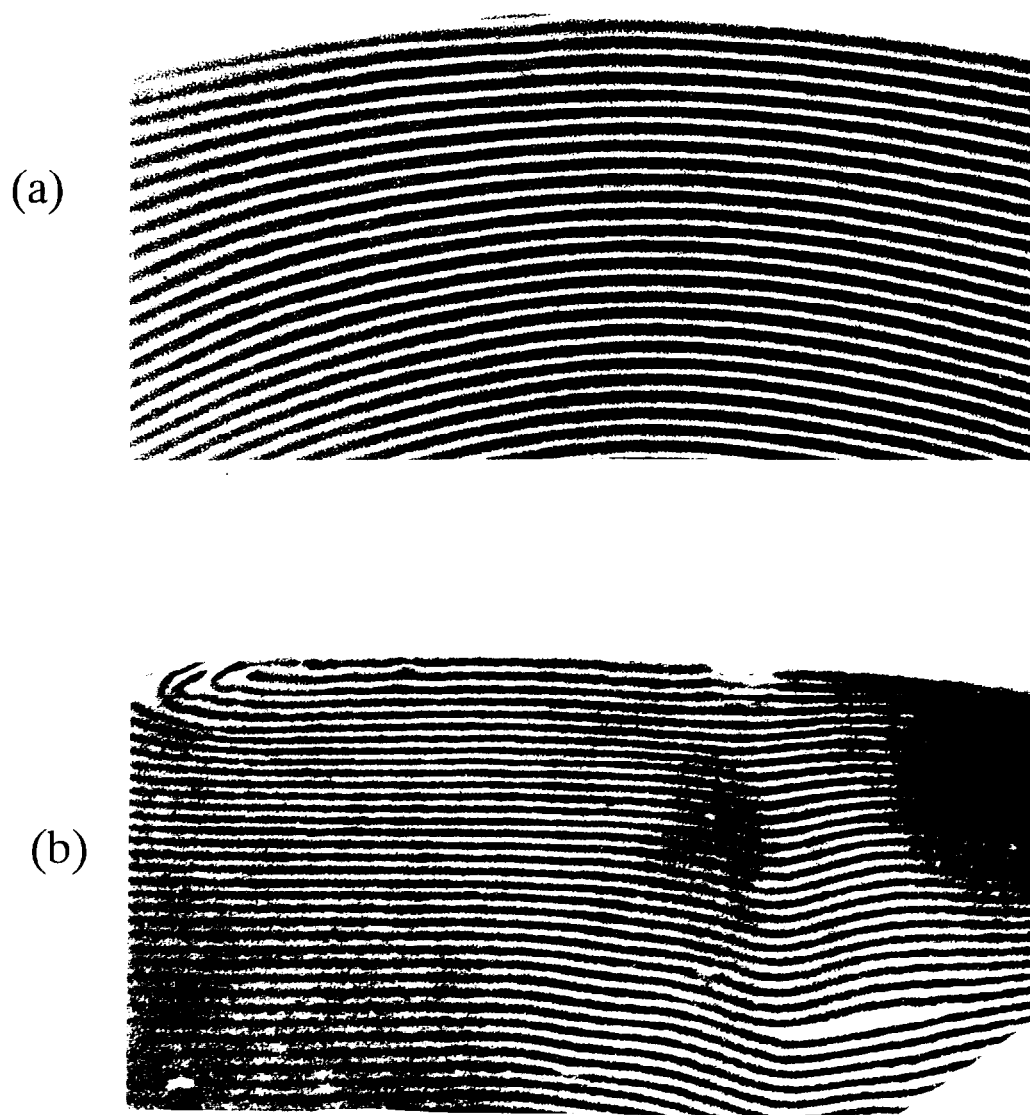


Figure 4-4. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of hydrated poly(DIMA-*b*-isoprene) film by soaking in water for 5 sec. (a) near surface region. (b) in bulk region.



100 nm

Figure 4-5. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of hydrated poly(DIMA-*b*-isoprene) film by soaking in water for 30 min.



100 nm

Figure 4-6. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of poly(DIMA-*b*-isoprene) cast film from THF/methanol (5/1, v/v). (a) The as-cast film was stained with OsO₄ vapor under ambient temperature and relative humidity. (b) The as-cast film was stained with OsO₄ aqueous solution by soaking the film directly.

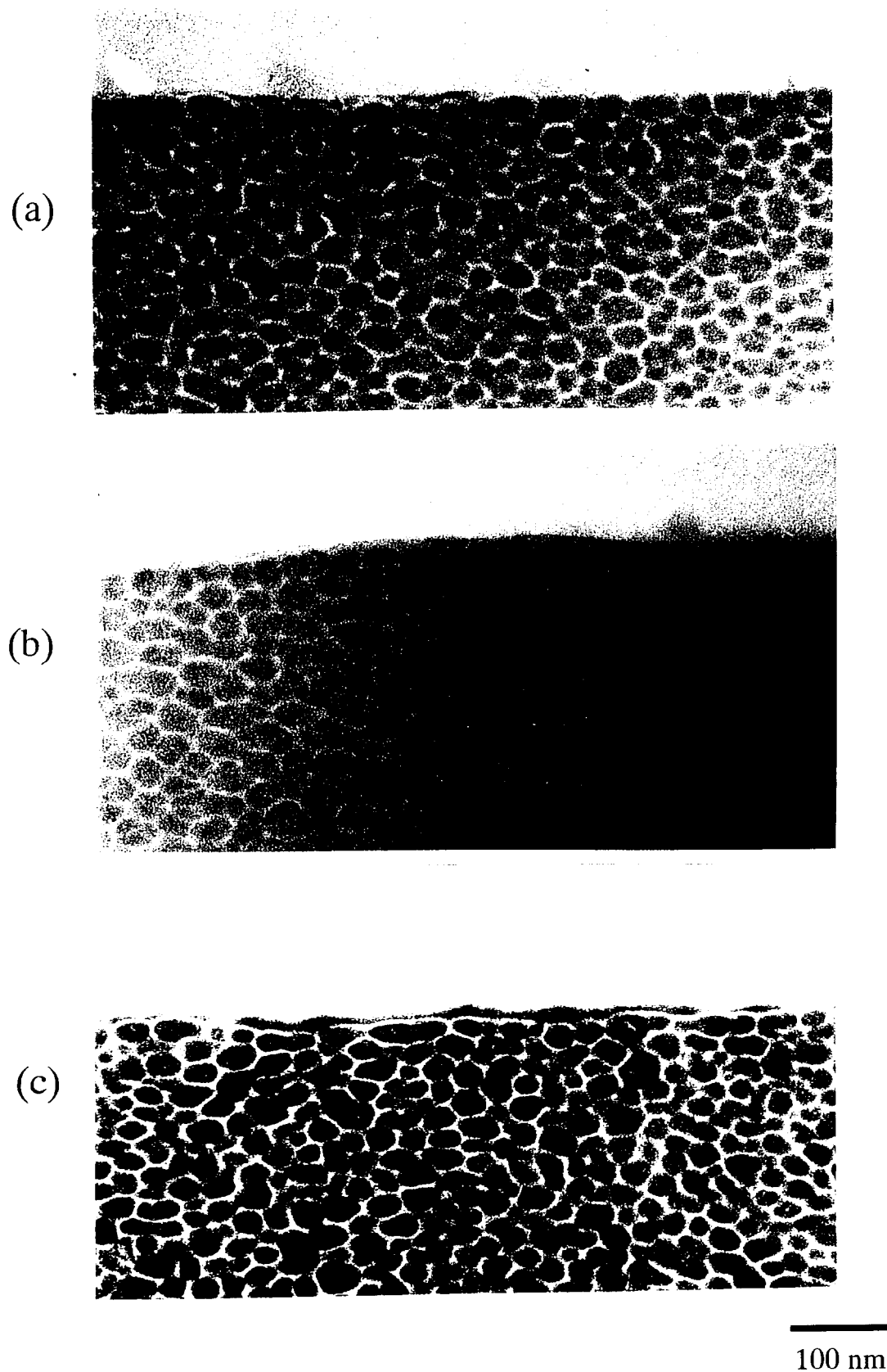


Figure 4-7. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of poly(DIMA-*b*-isoprene) cast film from THF/methanol (5/1, v/v). The hydrated film was air-dried for (a) 1 h, or (b) 24 h at room temperature, or (c) annealed at 90 °C for 30 min.

4-4 結論

本章ではpoly(DIMA-*b*-isoprene)フィルムの環境変化に応答した表面及びバルク構造の再構築の様子をTEM観察から行い、今までに報告されている接触角やXPSの測定結果と比較検討した。その結果、製膜直後の膜最表面は疎水性成分であるポリイソプレン層によって完全に覆われていることを明らかにできた。また、このポリイソプレン層は外部の環境に対して非常に敏感であり、水中浸漬のみでなく空気中の水分によっても膜内部へ潜り込み、フィルム最表面は親水性成分であるポリDIMA層で覆われてしまうことも確認できた。

poly(DIMA-*b*-isoprene)フィルムの最も大きな特徴は俊敏な環境応答性と、水中浸漬によって表面のみでなくバルク構造までが再構築を起こすことである。即ち、製膜直後にはラメラ状ミクロ相分離構造を有するバルク構造がわずか5秒間の水中浸漬によって海島状(島成分：ポリイソプレン、マトリックス成分：ポリDIMA)のミクロ相分離構造に再構築することがTEM観察からわかった。このように表面だけでなくバルク構造までが環境変化に応答した再構築を示すのは、疎水性成分の運動性の高さと親水性成分の水に対する溶解性の二つの特徴の組み合わせによって示されるものと予想している。表面とバルク構造のモルフォロジーの変化を同時にとらえることができるのはTEM観察のみであり、この方法の有用性が確認できた。

水中浸漬によってポリDIMA層が表面濃縮したpoly(DIMA-*b*-isoprene)フィルムはアニーリングによって再び疎水性表面に戻ることもTEM観察から確認できた。しかし、一旦海島状となったバルクのミクロ相分離構造はその後のアニーリング処理によってもラメラ状にもどることはなく、最表面のみで再構築を繰り返すことがわかった。

最後に、水中浸漬5秒後のTEM像と水中浸漬しないフィルムをOsO₄水溶液で固定・染色した場合に得られたTEM像との比較から、OsO₄水溶液浸漬によってポリイソプレンドメインは数秒以内に構造の固定が完了することを明らかにすることができた。

参考文献

- 1) H. Mori, A. Hirao, S. Nakahama, K. Senshu, *Macromolecules*, **27**, 4093 (1994)
- 2) 森 秀晴, 平成5年学位論文(東京工業大学高分子工学専攻)
- 3) G. E. Molau, In: *Block Copolyemers*, ed: Aggarwal, Plenum Press, New York (1979), p79
- 4) H. Hasegawa, T. Hashimoto, *Macromolecules*, **18**, 589 (1985)

第5章 ポリ(4-オクチルスチレン)を疎水性成分とする ブロック共重合体の表面構造解析

5-1 はじめに

第3章及び第4章では室温以下のT_gを有するポリイソプレンを疎水性成分とした親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造解析を行い、これら共重合体の膜表面はポリスチレンを疎水性成分とした共重合体の場合に比べて外部の環境変化に対して俊敏に応答することを明らかにしてきた。特に親水性成分が水に可溶なポリDIMAとの組み合わせでは、表面のみならず膜内部のバルク構造までが再構築を示すことがわかった。このような俊敏な応答性は疎水性成分であるポリイソプレンが室温でゴム状態にあり分子運動性が高いために起こった現象であると考えている。そこで、本章ではポリイソプレン同様に室温以下のT_gを有するが、分子骨格はポリスチレンに類似したポリ(4-オクチルスチレン)を疎水性成分とするブロック共重合体の表面構造解析について検討した。

はじめに疎水性成分の設計であるが、本研究のさきがけであるポリスチレンとポリHEMAからなるブロック共重合体を基本とした。一般的に高分子は側鎖が存在するとT_gが低下することが知られている。そこで、ポリスチレン芳香環のパラ位にC₈のアルキル基を有するポリ(4-オクチルスチレン)を疎水性成分として設計した。poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)と比較することで疎水性成分のT_gが、またpoly(HEMA-*b*-isoprene)と比較することでT_gには反映しないようなマイクロドメインの運動性が、表面構造や表面再構築の様子にどのような影響を及ぼすのかを明らかにできると考えた。また、親水性成分としてはポリHEMAとポリDIMAの両成分について比較検討を行った。

ポリ(4-オクチルスチレン)を疎水性成分とするブロック共重合体の表面構造解析は、ポリHEMAを親水性成分とした共重合体については伊藤らによって、ポリDIMAを親水性成分とした

共重合体については森らによってすでに接触角測定及びXPS測定から行われている[1, 2]。その結果、ポリHEMA含量が58wt%のpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)では環境変化に応答した表面構造の再構築が接触角測定及びFreeze-dry XPS測定から確認できている。また森らはポリDIMA含量が45wt%のpoly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)の外部環境変化に対する表面応答性について接触角測定から検討し、乾燥状態から水和状態の時は非常にすばやい再構築を示すものの、水和後のフィルムをアニーリングしても完全な疎水性表面に戻らないことを示している。また水中浸漬後のフィルムの室温下でのXPS測定では第4章で述べたpoly(DIMA-*b*-isoprene)同様に信頼できる結果が得られなかったと報告している。そこで、本章ではTEM観察を中心にこれからブロック共重合体の表面構造解析を行い、先に報告されている接触角及びXPS測定と併せて考察した。また、2～4章で述べてきたpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)、poly(HEMA-*b*-isoprene)、及びpoly(DIMA-*b*-isoprene)との比較検討を行った。

5-2 試料と実験

5-2-1 試料

疎水性成分モノマーである4-オクチルスチレンは4-クロロメチルスチレンと金属マグネシウムからGrignard試薬を得、更にn-ヘプチルブロマイドとのカップリングから合成した。親水性成分については2～4章までと同様にHEMAの水酸基をトリメチルシリル基で保護したモノマー、またはDIMAの2つの水酸基をジオキソラン環で保護したモノマーを重合に使用した。両ブロック共重合体は前章までと同様にアニオンリビング重合から合成した。それぞれの合成のスキームを図5-1に示す。はじめにn-BuLiを開始剤として、-78℃、THF中で4-オクチルスチレンを重合した。ついでDPE、LiClを添加し、更にセカンドモノマーである水酸基を保護したHEMAもしくはDIMAを加えることでブロック合成体を合成した。MeOHでクエンチした後、塩酸を加えること

で脱保護を行い、目的のブロック共重合体を得た。それぞれの合成の詳細については参考文献を引用されたい[3, 4]。本実験に用いたブロック共重合体の重合度及び組成比は表5-1に示したとおりである。尚、4-オクチルスチレンホモポリマーのT_gはDSC測定の結果、-42℃であった。

5-2-2 TEM観察

2-2-2と同様の方法でTEM観察用試料を調製した。キャスト溶媒にはすべてDMFを用いた。製膜直後、及び水中浸漬30分後の試料について観察を行った。

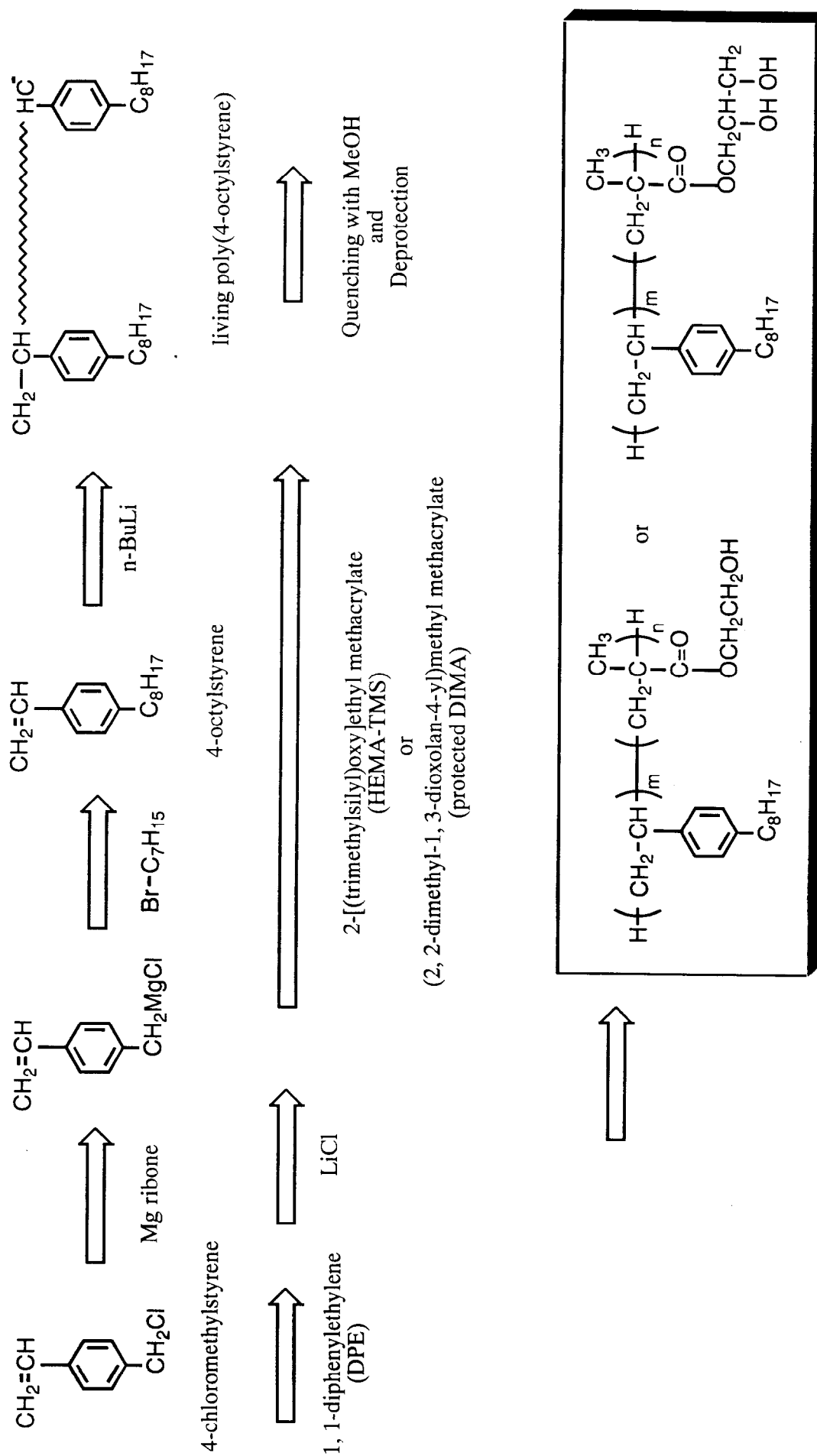


Figure 5-1. Scheme of synthetic method of poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene) or poly(DIMA-*b*-4-octylstyrene) by anionic living polymerization.

Table 5-1. Characterization of Hydrophilic-Hydrophobic Block Copolymers
Containing Poly(4-octylstyrene)

sample	molecular weight (M_n)		M_w/M_n ^b	wt% of polyHEMA unit ^c
	hydrophilic block ^a	poly(4-octylstyrene) block ^b		
Poly(HEMA- <i>b</i> -4-octylstyrene)	7700	9500	1.21	45
Poly(DIMA- <i>b</i> -4-octylstyrene)	6900	8600	1.08	45

^a M_n was estimated from the compositions and M_n 's of the starting polymers.

^b M_n and M_w/M_n were obtained by SEC, using standard polystyrene for calibration.

^c The compositions were determined by ¹H-NMR.

5-3 poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene)のTEM観察による表面構造解析

はじめに伊藤らが報告している poly(HEMA-*b*-4-octylestyrene-*b*-HEMA)(Mn:6900-10200-6900, Mw/Mn=1.06, ポリHEMAの重量分率=67wt%)の接触角測定とXPS測定の結果について述べたい[1]。図5-2にさまざまな環境下での接触角測定の結果を示す。ここで実験に用いたフィルムは水面上にポリマーのベンゼン+MeOH(4/1, v/v)溶液を展開し、溶媒を揮発させることで製膜したフィルムの水接触面を測定しているため親水性表面からスタートしている。しかし、この表面を空气中・80℃でアニーリングすると5分程度で4-オクチルスチレンホモポリマーと同程度の疎水性表面に変化することがわかった。また、再度水中浸漬することで膜表面は親水性に変化し、約10分の浸漬ではほぼ平衡に達するが、空气中で風乾してもあまり疎水性には戻らないことがわかった。更には、この環境変化に対する応答は繰り返し起こることが確認できた。この結果はpoly(HEMA-*b*-isoprene)同様に、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)に比べて短時間での環境応答性を示しており、疎水性成分のTgが表面構造再構築に影響していることが予想された。次に同じサンプルのFreeze-dry XPSの結果を表5-2に示す。これより、製膜直後の膜表面にはポリ(4-オクチルスチレン)成分が濃縮していること、水中浸漬後に凍結乾燥したフィルムの表面にはポリHEMA成分が濃縮していることが確認できた。さらには、Freeze-dry XPSの測定温度を-50℃から35℃まで高真空下にあるXPSチャンバー内で上昇させても膜表面にはポリHEMA成分が濃縮したままであったが、フィルムを一旦空气中に取り出して室温・風乾すると再び膜最表面には疎水性成分であるポリ(4-オクチルスチレン)成分が濃縮することがわかった[5, 6]。以上のように、接触角測定及びFreeze-dry XPS測定からpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)は、外部環境変化に応答して表面構造を変化させることが、且つその応答性はpoly(HEMA-*b*-isoprene)と同様に非常に敏感であることが確認できている。そこで、これらの表面構造の様子をTEM観察からとらえることを試みた。尚、TEM観察にはpoly(DIMA-*b*-4-

octylstyrene)との比較検討のため、ジブロック共重合体を用いることとした。

製膜直後のpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene)から得られた断面TEM像を図5-3aに示す。四酸化オスミウム(OsO_4)によって黒く染色された層がポリHEMAドメインを、染色されなかった白い層がポリ(4-オクチルスチレン)ドメインを示している。バルク中のマイクロ相分離構造は明瞭なラメラ状のマイクロ相分離構造を示しており、2～4章までに述べてきたブロック共重合体同様にMolau則[7]に従ったマイクロ相分離構造を有することが確認された。さらに最表面に注目すると、フィルム最表面は染色されていないポリ(4-オクチルスチレン)層で完全に覆われており、フィルム最表面には疎水性成分が濃縮していることを明らかにできた。また、最表面に存在するポリ(4-オクチルスチレン)層の厚み(約50 Å)はバルク中のそれ(80～100 Å)の約1/2であり、第3章で述べたバルク中のマイクロ相分離構造のドメイン幅と最表面のドメイン幅との関係[8]がここでも成り立っていることを確認することができた。このTEM観察の結果は上で述べた接触角測定やXPS測定の結果となんら矛盾のないものであり、poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene)の膜最表面もその他の親水性-疎水性ブロック共重合体同様に、疎水性成分であるポリ(4-オクチルスチレン)で完全に覆われていることを明らかにすることができた。

次に水中浸漬30分後の断面TEM像を図5-3bに示す。水中浸漬してもバルクのラメラ構造は維持しているが、製膜直後にみられた層状の構造がくずれていることがわかる。また、製膜直後の膜最表面には存在したバルクのドメイン幅の1/2の厚さのポリ(4-オクチルスチレン)層が消失していることも確認できた。直接的な観察ではないが、このことは膜最表面がポリHEMA層で覆われていることを示唆しており、水中浸漬によって膜表面の再構築が起こったことがわかった。

水中浸漬後にアニーリングした場合についても観察を試みたが、表面構造について議論できるような明瞭なTEM像を得ることはできなかった。この原因についてであるが、上で述べた水中浸漬後のバルク構造の無秩序化や最表面のポリHEMA層が観察できないことと併せて、 OsO_4 による

構造の固定が不十分なためではないかと考えている。水中浸漬によって poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene) の膜最表面は疎水性成分から親水性成分に入れ替わりはしたものの、親・疎水性両成分の分子運動性が高いため、OsO₄による構造固定の間も各ドメインはミクロブラウン運動していることが予想される。また、poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene)ではポリHEMAドメインがOsO₄と反応することで構造が固定され则认为しているが、モノマー単位に炭素-炭素二重結合を含まないため構造固定に長時間を要する。よって水中浸漬後の表面構造は完全に固定されず、不明瞭な像として観察されたのであろうと予想している。尚、poly(styrene-*b*-HEMA-*b*-styrene)の場合にも、ポリHEMAドメインとOsO₄との反応のため構造固定には長時間を要すると思われるが、ポリスチレンドメインの運動性が低いために、膜表面のミクロ相分離構造は濡れた表面の構造を保ったまま固定され、明瞭な断面TEM像が得られたと考えている。

以上、製膜直後の poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene) フィルムの膜最表面は疎水性成分で覆われていること、水中浸漬によって親水性成分と入れ替わることは明らかにできたものの、環境変化に対する応答性の知見をTEM観察から得ることはできなかった。この理由としては室温以下の低いT_gを有する運動性の高いブロック共重合体の表面構造を観察するには、瞬時にその構造を固定する必要がある。しかし、OsO₄とポリHEMAドメインの反応には長い時間を要するため、明瞭な状態のままでの表面構造が固定されず観察できなかったと考えている。

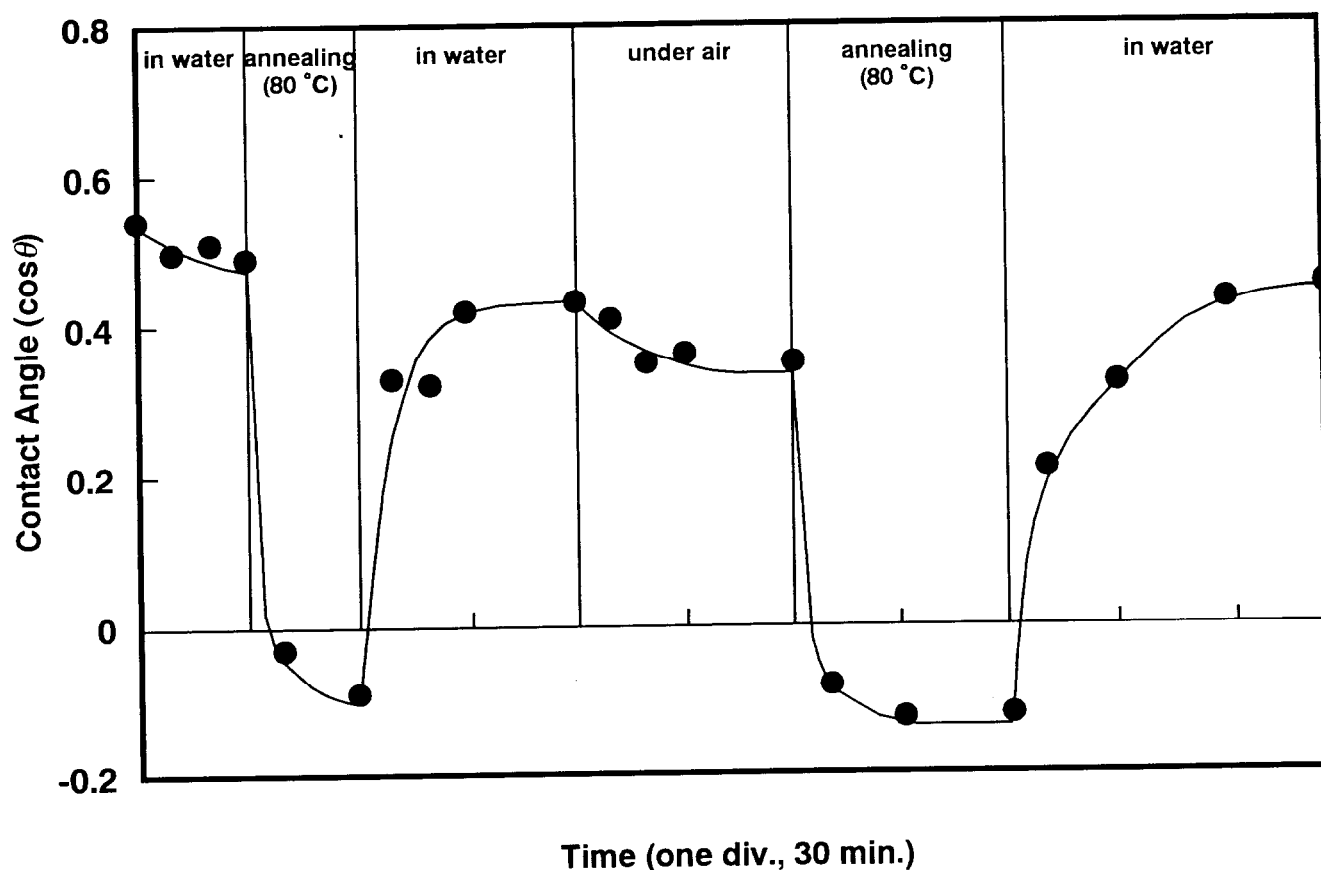
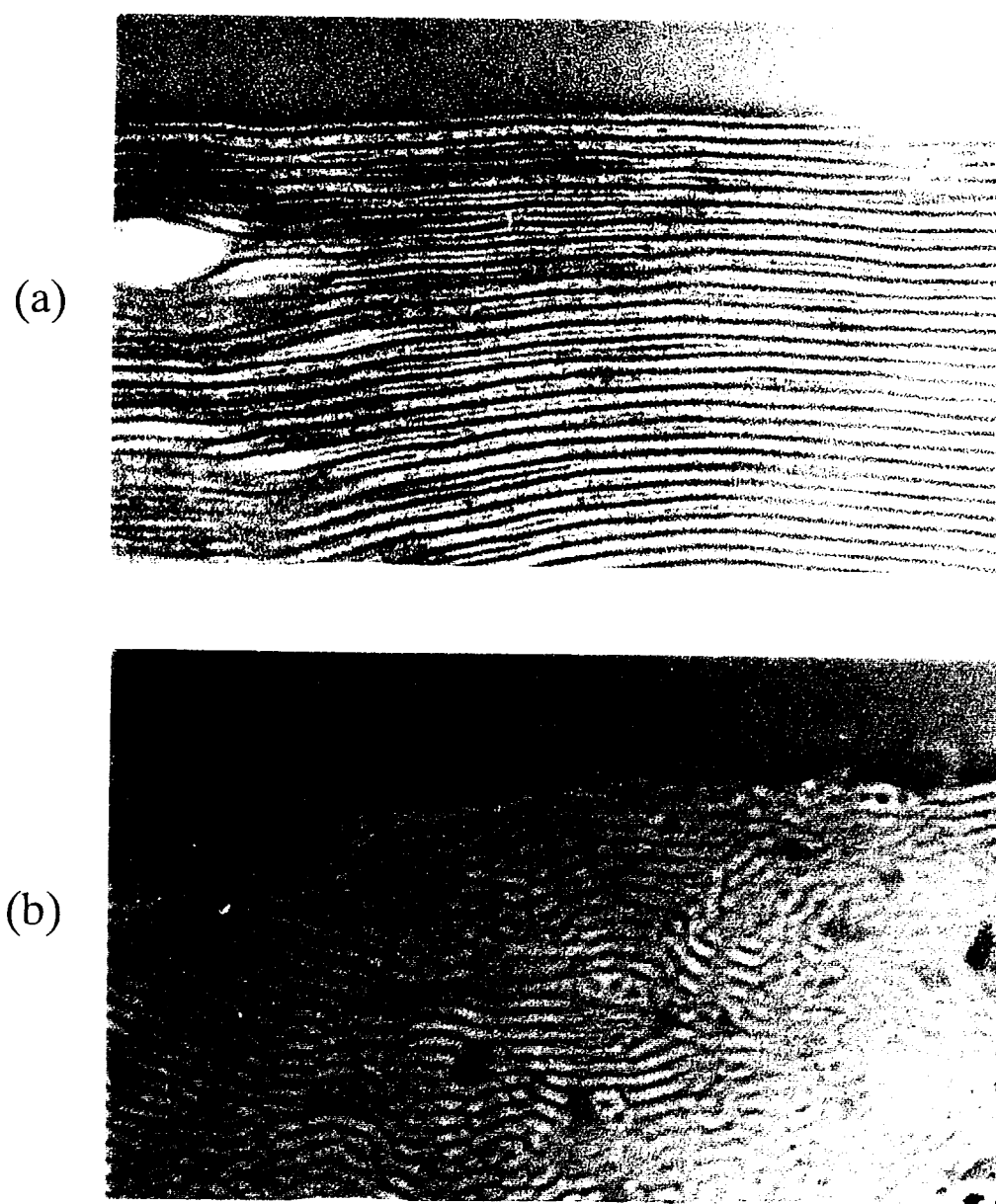


Figure 5-2. Static contact angle ($\cos\theta$) of a water droplet on poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA) (M_n : 6900-10200-6900, $M_w/M_n=1.06$, weight fraction of HEMA unit=58 %) cast film under dry and wet conditions as a function of treating period. The film was prepared on water from benzene/methanol solution (4/1, v/v), and picked it up onto Si-wafer. Contact angles were measured on the water-side surface.



100 nm

Figure 5-3. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene).

(a) As-cast film from DMF solution. (b) Hydrated film by soaking in water for 30 min.

Table 5-2. Surface Composition of Poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA) ^a
Film under Dry and Wet Conditions
Determined by Freeze-dry XPS Measurement

Conditions	Takeoff Angle (degree)	Depth (Å)	Atomic percent (%)		Monomer Unit percent ^b (%)	
			C	O	4-octylstyrene	HEMA
As-cast ^c	90	100	96.0	3.33	82.4	17.6
	51	80	96.4	2.77	88.3	11.7
	35	60	95.6	2.15	88.8	11.2
	22	35	95.8	2.26	86.0	14.0
	10	15	92.8	3.45	83.4	16.6
Hydrated ^d	90	100	79.6	18.6	29.9	70.1
	18	30	79.6	20.2	26.8	73.2
Vacuum dried ^e	90	100	81.4	17.2	33.9	66.1
	18	30	77.3	22.0	22.1	77.9
Air dried ^f	90	100	97.5	2.47	87.5	12.5
	51	80	98.1	1.94	90.1	9.9
	35	60	98.9	1.15	94.0	6.0
	22	35	99.1	0.84	95.6	4.4
	10	15	98.8	0.70	96.3	3.7
Bulk ^g	-	-	81.4	18.6	30.7	69.3

^a $M_n=6900-10200-6900$, $M_w/M_n=1.06$, weight fraction of HEMA unit=58 %.

^b Monomer unit percent was determined from the composition of carbon and oxygen.

^c The sample was cast from a solution of THF/methanol (5/1, v/v) by spin-coating.

^d After the as-cast film was soaked in water for 45 min, the film was freeze-dried for 30 min at -50 °C, and then the measurement was carried out at -50 °C.

^e After the hydrated film was freeze-dried at -50 °C, the specimen temperature was raised up to 35 °C *in vacuo*, and then the measurement was carried out at 35 °C.

^f After the hydrated film was freeze-dried at -50 °C, the specimen temperature was raised up to room temperature in the air, and then the measurement was carried out at room temperature.

^g Determined by elemental analysis.

5-4 poly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)のTEM観察による表面構造解析

はじめに森らによる接触角測定の結果を述べたい[2]。種々の環境下で測定された水に対する poly(DIMA-*b*-4-octylstyrene) フィルムの接触角を図5-4に示す。製膜直後の poly(DIMA-*b*-4-octylstyrene) 表面は水滴と触れるとすぐに親水性に変化してしまうため、製膜直後の接触角値を得ることができなかった。これは第4章で述べた poly(DIMA-*b*-isoprene) でも観察された現象である。そこで、poly(DIMA-*b*-isoprene) 同様にフィルムを空气中・100℃にて1時間のアニーリングを行ってから接触角測定を行った。アニーリング後のフィルム表面も水滴と接触して十数秒後には親水性に変化し、非常にすばやい表面構造の再構築が起こることがわかった。また、水中浸漬後のフィルムを空气中で風乾しても表面は親水性を維持しており、かつ空气中・100℃でのアニーリングによっても poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA) や poly(HEMA-*b*-isoprene) で見られたように完全な疎水性表面にもどることはなかった。このように種々の環境下での接触角測定の結果は、poly(DIMA-*b*-isoprene) とほぼ同様の挙動であった。また、XPS測定からも製膜直後の膜最表面には疎水性成分が濃縮していることを明らかにできている。しかし、水和状態での膜表面構造を室温条件XPSではとらえることができず、Freeze-dry XPSの測定が必要であることが示唆されている。ここでは poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene) 同様、第3の表面分析手法であるTEM観察からの解析を行った。

製膜直後の poly(DIMA-*b*-4-octylstyrene) フィルムの断面TEM像を図5-5aに示す。OsO₄によって黒く染色された層がポリDIMAドメインを、染色されていない層がポリ(4-オクチルスチレン)ドメインを示している。バルクでは明瞭なラメラ状のミクロ相分離構造が観察された。また、フィルム最表面にはバルク中のドメイン幅の約1/2の厚みの染色されていない層が存在し、膜表面はポリ(4-オクチルスチレン)層で完全に覆われていることがわかった。

次に製膜直後のフィルムを水中に30分間浸漬した後の断面TEM像を図5-5bに示す。poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene)とは異なり、バルクは明瞭なラメラ構造を維持したままであった、また、poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene)同様に明瞭な表面状態はとらえられていないが、製膜直後のフィルム最表面に存在したドメイン幅がバルクの1/2のポリ(4-オクチルスチレン)層が消失しており、水中浸漬による表面構造再構築が示唆された。ここでも明瞭な表面構造が観察できなかったのはpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene)と同様に、ポリ(4-オクチルスチレン)成分の低いTgとポリHEMAドメインの染色性の低さによるものと考えている。

ここで、水中浸漬後のバルクのマクロ相分離構造であるが、poly(DIMA-*b*-isoprene)では水中浸漬によってバルクのマクロ相分離構造がラメラ状から海島状に変化することがわかっており、この原因として、親水性成分の水に対する溶解性と疎水性成分のTgの低さの相互作用を挙げている[9]。poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene)もこの二つの条件を満たしているにも関わらず、水中浸漬してもバルクのマクロ相分離構造はラメラ状を維持したままであった。この理由は次のように考えている。分子運動性の高さをTgで比較しているが、Tgはあくまでも分子鎖の状態がゴム状態かガラス状態であるかを判断する物性値のひとつである。今までに述べてきた親水性-疎水性ブロック共重合体の構造再構築はTEM観察の結果から理解できるように、分子鎖の運動によるものではなく、分子の集合体であるドメイン全体の運動によるものである。よって、たとえTgが低く分子鎖がゴム状態にあっても、ドメインとしての運動性が低い場合には、バルクの再構築までは起こすことができないのであろう。以上のことからポリ(4-オクチルスチレン)は側鎖の存在によってTgは低いものの、側鎖の立体障害的作用によって、もしくはベンゼン環の π 電子効果によって、分子の集合体であるドメインの運動性はポリイソプレンに比べて低いことが示唆された。しかし、水中浸漬後の表面状態が明瞭に観察できないという結果からポリスチレンドメインよりは運動性が高いことが予想され、Tgもドメインの運動性に影響を及ぼさないわけではないことが推測できた。

以上、poly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)においても、その他の親水性-疎水性ブロック共重合体同様に製膜直後の膜最表面には疎水性成分であるポリ(4-オクチルスチレン)が濃縮しているが、水中浸漬によって親水性成分であるポリDIMA層と入れ替わることをとらえることができた。しかし、OsO₄による構造固定に時間を要することと表面状態の運動性の高さが障害となって、水和状態での明瞭な表面構造を観察することができなかった。

最後にpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene)とpoly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)との違いについて考察した。TEM観察からはこれらの顕著な違いを見いだすことはできなかったが、接触角測定の結果から、環境変化に対する応答性がpoly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)のほうが俊敏であることが予想できる。このようにひとつの分析方法のみではそれぞれの特徴をとらえることが困難な事例が決して少なくなく、環境変化に応答した表面構造再構築の研究にはさまざまな表面分析法の組み合わせが重要であることを再認識することができた。

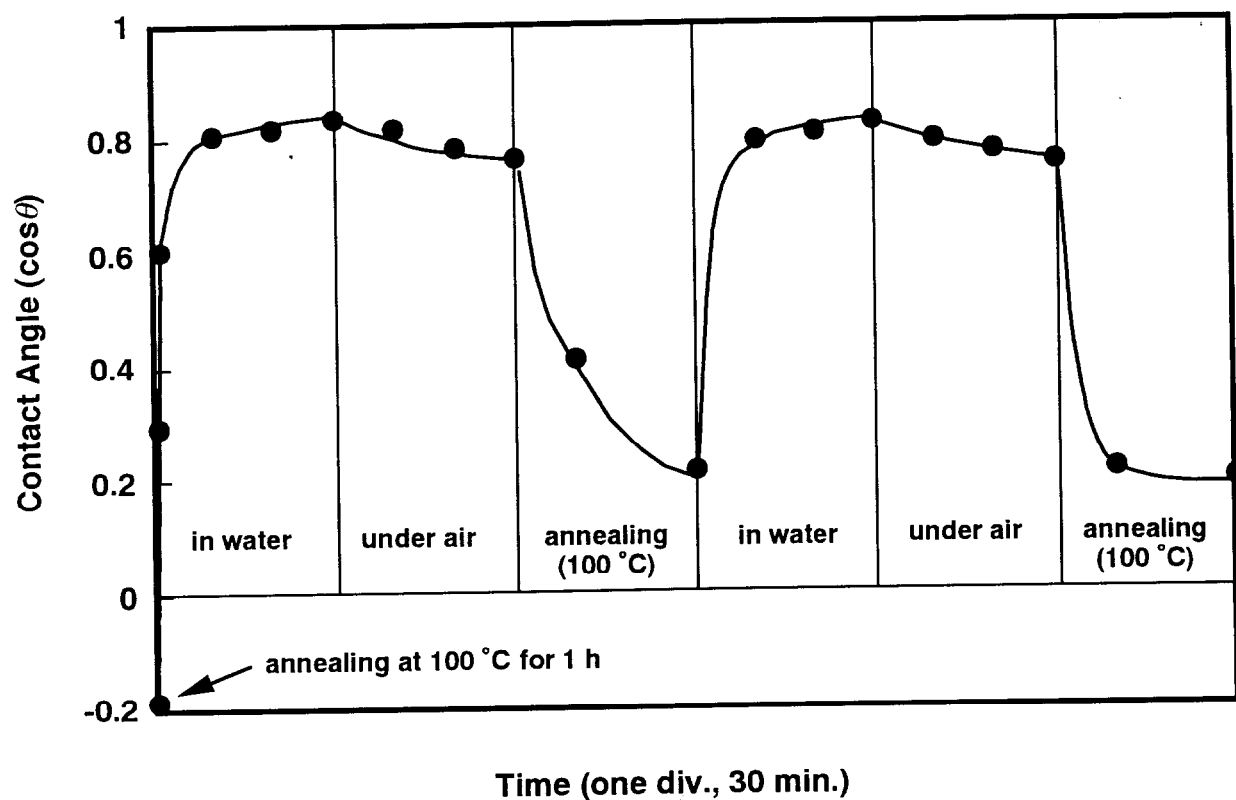
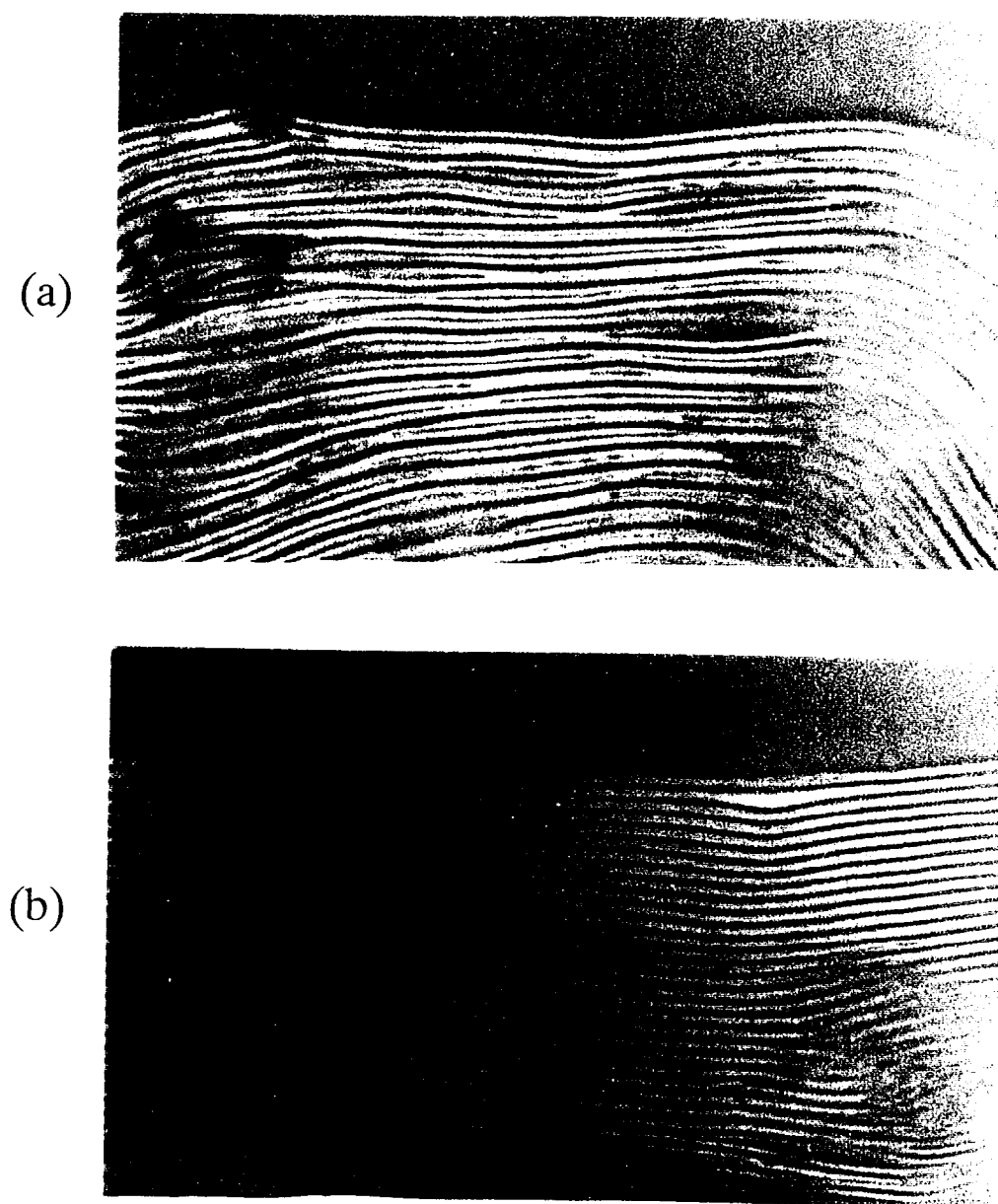


Figure 5-4. Static contact angle ($\cos\theta$) of a water droplet on poly(DIMA-*b*-4-octylstyrene) ($M_n=6900-8600$, $M_w/M_n=1.08$, weight fraction of DIMA unit=45 %) cast film from benzene/methanol (4/1, v/v) as a function of treating period under dry and wet conditions.



100 nm

Figure 5-5. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of poly(DIMA-*b*-4-octylstyrene).
(a) As-cast film from DMF solution. (b) Hydrated film by soaking in water for 30 min.

5-5 結論

本章ではpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene)及びpoly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)フィルムの環境変化に応答した表面及びバルク構造の再構築の様子をTEM観察から行い、今までに報告されていた接触角測定やXPS測定の結果と比較検討した。その結果、両者共に製膜直後の膜最表面は疎水性成分であるポリ(4-オクチルスチレン)層によって完全に覆われていることを、水中浸漬によって最表層に存在したポリ(4-オクチルスチレン)層は消失することを明らかにすることができた。また、接触角測定の結果では、ポリ(4-オクチルスチレン)を疎水性成分とするブロック共重合体の環境変化に応答した表面構造再構築はpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)に比べて顕著に短時間に完了しており、疎水性成分のTgの違いが再構築の速度に影響を及ぼしていることを明らかにできた。特にポリDIMAを親水性成分とした場合には、その度合いが顕著であり、親水性成分の水に対する親和性も影響を及ぼすことがわかった。

poly(DIMA-*b*-isoprene)で認められた水中浸漬によるバルクのミクロ相分離構造のラメラ状から海島状への変化はpoly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)では確認されなかった。このことより、ミクロ相分離構造の再構築にはTgに反映するようなミクロな分子運動性にのみ影響されるのではなく、Tgには反映しないマクロなドメインの運動性に大きく左右されることがわかった。

参考文献

- 1) 伊藤光則, 平成3年度修士論文(東京工業大学高分子工学専攻)
- 2) 森 秀晴, 平成5年度博士論文(東京工業大学高分子工学専攻)
- 3) A. Hirao, H. Kato, K. Yamaguchi, S. Nakahama, *Macromolecules*, **19**, 1294 (1986)
- 4) H. Mori, O. Wakisaka, A. Hirao, S. Nakahama, *Macromol. Chem. Phys.*, **195**, 3213 (1994)
- 5) B. D. Ratner, *Surface and Interface analysis*, **23**, 521 (1995)
- 6) S. Nakahama, A. Hirao, D. G. Castner, B. D. Ratner, unpublished observations (1994)
- 7) G. E. Molau, In: *Block Copolyemers*, ed: Aggarwal, Plenum Press, New York (1979), p79
- 8) H. Hasegawa, T. Hashimoto, *Macromolecules*, **18**, 589 (1985)
- 9) 本論文第4章, p93

第6章 HEMA/4-(7'-オクテニル)スチレンブロック共重合体の モルフォロジーと環境変化に応答した表面構造の再構築との関係

6-1 はじめに

第2章ではHEMA/スチレンを、第3章ではHEMA/イソプレンを、そして第5章ではHEMA/4-
-オクチルスチレンを取り上げ、HEMAを親水性成分とした一連の親水性-疎水性ブロック共重合
体の表面構造とその環境変化に対する応答性について述べてきた。その結果、これらの表面は疎
水性成分の化学構造に関わらず、外部環境の変化に応答して再構築することを、疎水性成分のTg
や分子骨格によってその応答性の速度や様子が異なることを明らかにしてきた。しかし、ここま
でに述べてきたブロック共重合体の組成比はいずれも1:1であり、バルクのミクロ相分離構造がラ
メラ状の場合に関してのみの結果である。組成比が異なる場合でも、即ち、ミクロ相分離構造が
海島状の場合でも、ラメラ状ミクロ相分離構造の場合と同様の環境応答性を示すのかどうかは明
らかにされていない。そこで、本章では末端に炭素-炭素二重結合を含むオクテニル基を側鎖に有
するポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]を疎水性成分とした親水性-疎水性ブロック共重合体を用
いて、ミクロ相分離構造のモルフォロジーと環境変化に対する表面構造再構築との関係について
検討した。

はじめに疎水性成分の分子設計であるが、1)四酸化オスミウム(OsO_4)によって短時間での固定
染色が可能であること、2)Tgが低く、短時間での表面構造再構築が期待されること、3)ポリスチ
レン誘導体であることの3点から分子設計を行った。ポリスチレンに対して、Tgを下げるために
アルキル側鎖の導入を、さらに OsO_4 との反応性官能基として炭素-炭素二重結合の導入を行うこ
ととし、4-(7'-オクテニル)スチレンが設計された。ここで、ポリスチレン誘導体を選択した理由
であるが、ポリイソプレンを疎水性成分としたブロック共重合体ではさまざまな環境下での表面

構造がTEM観察から明瞭にとらえられており、環境変化に応答した表面構造の変化が詳細に考察されているにも関わらず[1]、ポリスチレン誘導体を疎水性成分とするブロック共重合体ではあいまいな点が多く未だ課題が残されているからである。例えばpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)では製膜直後及び水中浸漬後については、明瞭な断面TEM像から表面構造に関する知見が得られているが、水和後のフィルムをアニーリングした時の表面状態については接触角測定の結果しか得られておらず、視覚的な表面構造再構築の様子がとらえられていない[2]。また、poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)では水中浸漬後の断面TEM像も不明瞭であり、水和によってどのような表面形状に変化したのかも理解されていない[3]。これらのポリスチレン誘導体を疎水性成分とするブロック共重合体は第8章で述べる血液適合性材料としての期待も大きく、水和後の表面構造や環境変化による表面構造の再構築を十分に理解することは血液適合性という機能発現のメカニズム解明や新規血液適合性材料設計のためにも必要なことである。

以上のような背景の基、本章では組成の異なる3種類のpoly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]を合成し、種々の環境下での表面構造解析を接触角測定、TEM観察、及びXPS測定から行い、環境変化に対する応答性とバルクのミクロ相分離構造との関係について検討した。

6-2 試料と実験

6-2-1 試料

前章までと同様に、ブロック共重合体はアニオンリビング重合から合成した。合成のスキームを図6-1に示す。sec-ブチルリチウムを開始剤とし、THF中、-78℃にて4-(7'-オクテニル)スチレンを重合した。活性末端はモノマー側鎖のビニル基を攻撃することなく重合は進行するため、直鎖状で且つ分子量と分子量分布のコントロールされたポリマーが得られる。重合活性末端を1,

1-ジフェニルエチレンでキャップし、さらにブロック共重合中の副反応を避けるためにリチウムクロライドを添加した後、セカンドモノマーとして水酸基をトリメチルシリル基で保護した HEMA (HEMA-TMS)を加え、共重合した。重合終了後に精製したメタノールを用いてクエンチし、水中に再沈殿することでポリマーを回収した。再沈殿法による精製を繰り返した後、0.1Nの塩酸溶液を加え脱保護を行い、最終的に目的とするブロック共重合体を得た。尚、4-(7'-オクテニル)スチレンホモポリマーのTgはDSC測定の結果、-36℃であることがわかっている。

本実験に用いた組成比の異なる3種類のポリマーの一次構造解析結果を表6-1に示した。以後それぞれのブロック共重合体をバルク中のポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]含量を数字で示し、HO-30, -50, -80と省略することとする。

6-2-2 液滴法による接触角測定

2-2-3と同様の方法で試料の調製、及び接触角測定を行った。但しキャスト溶媒はベンゼン/メタノール混合溶媒を用いた。溶媒の混合比はポリマーによって異なり、HO-30, -50, -80でそれぞれ1/5, 2/1, 及び9/1 (v/v)とした。いずれのポリマーからも無色透明なフィルムが得られた。また、アニーリングは真空中・100℃で行った。

6-2-3 TEM観察

2-2-2と同様の方法でTEM観察用試料を調製し、観察を行った。但し、いずれのポリマーにもキャスト溶媒としてDMFを用いた。すべての製膜直後のフィルムに対して、1)アニーリング後、2)水中浸漬後(浸漬時間：10秒、1分、及び30分)、3)水中浸漬後に真空中・室温下で風乾後(2時間)、4)水中浸漬後に再びアニーリング後、の4環境条件下での観察を行った。また、アニーリングは接触角測定と同様に真空中・100℃で行った。

6-2-4 XPS測定

6-2-2に述べた接触角測定用試料と同一の方法でXPS用試料の調製を行い、3-2-4と同様の方法で、測定を行った。すべてのフィルムに対して、1)製膜直後、2)アニーリング後、3)水中浸漬後(30分)、4)水中浸漬後に空气中・室温下で風乾後(30分)、5)水中浸漬後に再びアニーリング後(アニーリング時間：5, 10, 15, 30, 及び60分)、の5環境条件下で、試料角度傾斜法を用いたXPS測定(angular-dependent XPS, ADXPS)を行った(脱出角度：80, 45, 20, 10度)。survey scanから得られるO1sとC1sのピーク面積比と両元素の相対強度比から元素組成比を求め、さらにモノマー組成比を算出した。

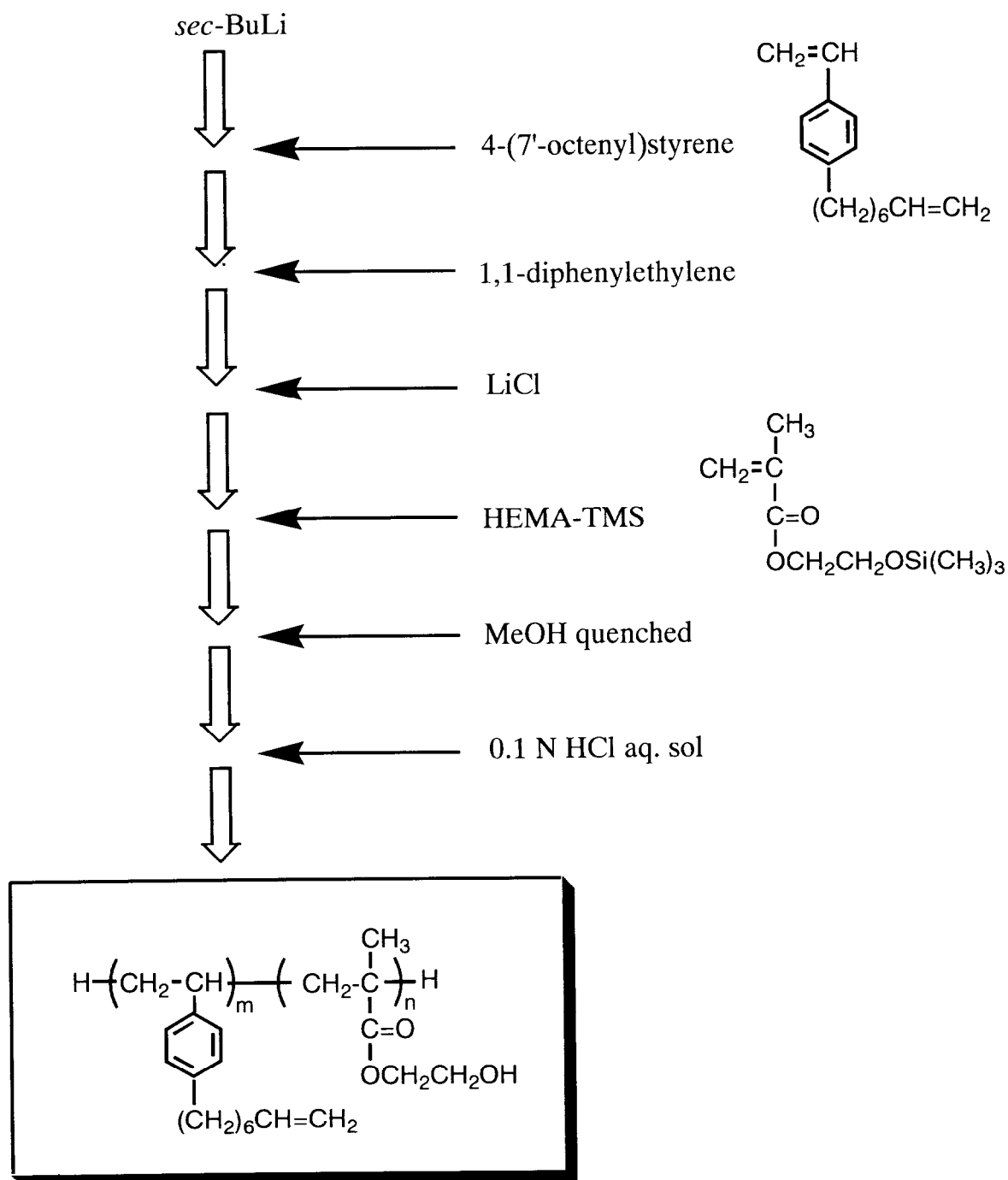


Figure 6-1. Scheme of synthetic method of polyHEMA-*b*-poly[4-(7'-octenyl)styrene] by anionic living polymerization.

Table 6-1. Characterization of Three Poly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]s

sample	molecular weight (<i>Mn</i>)		<i>Mw</i> / <i>Mn</i> ^b	wt% of poly[4-(7'-octenyl)styrene] unit ^c
	polyHEMA block ^a	poly[4-(7'-octenyl)styrene] block ^b		
HO-30	8700	3200	1.11	26
HO-50	6500	6000	1.15	47
HO-80	2300	11800	1.05	82

^a *Mn* was estimated from the compositions and *Mn*'s of the starting polymers.

^b *Mn* and *Mw*/*Mn* were obtained by SEC, using standard polystyrene for calibration.

^c The compositions were determined by ¹H-NMR.

6-3 poly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]の接触角測定による表面構造解析

はじめに製膜直後のHO-30とHO-50フィルム表面の水に対する接触角を測定したところ、水滴がフィルム表面にふれるとすぐに親水性に変化してしまうため、正確な接触角値を測定することが困難であった。そこで、試料を真空中・100℃で30分間アニーリングしたところ、フィルム表面は水滴を滴下しても30秒程度は安定であり、再現性のある接触角値を得ることが可能となった。このような現象はpoly(DIMA-*b*-isoprene)やpoly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)でも確認されているが[4, 5]、疎水性ドメインの運動性が高いために表面構造の再構築が瞬時に起こるのであろうと考えている。尚、poly(DIMA-*b*-isoprene)、poly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)、及びpoly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]の製膜直後のフィルム表面上での水滴の変形の速さを比較すると、poly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]が最も遅いように思われた。これは親水性成分の吸水性の違い、即ち、ポリDIMAはポリHEMAの約2倍の水分を吸収することに起因するものと予想している。

図6-2にさまざまな環境下での水に対する接触角測定の結果を示す。尚、HO-80ではアニーリングすることなく製膜直後の状態で安定した接触角値を得ることが可能であったが、他の試料と条件を統一するためにアニーリングを行ったフィルムに対して実験を行った。HO-30とHO-50は非常に類似した挙動を示した(図6-2a, -2b)。両者共にわずか1分間の水中浸漬によってフィルム表面はポリHEMAホモポリマーと同程度まで親水性に変化し、俊敏な環境応答を示すことがわかった。また、水和したフィルム表面は空气中・室温下で風乾してもわずかに疎水性に変化するだけであったが、真空中・100℃でアニールすると再びもとの疎水性表面にもどることが確認できた。しかし、もとの疎水性表面にもどるには30分以上のアニーリングが必要であり、乾燥状態から水和状態への外部環境の変化のときの応答の速さに比べてアニーリング時の応答は極端に遅

いことがわかった。また、このような環境変化に対する応答は繰り返し起こることも確認できた。これらの様子は今までに述べてきたすべての親水性-疎水性ブロック共重合体で認められた現象である。

一方、HO-80では水中浸漬しても接触角は疎水性のままほとんど変化せず、環境変化に対する応答性を示さなかった。HO-80におけるポリHEMAドメインの組成比は26wt%であり、まわりを完全にポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]ドメインで囲まれていることが予想される。ゆえに水中浸漬してもポリHEMAドメインが水と接触できないため疎水性を維持しているであろう。

以上、接触角測定の結果より、poly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]フィルムもその他の親水性-疎水性ブロック共重合体同様に環境変化に応答した表面構造再構築を示すことが確認できた。ただし、親水性成分量が少ない場合(30wt%以下)はこの限りにあらず、水中浸漬しても疎水性表面を保ったままであり、環境応答性を示さないことも明らかにできた。尚、接触角測定の結果からはHO-30とHO-50の顕著な違いを見いだすことはできなかった。

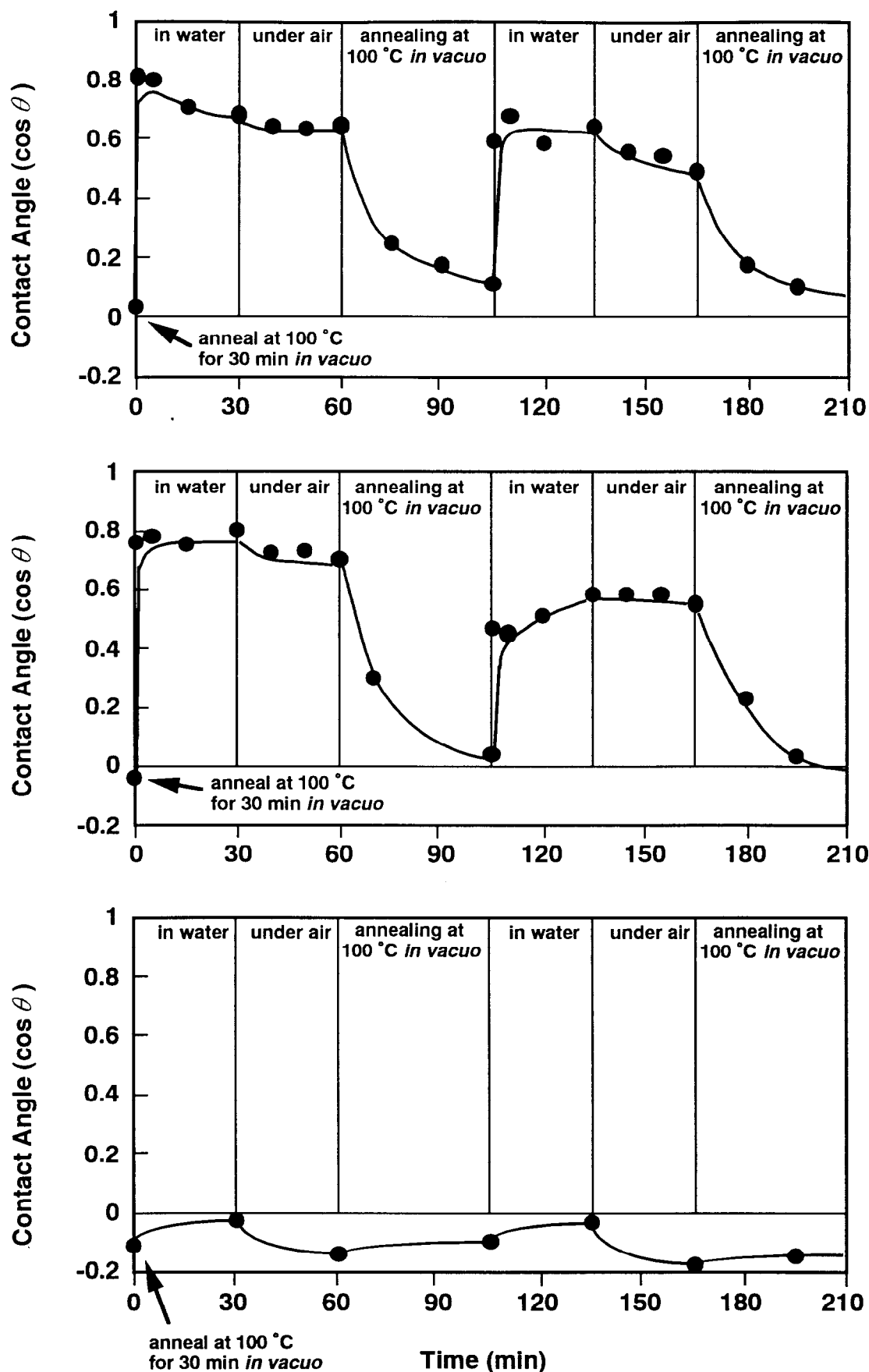


Figure 6-2. Contact angle of a water droplet on a) HO-30 film cast from benzene/methanol (1/5, v/v) solution, b) HO-50 film cast from benzene/methanol (2/1, v/v) solution, and c) HO-80 film cast from benzene/methanol (9/1, v/v) solution as a function of treating period under various conditions.

6-4 poly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]のTEM観察による表面構造解析

6-1章で述べたように、poly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]は環境変化に応答した表面構造の再構築の様子をTEM観察でとらえるために設計されたブロック共重合体である。ポリスチレンやポリ(4-オクチルスチレン)を含むブロック共重合体では十分に理解できなかったさまざまな環境下での表面構造を視覚的にとらえるために、種々の検討を行った。

はじめに染色されるドメインの確認を行った。第3章や第4章でも述べたが、ポリイソプレンのように炭素-炭素二重結合を有するポリマーはOsO₄と素早く反応するため短時間でのミクロ相分離構造の固定・染色が可能である[6]。また、第2章で述べたようにOsO₄は親水性成分であるポリHEMAドメインを染色できることも分かっている[2]。そこで、ポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]ドメインとポリHEMAドメインのどちらが選択的に染色されるかを確認した。図6-3に製膜直後に真空中・100℃で30分間アニーリングを施したHO-30、-50、及び-80フィルムの断面TEM像を示す。写真の上部分が包埋樹脂であり、樹脂とフィルムとの界面が、空気側表面である。ポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]含量の増加に伴い、観察されるミクロ相分離構造はMolau則[7]に従って海島状(図6-3a、未染色ドメインがマトリックス)から、ラメラ状(図6-3b)に、そして再度海島状(図6-3c、未染色ドメインが島成分)と変化することがわかる。これより、poly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]では疎水性成分であるポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]ドメインがOsO₄によって選択的に染色されることがわかった。

バルクのミクロ相分離構造の違いに関わらず、HO-30及びHO-50のフィルム最表面は染色されたポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]層で完全に覆われており、フィルム表面への疎水性成分の濃縮が確認できた。また、HO-80ではポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]マトリックスがフィルム最表面まで連続していることがわかった。これは接触角測定の結果で予想した、ポリHEMAミセルが完全にポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]マトリックスに覆われているため、水中浸漬して

もポリHEMAミセルが水と接触することができないことを視覚的にとらえたものである。以上、組成比の違いに関わらずフィルム最表面にはポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]が濃縮している様子を視覚的にとらえることができた。

次に水中に1分間浸漬したHO-30フィルムから得られた断面TEM像を図6-4に示す。バルクのミクロ相分離構造は海島状を維持したままであるが、乾燥状態でのフィルム最表面に観察されたポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]層は完全に消失しており、染色されていないポリHEMAマトリックスが最表面まで連続している様子がとらえられた。これよりHO-30フィルム表面では水中浸漬によって疎水性表面から親水性表面への再構築が行われたことが確認できた。

このような水中浸漬による表面構造再構築はHO-50でも認められた。図6-5にHO-50フィルムの水中浸漬後の断面TEM像を示す。水中浸漬わずか10秒で、フィルム最表面のポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]層は完全に消失していた(図6-5a)。また水中浸漬30分のフィルムから得られた断面TEM像(図6-5b)との違いはほとんど認められず、非常に短時間に再構築が終了することが示唆された。

ここで、水中浸漬時間が10秒の場合と30分の場合の断面TEM像を詳細に比較すると、両者の表面構造には違いがあることがわかった。水中浸漬10秒後の断面TEM像からは切断されたラメラのエッジ(図6-5a中に*で示した)がさまざまなところで観察され、表面は凸凹している様子であるが、水中浸漬30分後の断面TEM像ではラメラエッジはほとんど観察されず、表面も平坦であった。水中浸漬前のアニーリング後のフィルム表面も平坦であることから、水中浸漬10秒後に観察されたラメラエッジが再構築の過程を示唆しているものと考えた。そして水和過程での表面構造再構築は図6-6の模式図のように進行することを予想した。水中浸漬によって水クラスターはフィルム表面の欠陥から膜内部に浸透し、ポリHEMAドメインを膨潤・可塑化させる。可塑化によって容易に動くことができるようになったポリHEMAドメインは水-ポリマー間の表面自由エネルギーを小さくしようとして、フィルム最表面に隆起し、更に滑りながら膜表面を移動する。このとき

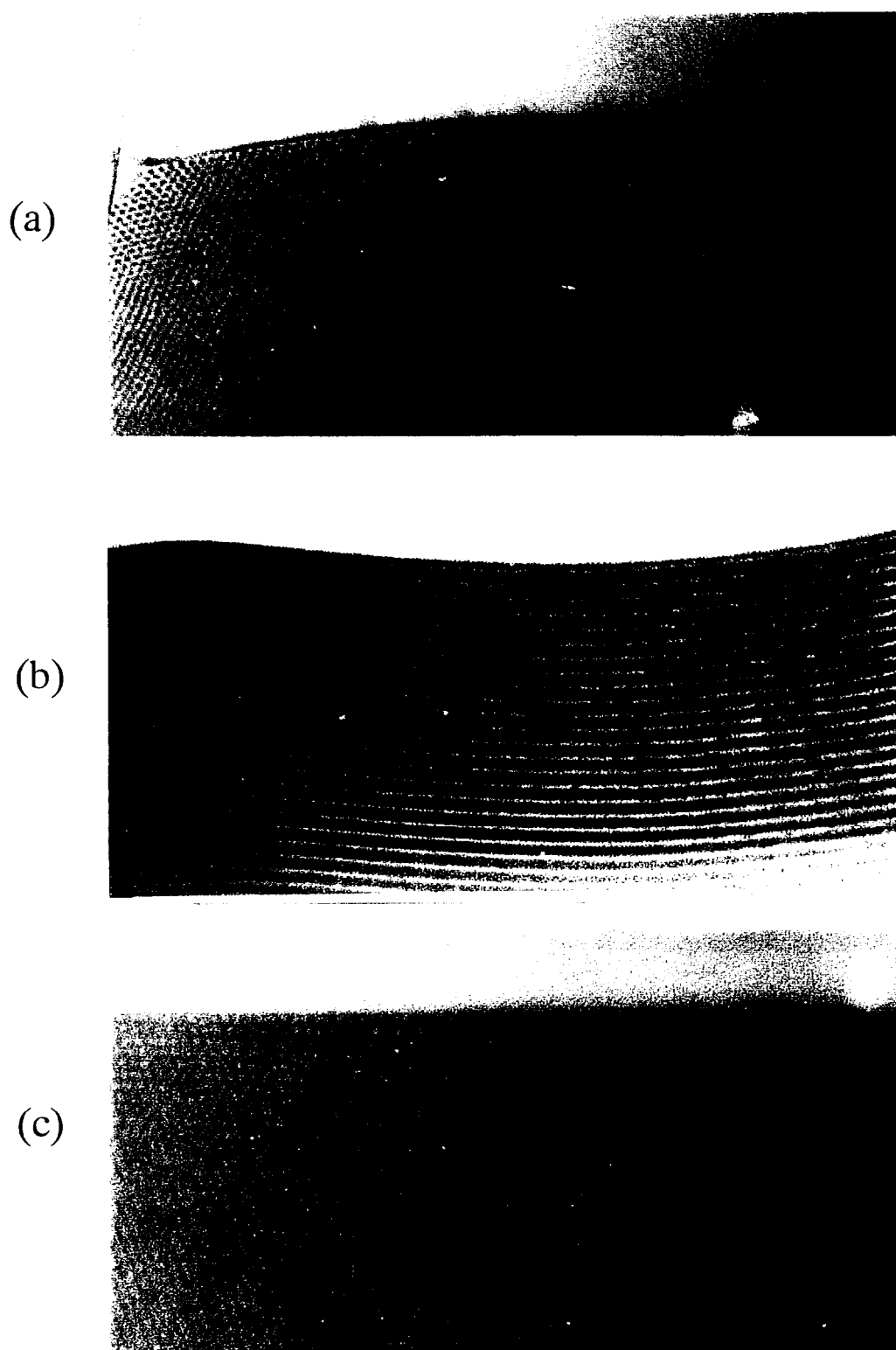
にテラス状の表面形状(図6-5a)となり、ラメラエッジとして観察されるのであろう。そしてさらにテラス状マイクロドメインどおしが合体して、平坦な表面形状(図6-5b)になると考えた。

水和したpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)フィルム最表面は短い突起状のミセルが多数存在することを第2章で示した。また、poly(DIMA-*b*-styrene)では水和後のフィルム最表面には球状ミセルが多数存在しており、両者共に平坦な表面形状ではなかった。一方、poly(HEMA-*b*-isoprene)、poly(DIMA-*b*-isoprene)、及びpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene)の水和後のフィルム最表面は今回観察されたpoly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]と同様に平坦な表面形状であった。このような水中浸漬後の表面形状の違いは疎水性成分の分子運動性に由来すると考えている。Tgが室温よりも十分に低い場合は、親水性・疎水性両成分の分子運動性が高く、ドメインがフィルム最表面を滑るように移動・合体が可能であるために平坦な表面形状になれるのであろう。一方、疎水性成分の運動性が低い場合には、その場限りでの再構築であるために、突起状の表面形状になるのではないかと考えている。

水中浸漬後に空气中・室温下で2時間風乾を行ったHO-30フィルムから得られた断面TEM像を図6-7aに示す。水中浸漬後の様子と顕著な違いは認められず、フィルム最表面はポリHEMAマトリックスで覆われたままであった。しかし、水中浸漬後に真空中・100℃で30分間アニーリングを行うと図6-7bに示したようにフィルム最表面には再びポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]層が現れることがわかった。また、このような水和状態から乾燥状態への表面構造再構築はHO-50でも観察することが可能であった(図6-8)。一方、HO-80では接触角測定結果と同様、いずれの環境下においてもフィルム最表面までマトリックス成分であるポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]ドメインが連続している様子が観察されるのみであり、膜表面は環境変化に応答しないことがわかった。

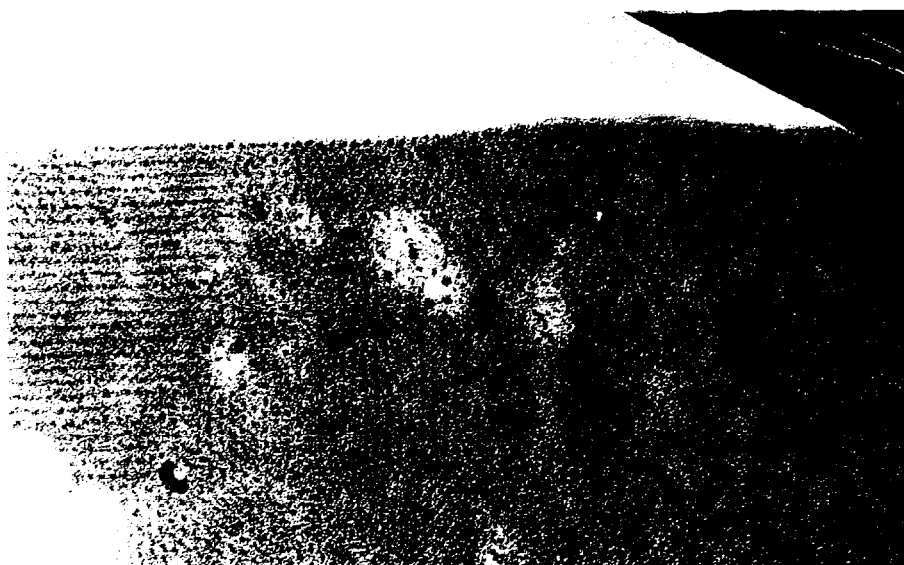
以上、TEM観察からも接触角測定と同様にHO-30とHO-50では環境変化に応答した表面構造の再構築を示すことが、HO-80は再構築を示さないことが視覚的に確認できた。また、乾燥状態から水和状態への再構築は瞬時に起こること(～10秒)、その逆の環境変化に対する応答には長時間を要する(30分以上)ことも明らかにできた。この再構築の応答速度の違いはポリHEMAドメインの水に対する親和性によるものと考えている。ポリHEMAドメインは水を素早く吸収するため乾燥状態から水和状態への再構築は短時間で起こる。しかし、一旦吸収された水は分子間やHEMA中の水酸基との水素結合によって容易に離脱できないため、水和状態から乾燥状態への再構築には長時間のアニーリングが必要なのであろう。

ポリスチレン誘導体を疎水性成分としたブロック共重合体での水和状態から乾燥状態への再構築の様子は今まで接触角測定でしか確認されていなかったが、poly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]を用いることではじめてTEM観察でもとらえることができた。これは側鎖末端への炭素-炭素二重結合の導入によって瞬時の構造固定が可能であったためと考えている。



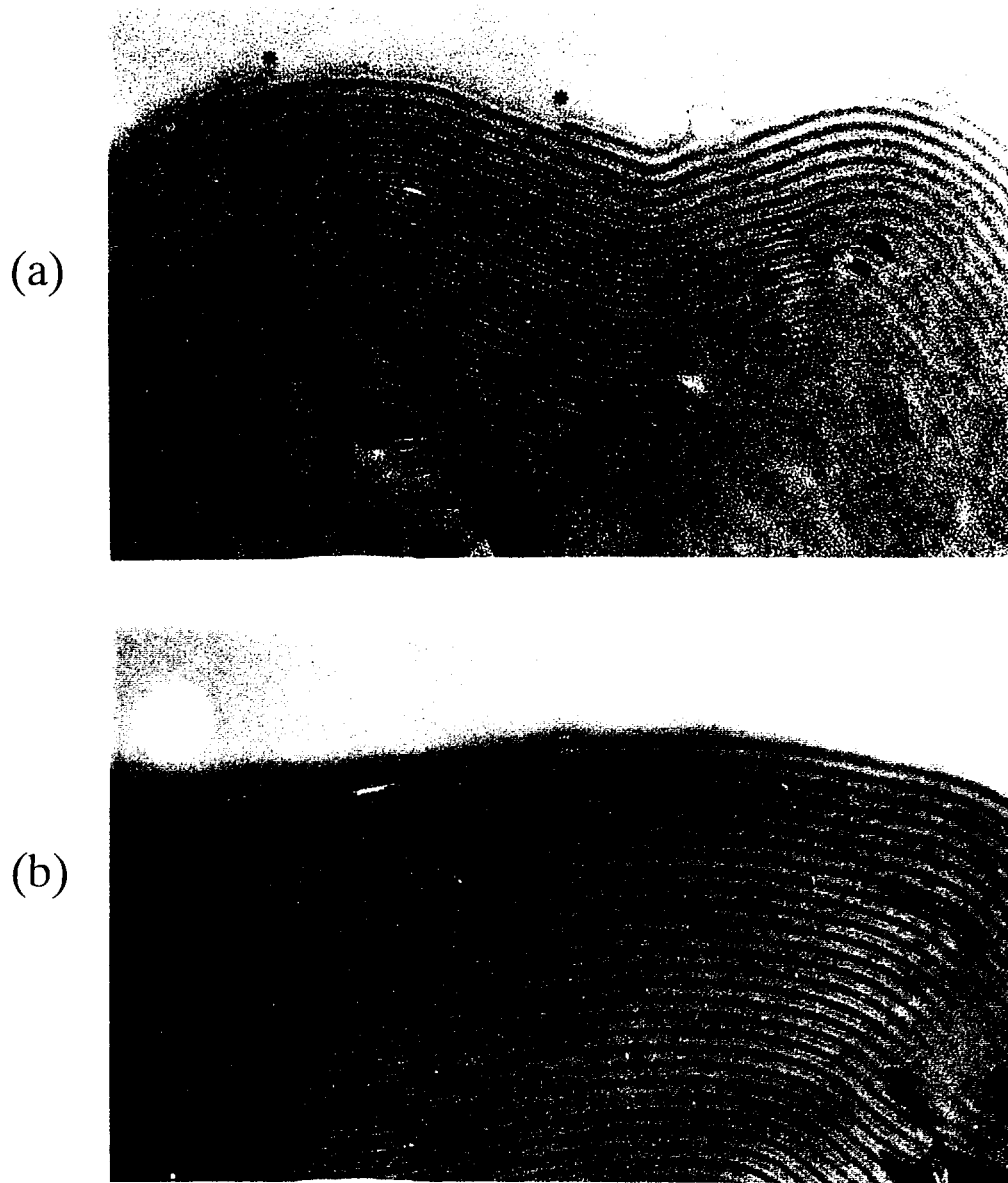
100 nm

Figure 6-3. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of (a) HO-30, (b) HO-50, and (c) HO-80 films cast from DMF solution. The as-cast films were annealed at 100 °C for 30 min *in vacuo*, and then stained with OsO₄ vapor. Black area stained with OsO₄ is poly[4-(7'-octenyl)styrene] microdomain, and white area corresponds to polyHEMA microdomain.



100 nm

Figure 6-4. Transmission electron micrograph (cross sectional view) of the ultrathin section of HO-30 film after hydration for 1 min. The sample was soaked in water for 1 min and then stained with aqueous OsO_4 solution.



100 nm

Figure 6-5. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of HO-50 film after hydration (a) for 10 sec, and (b) for 30 min.

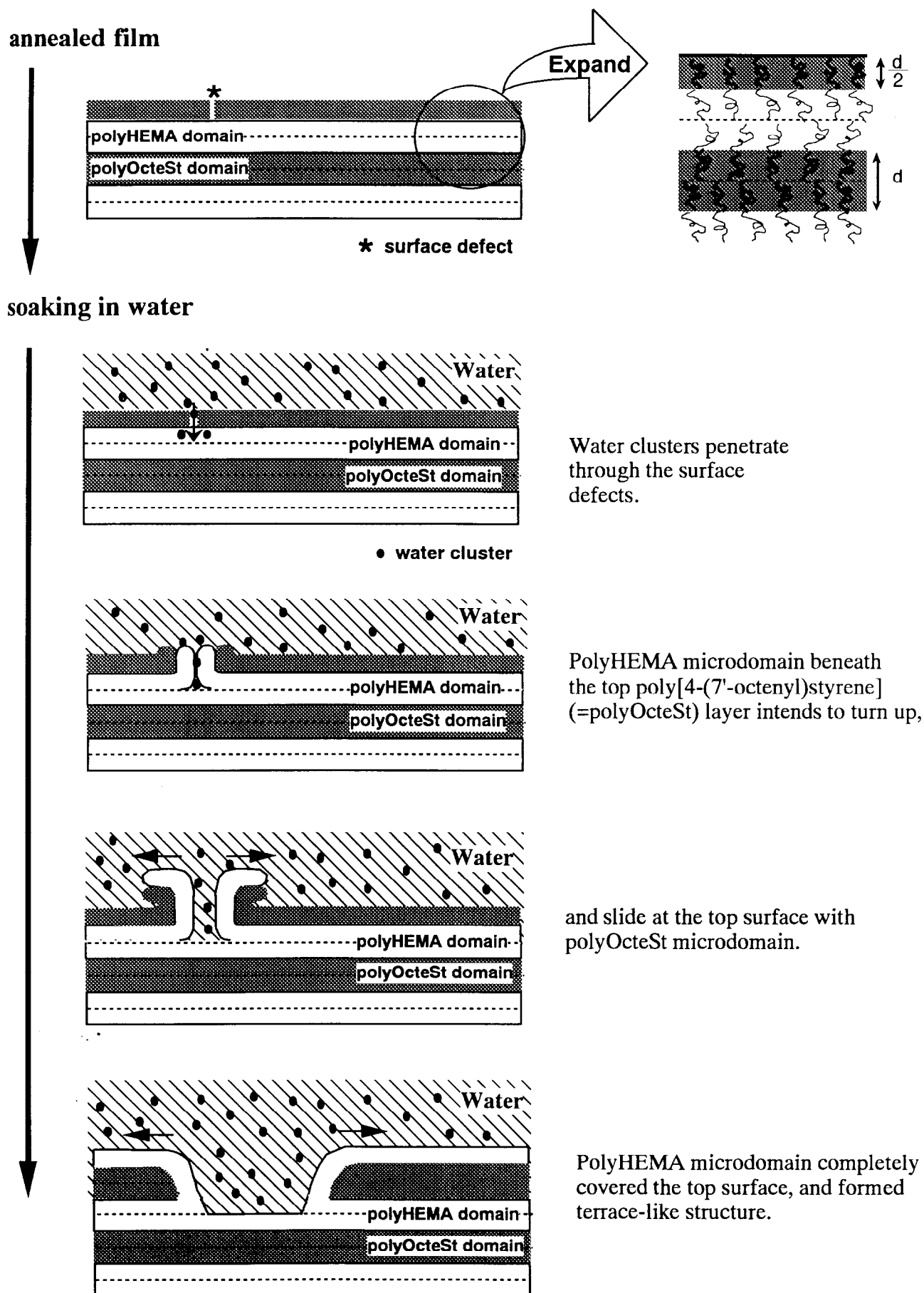


Figure 6-6. A schematic representation of the surface restructuring in hydration process.

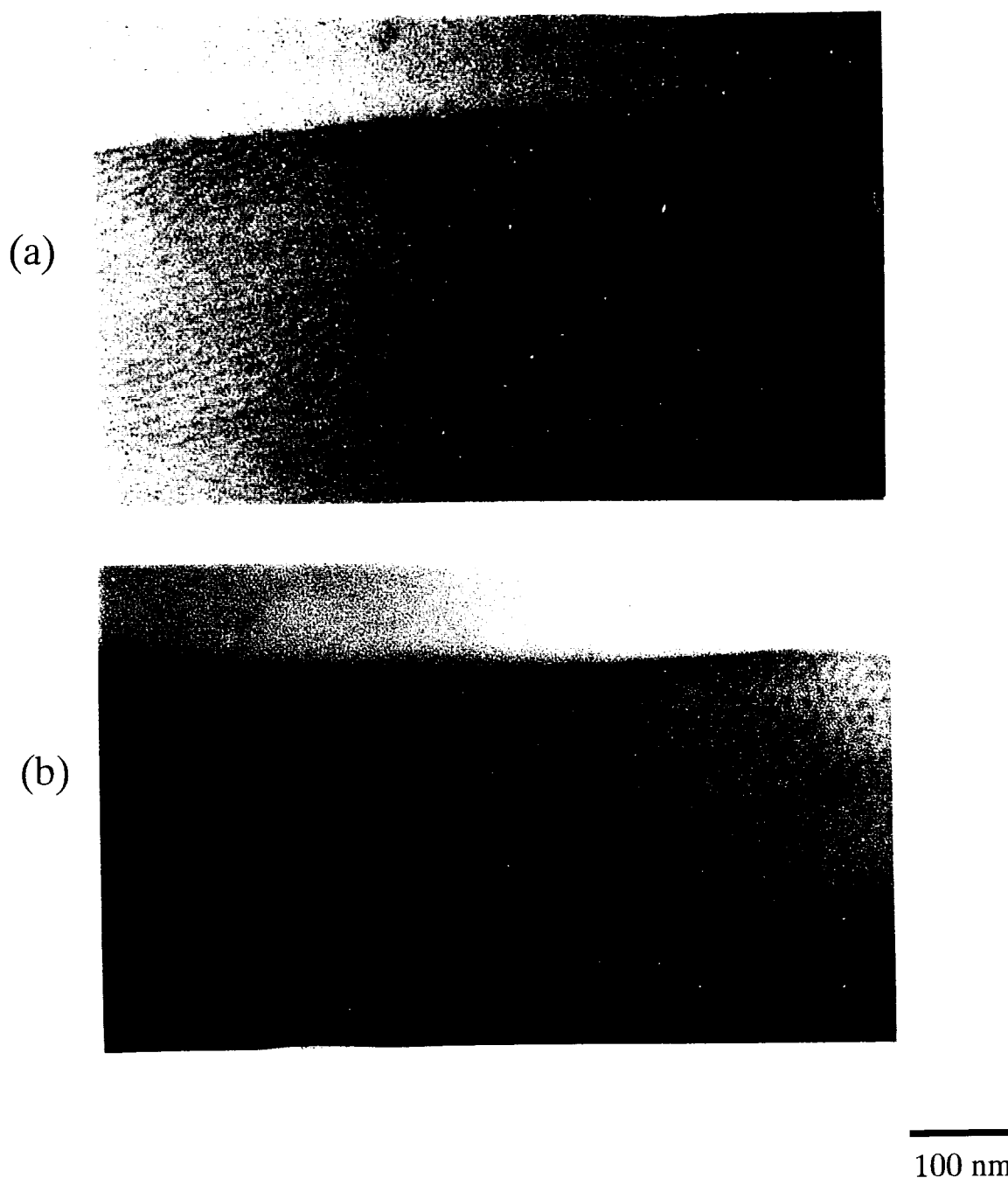


Figure 6-7. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of (a) air-dried, and (b) annealed HO-30 film . The sample preparation was carried out consecutively as follows; After the as-cast film was annealed at 100 °C for 30 min *in vacuo*, it was soaked in water for 30 min. And then the air-drying treatment was carried out for 2 h at room temperature (a), or annealed again at 100 °C for 30 min *in vacuo* (b).

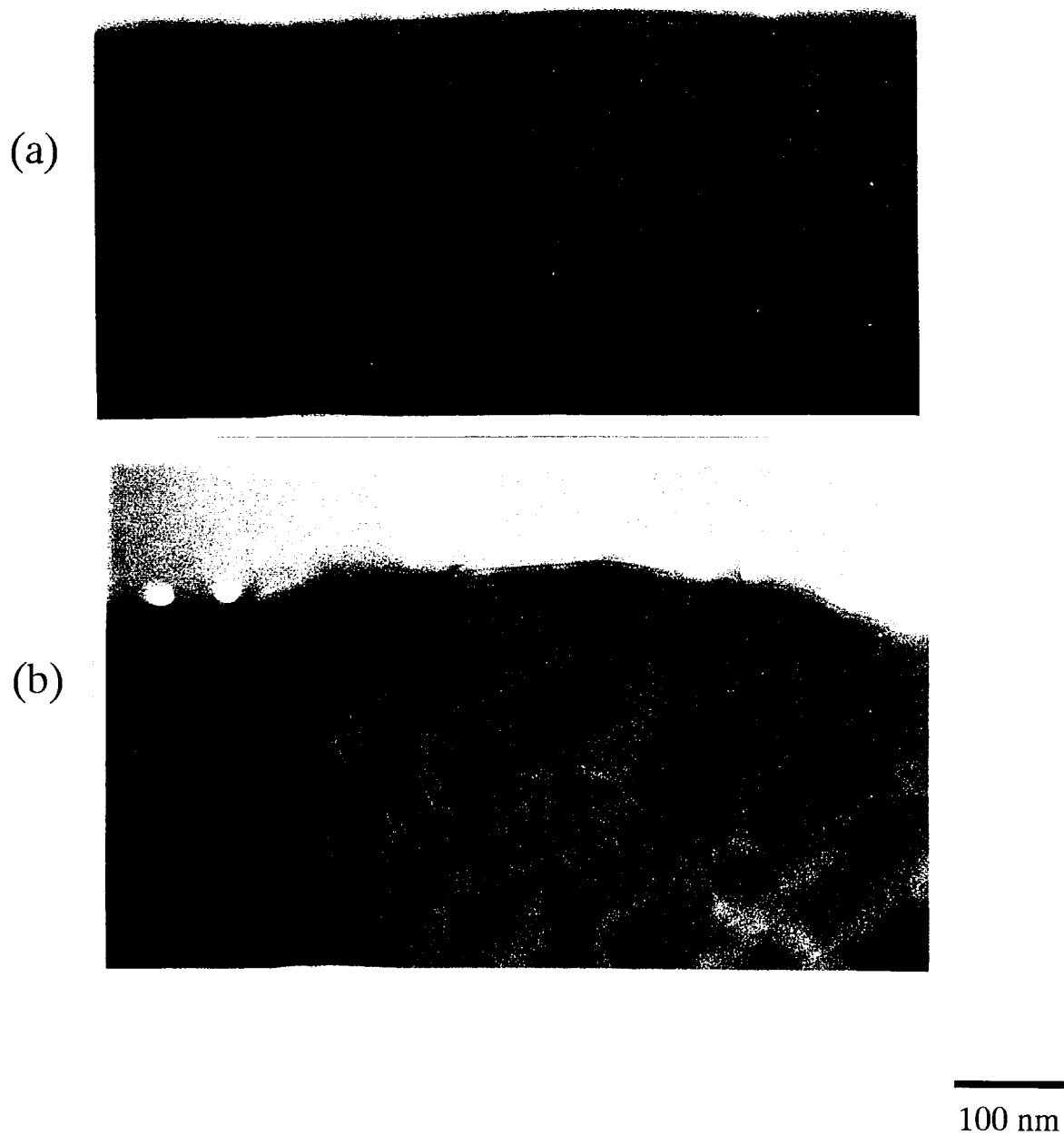


Figure 6-8. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of the ultrathin sections of (a) air-dried, and (b) annealed HO-50 film. The sample preparation was carried out the same method with HO-30 film in Figure 6-7.

6-5 poly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]のXPS測定による表面構造解析

接触角測定及びTEM観察からHO-30及びHO-50は環境変化に応答した表面構造の再構築が起ることを明らかにしてきた。しかし、これらの結果は定量的でない。そこで、ADXPS測定を用いた定量的解析を試みた。

すべてのsurvey scan測定においてO1sとC1sのみが検出され、試料表面は汚染されていないことが確認できた。そこで、survey scanでのO1sとC1sのピーク面積と各元素の相対強度から酸素と炭素の元素組成比を求め、さらに各モノマー単位での組成比を算出した。それぞれのフィルムのADXPS測定から得られた深さ方向分析の結果を図6-9に示す。横軸は脱出角度 θ の $\sin \theta$ であり、値が小さいほどより最表面の情報を示している。また、縦軸はポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]含量(モノマーユニット%)であり、値が大きいほど疎水性成分が多く存在することを示している。

はじめに製膜直後のHO-30, HO-50, 及びHO-80であるが、いずれのフィルムにおいてもグラフは左上がりであり、最表面にポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]成分が濃縮していることが示唆された。しかし、その度合いは顕著ではなく、特にHO-30とHO-50では最表面約15 Åの深さにそれぞれ73及び26ユニット%のポリHEMAセグメントが存在することがわかった(図6-9a)。これはHO-30とHO-50の製膜直後のフィルム最表面は相分離が十分に平衡でない状態にあることを示唆するものである。このことは接触角測定で述べた製膜直後のHO-30及びHO-50フィルム最表面は水滴とふれるとすぐに親水性に変化することと対応しており、製膜直後のフィルムでは接触角が測定できないほど短時間に接触角が変化したのは両成分が混合して存在していたからであろう。そこで製膜直後のフィルムを真空中・100℃で30分間アニーリングすると、フィルム最表面にはポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]成分が顕著に濃縮することがわかった(図6-9b)。アニーリングによって相分離が明瞭になり、最表面への疎水性成分濃縮が促進されたのであろう。一方、

HO-80ではアニーリングの有無にかかわらず同様のデプスプロファイルを示しており、製膜直後の状態ですでに平衡な状態にあったものと判断している。

アニーリング後のフィルムを30分間水中浸漬すると、HO-30とHO-50の表面はほぼ完全にポリHEMA成分と入れ替わることがわかった(図6-9c)。特にHO-30における最表面の15 ÅまではポリHEMA成分の存在比が100%であった。一方、HO-80では接触角測定やTEM観察の結果と同様にポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]成分が濃縮したままであり、環境変化に応答した表面構造再構築が起こらないことがXPS測定からも確認できた。また、水中浸漬後のHO-30及びHO-50を空气中・室温で30分間風乾してもフィルム表面にはポリHEMA成分が濃縮したままであるが(図6-9d)、再度真空中・100℃でアニーリングすることで、再びポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]成分が、製膜直後にアニーリングした場合に比べるとやや濃縮の程度は低い、フィルム最表面に現れ水和状態から乾燥状態への環境変化に対しても再構築が起こることを確認できた(図6-9e)。

ここで、図6-9eに示された、水和後のフィルムからのアニーリングによる再構築において、バルク中の疎水性含量の少ないHO-30のほうが、HO-50に比べて膜表面への疎水性成分の濃縮度が高いことに注目した。そこで、アニーリング時間が5, 10, 15, 30, 60分の場合でのそれぞれの表面への疎水性成分濃縮度をXPS測定から求めた。分析深さが約15 Å(脱出角度=10度)での各種条件下での濃縮度を図6-10に示す。これより、HO-30ではHO-50よりも短時間でアニーリングによる再構築が起こることがわかった。尚、接触角測定の結果を詳しく検討すると、そこでも同様の現象が認められていた。水中浸漬後のフィルムを10分間アニーリングした時の接触角値はHO-50よりもHO-30のほうが疎水性を示しており(図6-2)、XPS測定の結果と一致する。このように両結果が十分に一致していることから、HO-30はHO-50よりもアニーリングによる水和状態から乾燥状態への表面構造再構築は短時間で起こると結論づけた。この理由として、直接的な証拠はないが、再構築の過程がHO-30とHO-50では異なるためと考えている。HO-50の表面で

は図6-6に示したようにドメインの隆起と滑りながらの移動・連結を経て再構築がなされると思われる。一方、HO-30では最表面のポリHEMAマトリックスの直下には多数のミセル状ポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]ドメインが存在し、このそれぞれのミセルが最表面に隆起し合体するだけで再構築が可能であり、滑りながらの移動を必要としない。よって、HO-50よりも短時間で再構築を完了できるのであろう。

以上、ADXPS測定からも接触角測定やTEM観察の結果と同様にHO-30及びHO-50では環境変化に応答した表面構造再構築を示すことを、HO-80フィルム表面は常にポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]で覆われており、再構築を起こさないことを確認できた。また、アニーリングによる水和状態から乾燥状態への再構築ではポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]含量の少ないHO-30のほうがHO-50よりも短時間で再構築を完了できることを明らかにできた。

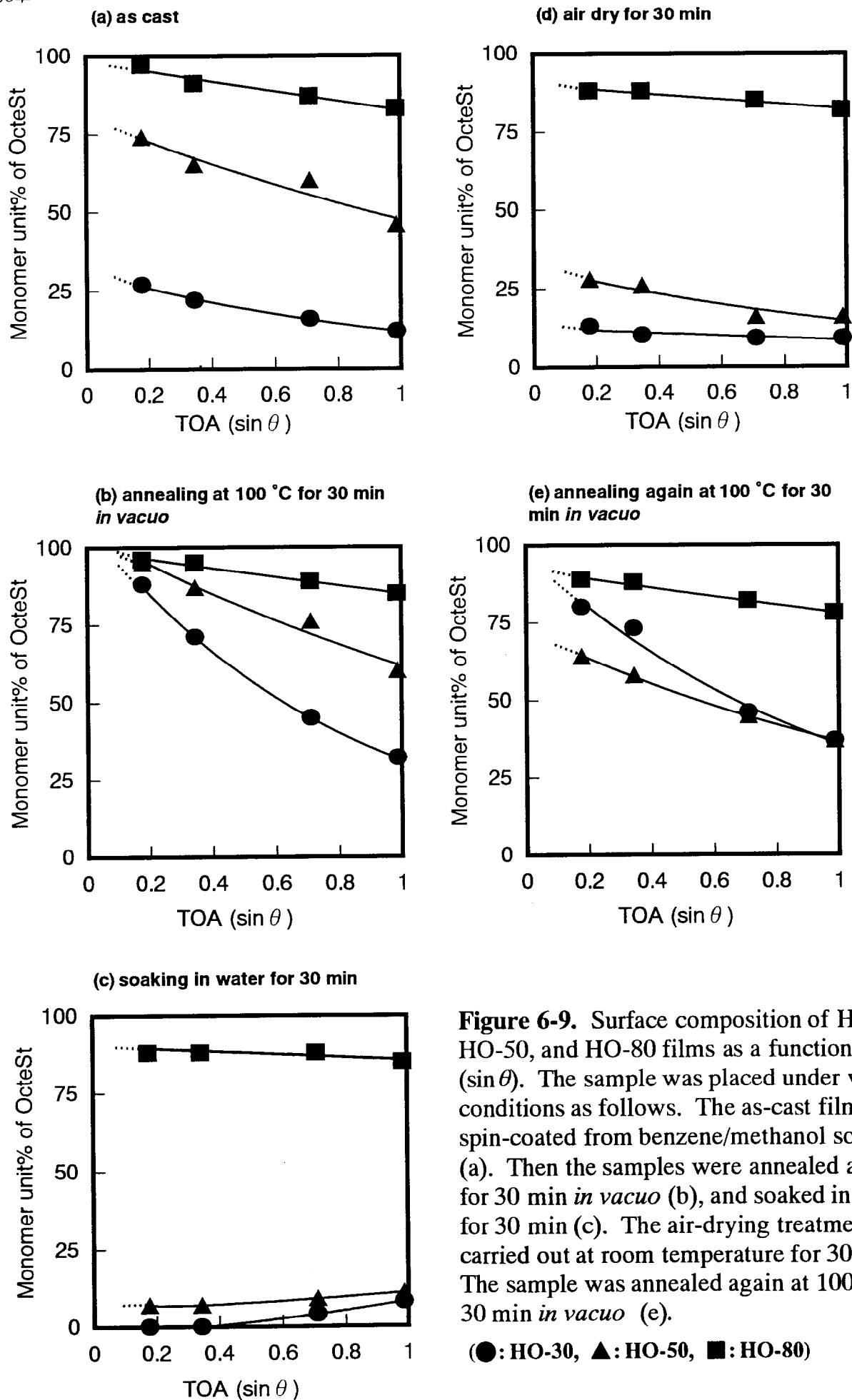


Figure 6-9. Surface composition of HO-30, HO-50, and HO-80 films as a function of TOA ($\sin \theta$). The sample was placed under various conditions as follows. The as-cast films were spin-coated from benzene/methanol solution (a). Then the samples were annealed at 100 °C for 30 min *in vacuo* (b), and soaked in water for 30 min (c). The air-drying treatment was carried out at room temperature for 30 min (d). The sample was annealed again at 100 °C for 30 min *in vacuo* (e).

(●: HO-30, ▲: HO-50, ■: HO-80)

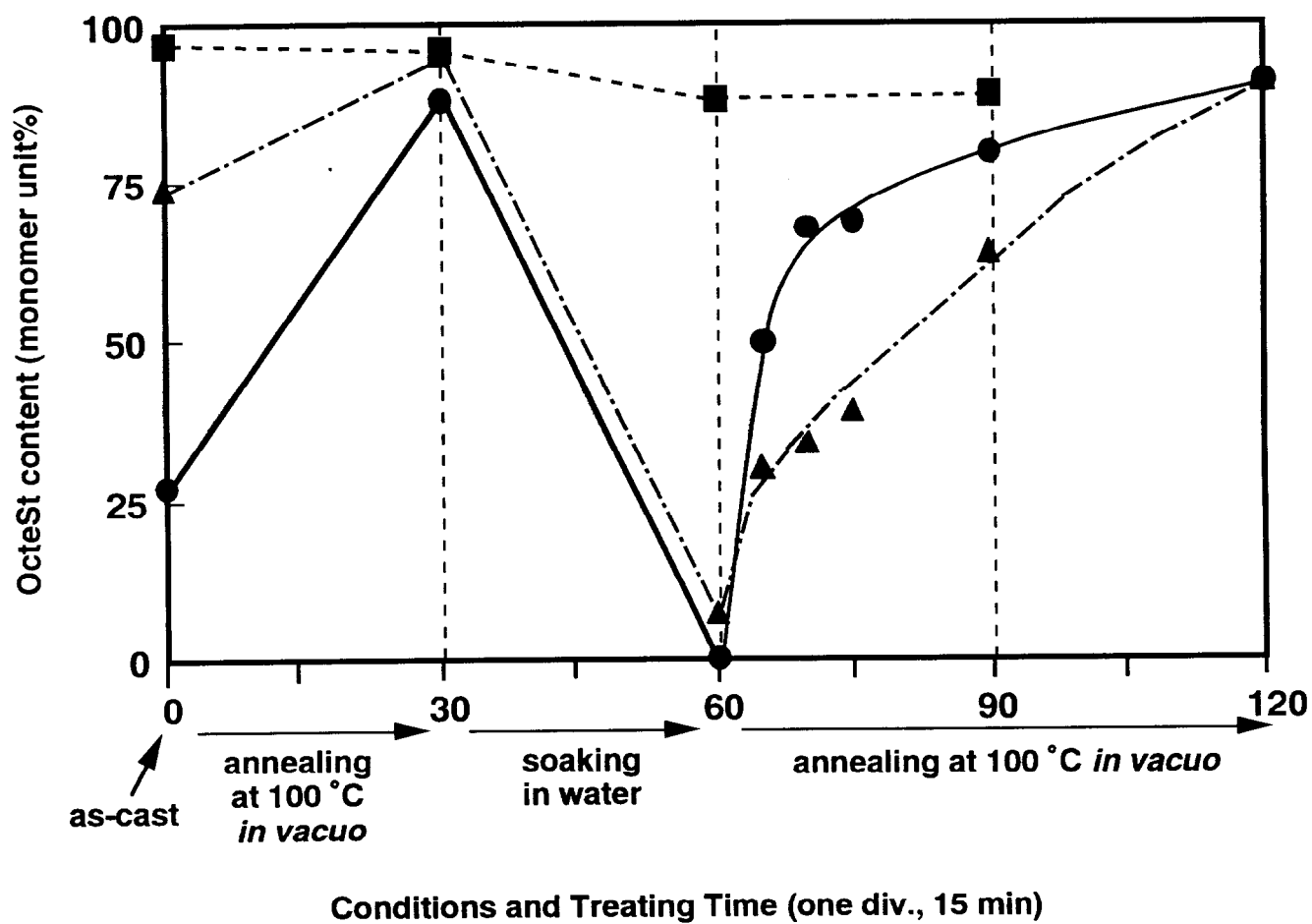


Figure 6-10. Surface composition of HO-30, HO-50, and HO-80 films determined by XPS at 10° TOA under various conditions.

(—●—: HO-30, ---▲---: HO-50, ----■----: HO-80)

6-6 結論

本章では組成比の異なる3種類のpoly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]の表面構造解析を接触角測定、TEM観察、及びXPS測定から行った。その結果、バルク中のミクロ相分離構造がラメラ状、もしくはポリHEMA成分がマトリックスの海島構造の場合には、環境変化に応答した表面構造再構築を示すことが確認できた。また、乾燥状態から水和状態への環境変化の時の応答は非常に俊敏であるが(～10秒)、その逆の環境変化の場合は長時間のアニーリング(30分以上)を必要とすることが明らかとなった。さらにポリHEMA成分がマトリックスの海島構造を有するフィルムはラメラ状相分離構造を有するフィルムよりも短時間で再構築を完了できることも確認できた。一方、疎水性成分であるポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]がマトリックスのミクロ相分離構造を有するフィルムの最表面は常にポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]で覆われており、環境変化に応答した構造再構築を示さないことが確認できた。

以上のように、バルクのミクロ相分離構造のモルフォロジーと環境変化に応答した表面構造の再構築との関係を明らかにすることができた。また、これらの結果はすべての分析手法から矛盾なく得ることができた。このようにすべての手法から再構築の様子をとらえることができたのは、このpoly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]がはじめてであり、6-1章で述べた疎水性成分の分子設計が適切であったことを示唆するものである。

参考文献

- 1) 本論文第3章, p68
- 2) 本論文第2章, p33
- 3) 本論文第5章, p110
- 4) H. Mori, A. Hirao, S. Nakahama, K. Senshu, *Macromolecules*, **27**, 4093 (1994)
- 5) 森 秀晴, 平成5年学位論文(東京工業大学高分子工学専攻)
- 6) K. Kato, *Polymer*, **9**, 419 (1968)
- 7) G. E. Molau, In: *Block Copolyemers*, ed: Aggarwal, Plenum Press, New York (1979), p79

第7章 種々の親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造の比較

7-1 はじめに

第2章から第6章にかけてさまざまな種類の親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造とその環境変化に対する応答性について述べてきた。本章ではそれらの一連のまとめとして各成分が表面構造や表面構造再構築にどのような影響を及ぼすかについて検討した。また、本論文では扱っていないが、すでに森らによって報告されているpoly(DIMA-*b*-styrene)の表面構造解析結果[1]についてもデータを引用して、その他のブロック共重合体との比較を行うこととした。親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造やその環境変化に応答した再構築には各成分の化学構造のみでなく、分子量、組成比、ブロックシーケンスなども大きな影響を与えることが予想される。そこでここではこれらの条件をほぼ統一した系(分子量:約15000、成分組成比:約50wt%、ブロックシーケンス:AB型ジブロック)で比較を行い、化学構造がどのような影響を及ぼすかについて注目した。

本章で比較検討を行った一連の親水性-疎水性ブロック共重合体の一覧と分析方法を表7-1に、解析結果の簡単なまとめを表7-2に、それぞれの成分の特徴を表7-3に示す。まず親水性成分であるが、ポリHEMA成分とポリDIMA成分の水に対する溶解性や吸湿性の違いが表面構造再構築に与える影響について検討した。

次に疎水性成分であるが、ポリスチレンのように室温でガラス状態にあるポリマーと、側鎖にアルキル基を有するポリスチレン誘導体やポリイソプレンのように室温でゴム状態にあるポリマーでは表面構造再構築にどのような違いがあるかに注目した。また、ポリスチレンもしくはポリスチレン誘導体のように分子骨格が比較的大きい場合とポリイソプレンのように比較的小さい場合の表面構造再構築への影響についても検討した。以後、それぞれを各節にて詳細に述べる。

Table 7-1. List of A Series of Hydrophilic-Hydrophobic Block Copolymers Used in This Study and Surface Characterization Method

		Hydrophilic Segment	
		$\left(\text{CH}_2 - \underset{\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}} \right)_n$	$\left(\text{CH}_2 - \underset{\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2\underset{\text{OH}}{\text{CH}}\text{CH}_2\text{OH}}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}} \right)_n$
		polyHEMA	polyDIMA
Hydrophobic Segment	$\left(\text{CH}_2 - \underset{\text{C}_6\text{H}_5}{\text{CH}} \right)_n$ polystyrene	# C. A. # XPS (Ratner <i>et al.</i>) ^a # static-SIMS (Ratner <i>et al.</i>) ^a # TEM	# C. A. (Mori <i>et al.</i>) ^b # XPS (Mori <i>et al.</i>) ^b # TEM (Mori <i>et al.</i>) ^b
	$\left(\underset{\text{C}-\text{CH}_3}{\underset{\text{CH}_2}{\text{CH}}} - \text{CH}_2 \right)_n$ polyisoprene	# C. A. # XPS # TEM	# C. A. (Mori <i>et al.</i>) ^b # XPS (Mori <i>et al.</i>) ^b # TEM
	$\left(\text{CH}_2 - \underset{\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3}{\text{CH}} \right)_n$ poly(4-octylstyrene)	# C. A. (Ito <i>et al.</i>) ^c # Freeze-dry XPS (Ratner <i>et al.</i>) ^d # TEM	# C. A. (Mori <i>et al.</i>) ^b # XPS (Mori <i>et al.</i>) ^b # TEM
	$\left(\text{CH}_2 - \underset{\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_2)_6\text{CH}=\text{CH}_2}{\text{CH}} \right)_n$ poly[4-(7'-octenyl)styrene]	# C. A. # XPS # TEM	————— ^e

^a see Ref. 2, ^b see Ref. 1, ^c see Ref. 3, ^d see Ref. 4. ^e Not synthesized.

Table 7-2. The Essential of Surface Characterization of a Series of Hydrophilic-Hydrophobic Block Copolymers

Surface Enrichment of Hydrophobic Segment in As-Cast Films ^a		Response Speed of Surface Restructuring from Dry to Wet conditions ^b	
	HEMA	DIMA	
styrene	complete	almost	styrene
isoprene	complete	complete	isoprene
4-octylstyrene	almost	almost	4-octylstyrene
4-(7'-octenyl) styrene	almost	—	4-(7'-octenyl) styrene
			HEMA
			DIMA
			very quick
			very quick
			very quick
			—
Morphological Change by Soaking in Water ^c		Restructuring of Wet Surface by Annealing	
	HEMA	DIMA	
styrene	surface	surface	styrene
isoprene	surface	surface and bulk	isoprene
4-octylstyrene	surface	surface	4-octylstyrene
4-(7'-octenyl) styrene	surface	—	4-(7'-octenyl) styrene
			HEMA
			DIMA
			complete ^b
			ambiguous ^c
			complete ^d
			ambiguous ^e
			complete ^b
			ambiguous ^c
			complete ^a
			—

^a From the results of contact angle and XPS measurement, and TEM observation. ^b From the result of contact angle measurement.

^c From the result of TEM observation. ^d From the results of contact angle measurement and TEM observation.

^e The results of TEM observation and contact angle measurement are not consistent.

Table 7-3. Characteristics of Each Segment

Segment	Characteristics
Hydrophilic Segment	polyHEMA
	# Tg=67 °C ^a # Water swellable
	polyDIMA
	# Tg=69 °C ^a # Water soluble # High hygroscopicity
Hydrophobic Segment	polystyrene
	# Tg=95 °C ^a # Containing aromatic ring
	polyisoprene
	# Tg=-69 °C ^a # Compact chemical structure # Containing C=C double bond
	poly(4-octylstyrene)
	# Tg=-42 °C ^a # Containing aromatic ring
	poly[4-(7'-octenyl)styrene]
	# Tg=-36 °C ^a # Containing aromatic ring # Containing C=C double bond

^a Determined by DSC.

7-2 親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造に対する

親水性成分の化学構造の影響

表7-2に示したように、ポリHEMAとポリDIMAの最も大きな違いは溶解性と吸湿性である。モノマーユニット中に1個の水酸基を有するポリHEMAは水に対して膨潤するのみで溶解することはない。一方、2個の水酸基を有するポリDIMAは水に容易に溶解する。また、ポリDIMAはポリHEMAの約2倍の水分を吸収することが可能である。それぞれのTgは67℃、69℃とほぼ等しいことから、ポリHEMAとポリDIMAの違いは水に対する親和性のみと言ってよいであろう。

はじめに製膜直後のフィルム最表面について検討した。7種類すべてのブロック共重合体において製膜直後の膜最表面には疎水性成分の層によって覆われていることがTEM観察から明らかにされている。またXPSによる定性分析の結果からも疎水性成分の表面濃縮が確認されており、各成分の化学構造が製膜過程や表面構造形成に影響を及ぼすことはないと考えた。しかし、XPSにおける定性分析の結果では表7-4に示したように、すべてのブロック共重合体で完全な疎水性成分の表面濃縮が認められているわけではない。このようにTEM観察とXPS測定の結果が異なる理由としては、XPSの定量分析に対してTEM観察は定性的な解析であるためと判断している。また、製膜直後の膜表面への疎水性成分の濃縮度が各成分の化学構造によって異なる理由としては、溶媒に対する溶解性が親水性成分と疎水性成分でわずかに異なることに由来するのではと考えている。親水性成分であるポリHEMAやポリDIMAは疎水性成分に比べてキャスト溶媒であるDMFへの親和性が高いため、製膜中の溶媒蒸発時に親水性成分の極一部がフィルム最表面に引き上げられて疎水性ドメインに混入し、相分離構造に欠陥が形成されるためではないかと予想している。尚、ポリイソプレンを疎水性成分とするブロック共重合体では親水性成分がポリHEMA、ポリDIMA共にほぼ完全な表面濃縮が認められているが、これは製膜溶媒に両成分に対して良溶媒となるように混合溶媒(THF/MeOH)を用いているためであろう。

次に環境変化に応答した表面構造再構築について比較検討した。接触角測定の結果を比較すると、すべての親水性-疎水性ブロック共重合体において水中浸漬後の膜最表面は親水性成分で覆われていることが確認できている。しかし、その平衡に達するまでに要する時間はポリマー種によって異なることがわかった。例えばpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)では疎水性表面が水中浸漬によって親水性表面に変化し、ほぼ平衡に達するまでに約30分を要するが、poly(DIMA-*b*-styrene)では約10分で平衡に達している。また、poly(DIMA-*b*-isoprene)やpoly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)では製膜直後のフィルム最表面では接触角測定が不可能なほど親水性表面への再構築が早いことが確認できている。これらのことから、ポリDIMA成分を含むブロック共重合体ではポリHEMA成分を含むブロック共重合体に比べて乾燥状態から水和状態への応答が早いことがわかった。このような違いはポリHEMAに比べてポリDIMAの吸水速度が速いために起こる現象であろうと考えている。

しかし、ポリHEMAを含むブロック共重合体でも非常に俊敏な応答を示すものもある。poly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]の水中浸漬による表面構造再構築は1分で完了しており、ポリDIMAを含むブロック共重合体と大差ない。この理由については十分にわかっていないが、膜最表面に存在する欠陥の数や状態の違いによるものではないかと想像している。

アニーリングによる水和状態から乾燥状態への環境変化に対しても、ポリDIMAを含む共重合体では完全にもとの疎水性状態には戻らないことが接触角測定から示されており、水和状態から乾燥状態への再構築は遅いことが示唆された。ポリDIMAはポリHEMAに比べて水を吸収する速度が早いことから、脱水の速度は遅いことが予想される。よって、ポリDIMAを含むブロック共重合体は水和状態から乾燥状態への再構築に長時間を要するであろう。一方、ポリHEMAを含むブロック共重合体では水和後のフィルムをアニーリングすると、製膜直後と同程度の疎水性表面に戻ることが、接触角測定・TEM観察・XPS測定から矛盾なく確認できている。以上のことから、

水和状態から乾燥状態への変化に応答した表面構造再構築にも親水性成分の化学構造が大きく影響しており、ポリHEMAを含むブロック共重合体ではアニーリングによってほぼ完全に再構築できるが、ポリDIMAを含むブロック共重合体では極最表層にはポリDIMAセグメントが残存していると考えている。

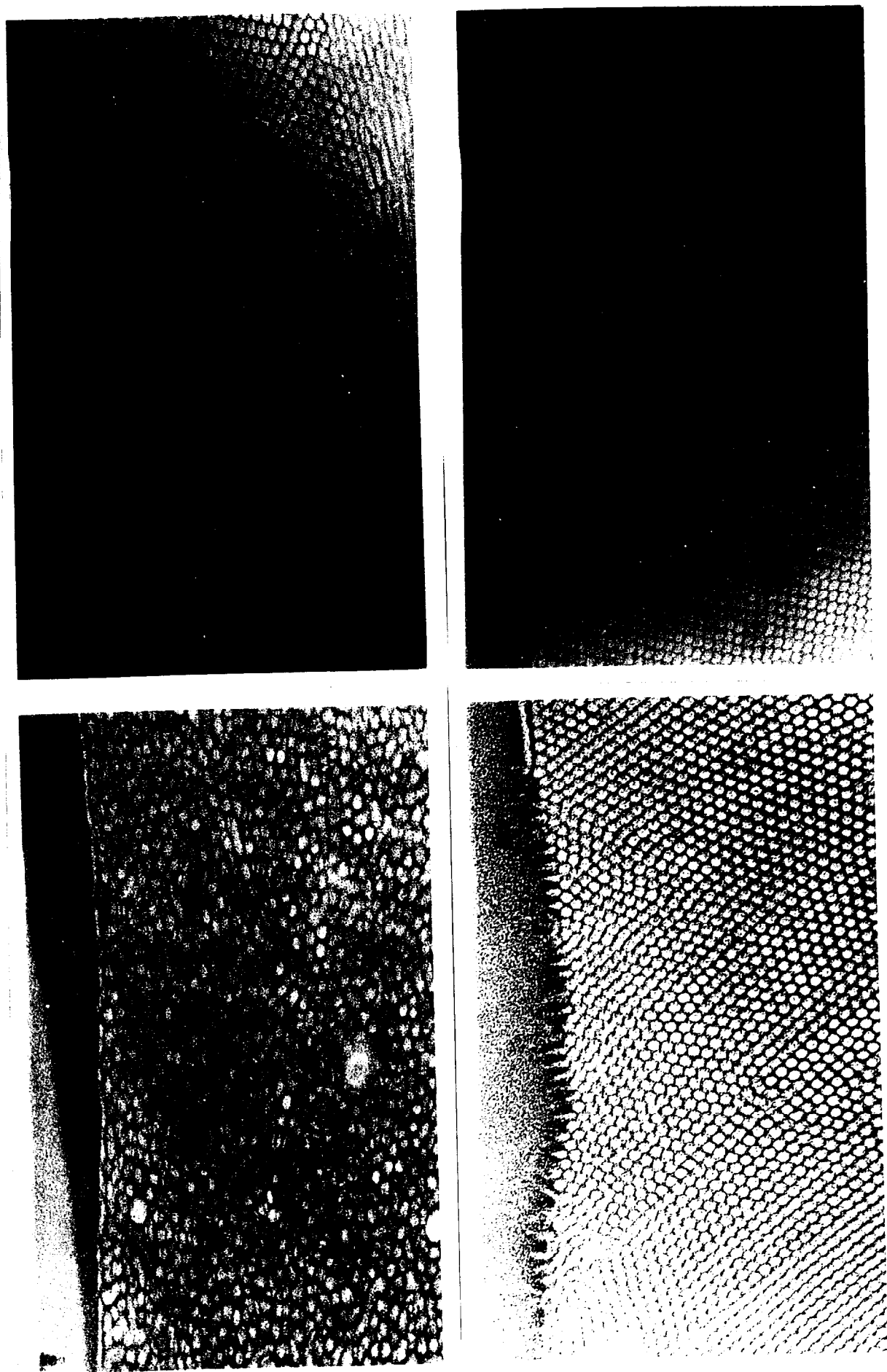
尚、poly(DIMA-*b*-isoprene)において水和後のフィルムをアニーリングした時の断面TEM像ではフィルム最表面は完全に疎水性成分のポリイソプレン層で覆われていることが確認されており、接触角測定の結果と一致していない。また、同処理を施したpoly(DIMA-*b*-styrene)フィルム表面のXPSによる定量的解析の結果からは、製膜直後と同程度まで疎水性成分が濃縮していることが確認できており、これも接触角測定の結果と一致していない。このように分析手法によって結果が異なる理由はそれぞれの分析深さの違いによるものと予想している。脱出角度が10度の条件でのXPSでの分析深さは約15 Åであるのに対し、接触角で得られる表面情報は数Åであると言われている。また、TEM像では最表層の疎水性ドメイン中に極わずかなポリDIMAセグメントが存在してもそれを視覚的に識別することは不可能である。これらのことから、すべての分析方法で矛盾のない結果を得ることはできていないが、ポリDIMAを含むブロック共重合体では水中浸漬後にアニーリングを行っても、膜の極最表面にはポリDIMAがわずかに存在していると判断している。

最後にTEM観察から得られる表面形状について比較検討を行った。ポリイソプレンやポリ(4-オクチルスチレン)を含むブロック共重合体では、製膜直後・水中浸漬後共に平滑な表面形状を示しており、親水性成分の違いによる表面モルフォロジーへの影響はないと思われた。しかし、ポリスチレンを疎水性成分としたブロック共重合体では、製膜直後の表面はpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)、poly(DIMA-*b*-styrene)共に平滑であったが、水中浸漬後の表面形状は顕著に異なり、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)では短い突起状の構造が、poly(DIMA-*b*-

styrene)ではミセル状の構造が観察された。参考までにそれぞれの断面TEM像を図7-1に示す。

この両者ではブロックシーケンスが異なること、組成比もわずかに異なることから、水中浸漬後の表面形状の違いが親水性成分だけに由来するものかどうかの判断はできないが、このように異なった表面形状を示すことは非常に興味深い。

以上、親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造及び表面構造再構築に対する親水性成分の化学構造の影響について比較した。その結果、製膜直後のフィルム表面にはいずれも疎水性成分が濃縮しており、各成分は製膜過程や表面構造形成に影響を及ぼさないことがわかった。また、ポリHEMAを含むブロック共重合体表面はポリDIMAを含むブロック共重合体表面に比べて乾燥状態から水和状態に対する再構築の応答性が遅いことが確認できた。さらに、その逆の水和状態から乾燥状態への環境変化時においても、ポリHEMAを含むブロック共重合体表面は水和後にアニーリングを施すことでほぼ完全に製膜直後と同程度の疎水性表面に戻るが、ポリDIMAを含むブロック共重合体表面では完全に製膜直後の表面には戻らず、極最表層にポリDIMAセグメントがわずかに存在することが予想できた。



100 nm

Figure 7-1. Transmission electron micrographs (cross sectional view) of poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA) (left) and poly(DIMA-*b*-styrene) (right) under dry (upper) and wet (bottom) conditions.

Table 7-4. Monomer Unit Percent of Hydrophobic Segment in a Series of Hydrophilic-Hydrophobic Block Copolymer As-Cast Films Determined by XPS at 10 ° TOA ^a

	Hydrophilic Segment	
	polyHEMA	polyDIMA
polystyrene	93	84
polyisoprene	94	98
Hydrophobic Segment		
poly(4-octylstyrene)	83	79
poly[4-(7'-octenyl)]styrene	74	-

^a Calibrated from the composition of carbon and oxygen.

7-3 親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造に対する

疎水性成分の化学構造の影響

表7-2に示したように、疎水性成分の特徴はTgと分子骨格のふたつに分けられる。はじめにTgの違いが表面構造再構築にどのような影響を与えるかを検討した。室温以上のTgを有するポリスチレンを含むブロック共重合体と室温以下のTgを有するポリ(4-オクチルスチレン)またはポリイソプレンを有するブロック共重合体の接触角測定の結果を比較すると、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)では水中浸漬による親水性表面への再構築には約30分を要するが、poly(HEMA-*b*-isoprene)やpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)では10～15分で、特にpoly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]では約1分で再構築をほぼ完了している。また、ポリDIMAを含む系ではポリスチレンが疎水性成分の場合には約10分の水中浸漬を必要とするが、ポリイソプレンやポリ(4-オクチルスチレン)が疎水性成分の場合には、水滴が接触するとすぐに親水性表面に変化してしまうという俊敏な応答性を示した。以上のことから、乾燥状態から水和状態への環境変化に応答した表面構造再構築は低いTgを有する疎水性成分を含むブロック共重合体が高Tgを有するブロック共重合体に比べて俊敏に応答することがわかった。

水和状態から乾燥状態への環境変化時においても同様の現象が確認された。即ち、水和後のpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)フィルムがもとの疎水性表面に再構築するには約30分のアニーリングが必要であったが、poly(HEMA-*b*-isoprene)やpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)では約10分のアニーリングで十分であった。さらには、poly(HEMA-*b*-isoprene)では60℃のアニーリングでも再構築を示したが、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)では親水性表面を維持したままであり、疎水性表面への再構築を示すには90℃以上でのアニーリングが必要であることが接触角測定の結果から示されている。これらのことから水和状態から乾燥状態への環境変化に対する表面構造再構築にも疎水性成分のTgは大きく影響しており、室温以下のTgを有する疎水性成分を含んだブロック共重合体は俊敏に応答できることが明らかとなった。

ここでもpoly[HEMA-*b*-4-(7'-octenyl)styrene]は特異的な現象を示した。ポリ[4-(7'-オクテニル)スチレン]のTgは-36℃と室温以下にも関わらず、アニーリングによる再構築には30分以上を要している。また、乾燥状態から水和状態時の再構築も親水性成分がポリHEMAであるにも関わらず極端に俊敏であった。このような特異的な特徴は疎水性成分の分子骨格に由来するものではないかと考えている。推測の域を出ないが、側鎖末端の炭素-炭素二重結合の存在によって疎水性ドメイン中の分子鎖のパッキングが疎となり、ドメインとしての分子運動性が向上しているためではないだろうかと考えている。

Tgとしては大差ないものの、分子骨格が大きく異なるポリイソプレン(Tg:-69℃)とポリ(4-オクチルスチレン)(Tg:-42℃)有するそれぞれのブロック共重合体では環境変化に応答した表面構造の再構築に顕著な違いが認められなかった。しかし、水中浸漬後のバルクのミクロ相分離構造において、この両者の違いを見いだすことができた。poly(DIMA-*b*-isoprene)は、製膜直後にはラメラ状のミクロ相分離構造を有していたが、水中浸漬によってポリイソプレンドメインが島成分、ポリDIMAドメインがマトリックスの海島状ミクロ相分離構造に変化する様子が観察されている。このようにバルク中のミクロ相分離構造のモルフォロジーが変化する理由として親水性成分であるポリDIMAドメインの水に対する溶解性と疎水性成分の室温以下のTgによる分子運動性の高さの2点が必要条件であろうと考察していた。しかし、poly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)はこの2つの条件を満たすにも関わらず、バルクのミクロ相分離構造は水中浸漬後もラメラ状を維持しており、この2点が十分条件ではないことがわかった。この違いは、疎水性成分のドメインとしての運動性の違いに由来するものと考えている。即ち、ポリイソプレンはコンパクトな分子骨格を有し、且つTgが低いために分子鎖の集合体であるドメインの運動性も非常に高くモルフォロジーを変化させることが可能なのであろう。一方のポリ(4-オクチルスチレン)ではTgは低いために分子鎖の運動性は高いものの、大きな分子骨格によってマイクロドメインの運動が阻害され、モル

フォロジーが変化しないのであろう。表面での再構築もバルク同様に分子運動のようなマイクロなスケールでの動きでなく、マイクロドメインスケールでの大きな動きによって引き起こされていることを考えると、ポリイソプレンを有する場合とポリ(4-オクチルスチレン)を有する場合での表面構造再構築になんらかの違いがあるはずである。しかし、接触角測定、XPS測定、及びTEM観察の結果からはそれを見いだすことはできなかった。新たな表面分析手法による評価が必要であることが再認識された。

以上、表面構造及び表面構造再構築に対する疎水性成分の化学構造の影響について比較した。その結果、疎水性成分のT_gは環境変化に応答した表面構造再構築に大きな影響を及ぼしており、T_gが室温以下の疎水性成分を有するブロック共重合体はT_gが室温以上のそれに比較して乾燥状態→水和状態、水和状態→乾燥状態共に俊敏に環境変化に応答することがわかった。また、T_gのみでなく分子骨格もマイクロドメインスケールでの運動性に影響していることを明らかにできた。しかし、これについての現在得られている証拠はバルクのマイクロ相分離構造変化のみであり、表面での再構築の様子としてはとらえられていない。今後の更なる解析が必要である。

7-4 結論

本章では、第2章から第6章で述べてきた種々な親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造解析の結果を、バルクの特徴と共にまとめ、各成分の化学構造が表面状態や表面構造再構築の応答性に与える影響について考察した。その結果、いずれのブロック共重合体においても製膜直後の最表面には疎水性成分が、水中浸漬後の膜最表面には親水性成分が濃縮していることから、各成分の化学構造の違いに関わらず、静的な平衡条件下での表面構造には違いがないことを明らかにできた。

しかし、環境変化に応答した表面構造再構築の様子に注目すると、親水性・疎水性の成分種によって様子が大きく異なることがわかった。親水性成分としては水に対する溶解性と吸湿性の違いが、疎水性成分としてはTgと分子骨格の違いが表面構造再構築に影響する要因であった。

特に分子骨格の影響は注目すべき点であり、ブロック共重合体の表面構造再構築にはTgに反映するようなミクロな領域での運動性よりも、Tgだけではとらえられないドメインとしてのマクロな運動性が重要であることを明らかにできた。以上、表7-5に表面構造再構築に関わる3つの要因をまとめた。

このように静的な条件下のみでなく動的条件下も含めると、親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造は実に多種多様である。それらを一概にとらえることは非常に困難であることが認識できた。

Table 7-5. Three Factors Affected for Surface Structure and Surface Restructuring in Response to the Environmental Change

Factors	Examples
Affinity of water	Block copolymer containing polyDIMA segment shows rapid surface restructuring from dry to wet conditions, and slowly occurs from wet to dry conditions.
T _g	Block copolymer containing hydrophobic segment with lower T _g shows rapid surface restructuring in response to the environmental change.
Kinetic Nature as Microdomain	When the Poly(DIMA- <i>b</i> -isoprene) film is soaked in water, morphological restructuring occurs both at surface and in bulk. However, poly(DIMA- <i>b</i> -4-octylstyrene) does not show morphological restructuring in bulk.

参考文献

- 1) 森 秀晴, 平成5年学位論文(東京工業大学高分子工学専攻)
- 2) D. G. Caster, B. D. Ratner, D. W. Grainger, S. W. Kim, T. Okano, K. Suzuki, D. Briggs, S. Nakahama, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **3**, 463 (1992)
- 3) 伊藤光則, 平成3年度修士論文(東京工業大学高分子工学専攻)
- 4) K. B. Lewis, B. D. Ratner, *J. Colloid Interface Sci.*, **159**, 77 (1993)

第8章 親水性-疎水性ブロック共重合体の血液適合性と その人工血管への応用

8-1 はじめに

2章から7章にかけて、さまざまな種類の親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造とその環境変化に応答した表面構造の再構築について述べてきた。本章では、これらブロック共重合体の医用材料としての可能性について言及したい。第1章でも述べたように医用材料が最も強く要求されている機能は血液適合性である。血液適合性を有する材料でカテーテルや人工血管を作ることができれば留置期間の延長や留置中に使用する抗凝固剤の使用量を減らすことが可能となり、患者の負担軽減や薬剤使用による副作用を抑制することができるであろう。また、埋め込み型人工臓器の開発にも大きな貢献が可能であろう。

我々は人工臓器の中でも特に血液適合性を必要とする埋込型人工臓器として、人工血管に注目した。はじめに人工血管の歴史について簡単に触れたい。はじめて臨床応用された合成高分子による人工血管は1952年に塩化ビニルとアクリロニトリルとの共重合体であるVinyon-Nの布からVoorheesとBlakemoreらによって作られた[1]。その後、さまざまな種類の人工血管が開発されてきたが、現在臨床に用いられているものはポリエステル製編み物(ダクロン®)、もしくは延伸テトラフルオロエチレン(ゴアテックス®)からなる2種類だけである。これらの人工血管は内径が6mm以上の大口径タイプのものであり、両者共に偽内膜形成型の人工血管である。第1章でも述べたように、偽内膜形成型人工血管の血液適合性獲得のメカニズムは、材料表面に血液が接触した直後にフィブリンの重合によりフィブリンネットが形成され血栓が表面に形成された後に、この血栓膜を足場にして内皮細胞が増殖し、最終的に人工血管の内面を内皮細胞が覆うこと(偽内膜形成)で人工血管表面と血液との界面を安定化させることによる。このメカニズムを内径3mm以

下の人工血管に応用した場合、偽内膜が生着する前に血栓によって閉塞してしまうため、この方法で小口径人工血管を作製することは不可能であった。そこで、埋入前に人工血管内面に内皮細胞を*in vitro*で成着させ偽内膜を形成させた小口径人工血管が検討されたが、免疫系の問題を有しており実用には至らなかった。このような問題を解決するために、合成高分子単独で血液適合性が発現できるような材料の模索と研究が始まった。合成高分子には滅菌が容易である、価格が生体由来原料に比較すると安価であるなどの利点もあり、これに対する期待は非常に大きいものである。

そこで、我々は偽内膜を必要としない小口径人工血管の開発を目的に、内表面にpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)をコーティングした人工血管の作製・検討を行った。poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)は*in vitro*や*ex vivo*の血液適合性評価から血小板の活性・粘着を抑制することや[2-6]、血栓形成のカスケード反応の引き金となる血小板からの遊離カルシウムの放出を能動的に制御することが明らかとされており[7]、小口径人工血管としての可能性を有する素材であると判断している。

しかし、優れた血液適合性材料としての実績を有するpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)も物性面では大きな欠点を有していた。即ち、疎水性成分の高いTgのため、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)には柔軟性がなく、コート層のひび割れや基材からの剥がれが生じやすい。また、ひび割れや剥がれによって生じる血流の乱れが血栓を形成する可能性があるだけでなく、剥がれ落ちた小片が毛細血管を閉塞させることも十分に考えられる。そこで、疎水性成分のTgを低くすることで柔軟性を発現させたブロック共重合体、poly(HEMA-*b*-isoprene-*b*-HEMA)やpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)についても血液適合性を評価し、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)と比較することとした。これらのブロック共重合体も親水性-疎水性のミクロ相分離構造を有していることから、優れた血液適合性を有することが期待される。

次に血液適合性の評価方法について考察したい。医用材料のスクリーニングには材料の血液適合性評価が不可欠であり、そのための方法論の確立もまた重要な課題である。特に血液適合性に優れた材料の開発のためにはそれぞれのわずかな差を認識することが可能な評価方法が必要であり、さまざまな方法が考案されてきた。本来、血液適合性材料は最終的には生体内で用いられるものであるので*in vivo*評価が望ましいが、そのためには最終的なデバイスやシステムとしての設計が材料の血液適合性以上に重要であり、材料そのものの血液適合性を評価することは困難である。そこで一般的には、*in vitro*や*ex vivo*評価から血液適合性が評価されている。*in vitro*評価法は静的方法と動的に大別される。Lee-White法[8]に代表される静的方法は、静的状態で材料表面と接触した血液の凝固性を調べる方法であり、評価パラメータとしては全血凝固時間が主に用いられる。動的方法としてはカラム法[9]が代表的方法のひとつとして挙げられる。この方法は評価する材料をコートしたガラスビーズを充填したカラム中に多血小板血漿(Platelet rich plasma, PRP)を通過させ、流出PRP中の血小板数の変動を測定したり、材料表面に粘着した血小板の形態観察から血液適合性を判定する方法である。この方法は材料表面積に対する血液体積比(Surface area/Blood Volume, S/V)が大きいので、材料間の血液適合性の差を増幅させることが可能であり、わずかな血液適合性の違いを見極めることができる。しかし、系内でのPRPの流体力学的影響によって結果にばらつきが生じることや、血小板と材料表面との相互作用をリアルタイムに観察することが不可能であるなどの欠点を有している。そこで、新たな評価方法としてLawrenceらによって行われた平行プレートフローチャンバーを用いたフローシステム法[10]と蛍光顕微鏡(Epifluorescent Video Microscopy, EVM)とを組み合わせた*in vitro*評価法(EVM法)が野尻らによって考案された[11]。この方法の詳細は8-6-4章で述べるが、試料をコートしたスライドガラスと全血とを接触させたときの試料表面に粘着した血小板の総面積を蛍光顕微鏡からタイムスケールで算出し、血液適合性を評価する方法である。主な特長として1)平行フローチャンバーを用いることで系の流動状態を安定化できる、2)全血での評価が可能である、

3)血液と材料表面との相互作用をリアルタイムに観察できる、4)S/Vが大きく、わずかな血液適合性の違いを評価できるなどが挙げられる。野尻らはこの方法を用いて各種ポリウレタンの *in vitro* 評価を行い、ハードセグメント含量やソフトセグメント分子量と血液適合性との関係について考察した。そしてこの方法を用いることで、化学構造のわずかな違いに反映した血液適合性の違いが評価できると報告している[12]。

ex vivo 評価法の中で最も信頼性が高いと位置づけられている方法が動静脈シャント法(A-Vシャント法)である[3]。これは、頸部あるいは大腿部の動静脈間に材料をコートしたチューブ(内径1.5mm、長さ20cm)でシャントを形成し、循環血液中の凝固因子の経時的变化や閉塞するまでの時間から血液適合性を評価する方法である。しかしA-Vシャント法における血流速度は27～30mL/minと比較的大きいため、材料表面に付着した微小血栓の剥離の影響の出る可能性がある。また、閉塞に至る時間も血液適合性に優れた材料では2～3週間を要する。そこでよりシビアな評価方法であり、且つ短時間に評価できる新たな方法として、動動脈シャント法(A-Aシャント法)が野尻らによって考案された[4]。この方法は内径1.5mm、長さ30cmの材料をコートしたシャントチューブを1本の家兎頸動脈に接合し、下流に部分クランプを用いることで血流速度を2.5mL/minに調整して、閉塞時間を測定する方法である。野尻らはこの方法を用いてラメラ幅が250～600Åと異なる4種類のpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の血液適合性評価を行い、ラメラ幅が250Åの時に最も優れた血液適合性を示すことを報告している[4]。

以上のような背景を基に、本章ではpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の小口径人工血管への応用に加えて、各種ブロック共重合体の血液適合性評価についても検討を行った。評価方法には、*in vitro* 評価法としてEVM法、*ex vivo* 評価法としてA-Aシャント法を用いた。そして最後に、前章までに述べてきたブロック共重合体表面と血液適合性との関係について考察した。

8-2 poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)を内面にコーティングした

人工血管の長期開存性

8-2-1 人工血管作製及び埋入

我々の作製した人工血管は図8-1に示したように3層構造からなる。最外層が血管周囲組織治癒促進と補強のためのポリエステル製編み物人工血管(内径：3mm、長さ：7cm)、中間層が人工血管の内腔面を平滑にするためのポリウレタンコート層、最内層が1～3 μ mのpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)コート層である。尚、ここで用いたブロック共重合体は第2章で述べた末端に官能基を有するテレケリックオリゴマーの付加反応から合成されたもので、ポリHEMA成分の分子量が10300($\times 2$)、ポリスチレン成分の分子量が12200、ポリHEMA成分の重量分率が63wt%のものである。

人工血管を麻酔下で雑種成犬の頸動脈に植え込み、経時的に摘出を行った。摘出は埋入後7, 14, 30, 92, 372日目に行った。摘出後の人工血管に対して、閉塞の有無、内表面の肉眼的及び走査型電子顕微鏡(SEM)による観察、病理的観察を行った。更に内表面に吸着したタンパク層の厚みを透過型電子顕微鏡(TEM)観察から測定した。実験の詳細は8-6-1章で述べる。

8-2-2 結果

摘出された人工血管は植え込み372日後までいずれも開存しており、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の優れた血液適合性が*in vivo*評価からも示唆された。図8-2に埋入後372日目の人工血管内腔面の様子を示す。肉眼的観察の結果、内腔面は均一且つ透明であり、血栓の付着を示唆するような赤味を帯びた部位は全くなかった。SEMによる観察からも表面にはタンパク様の付着物が認められるのみで、血栓や内皮細胞は全く存在していないことがわかった。

埋入372日間の人工血管吻合部及び中央部については病理的解析も行った。それぞれの部位から観察されたヘマトキシリン&エオジン染色像を図8-3及び8-4に示す。生体の血管側から人工血管への内皮細胞の成長は吻合部に全く認められなかった(図8-3)。また、中央でも血栓形成は認められることがなかった(図8-4)。一方、最外層のポリエステル繊維内への組織進入は活発で、良好な血管周囲組織治癒が確認された。

埋入372日間の人工血管内腔面の断面TEM像を図8-5に示す。コート層の内部にはpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)に由来するミクロ相分離構造が観察され、さらに最表層には四酸化オスミウムによって黒く染色された吸着タンパク層の存在が確認された。吸着タンパク層の厚みは200 Å以下であり、モノレイヤー様であることがわかった。

8-2-3 考察

*in vivo*評価の結果、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)は小口径人工血管として十分に通用する血液適合性を有することを明らかにできた。また、病理学的解析やSEM及びTEM観察の結果から、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)は今までに臨床で応用されている人工血管とは抗血栓性のメカニズムが異なることもわかった。現在、臨床で用いられているポリエステル製人工血管や延伸PTFE人工血管は内腔面に新生内膜が成長することで抗血栓性を発現している。しかし、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)を内面にコートした人工血管の表面には新生内膜の存在は埋入372日を過ぎても全く認められず、かつ吸着したタンパク層も単層様のものではなかった。通常、材料表面に吸着したタンパク質は変性を起こし、変性したタンパク質の上に更にタンパク質が吸着することで、多層の吸着層を形成する。即ち埋入時間と共に吸着タンパク質の層は厚くなる。ところが、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)表面上の吸着タンパクは7日後から1年以上の埋入後まで単層様に存在していた。これは吸着したタンパク質のコンフォメーション変化が抑えら

れており、脱着が可能な状態にあるために単層が維持されていると考えられる。このような安定した単層状のタンパク層が血液と材料との界面を安定化させているものと思われる。これは従来の偽内膜形成型の人工血管とは全く異なる血液適合性発現のメカニズムと言えるであろう。以上、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)は偽内膜を必要としない新しい概念の小口径人工血管として期待される材料であることが明らかにされた。

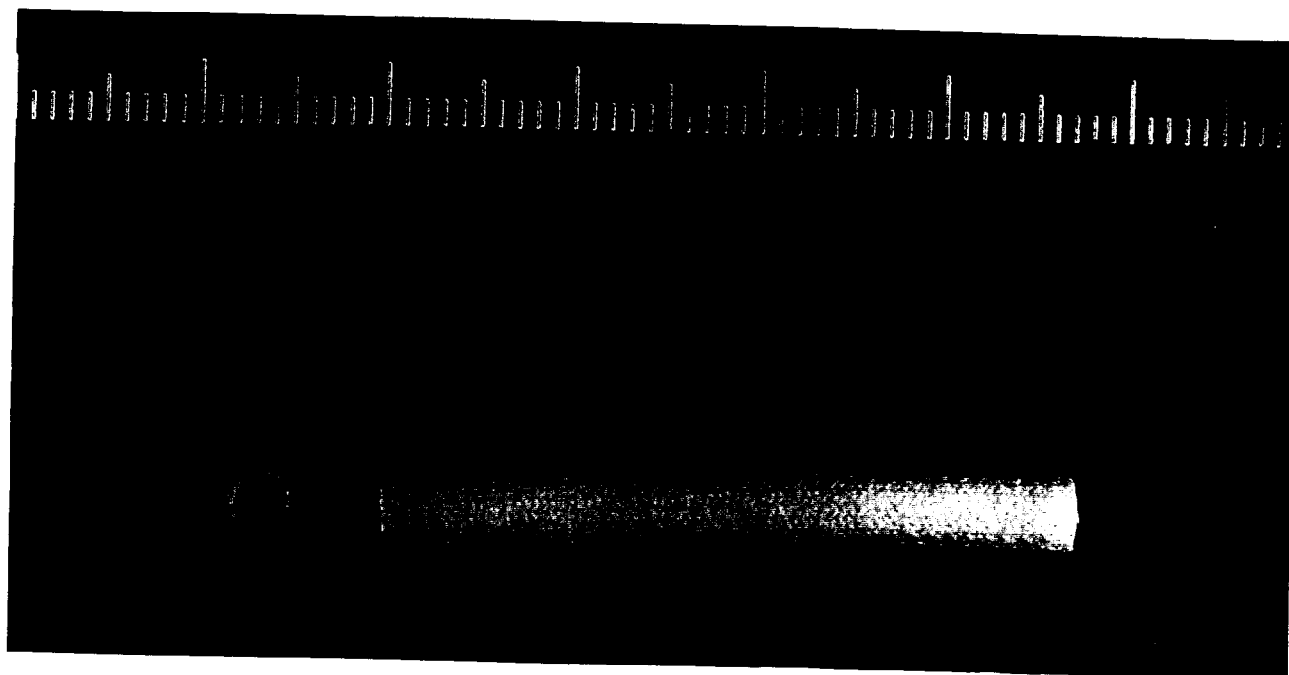
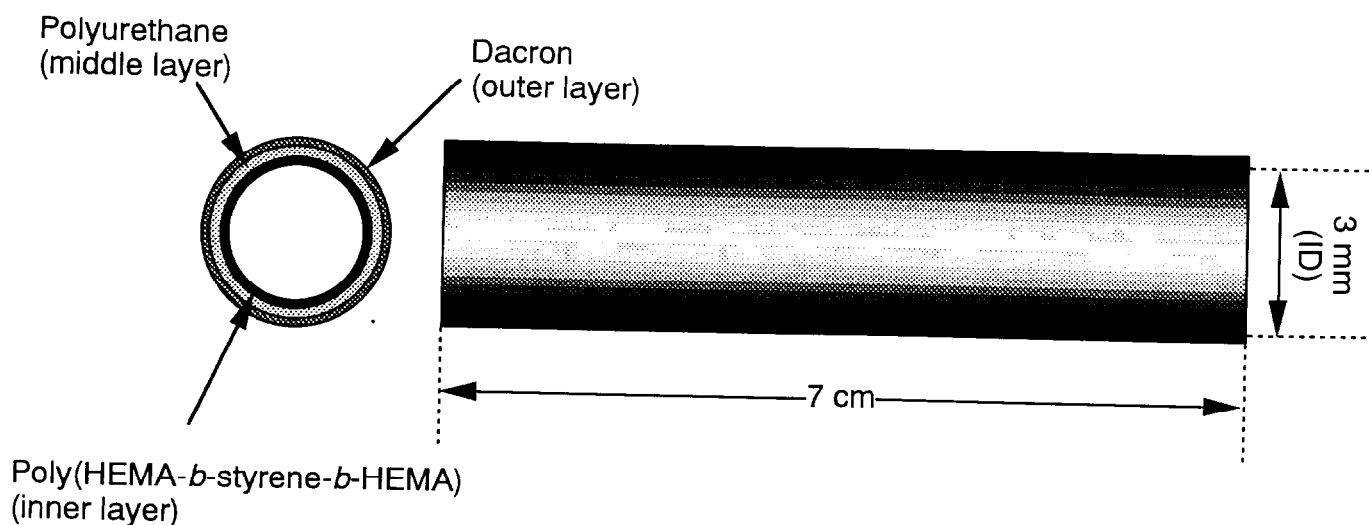


Figure 8-1. Poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA) coated 3 mm internal diameter (ID) vascular prosthesis consisting of a Dacron outer layer, a nonporous polyurethane middle layer, and a poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA) blood contacting surface coated on the polyurethane layer.

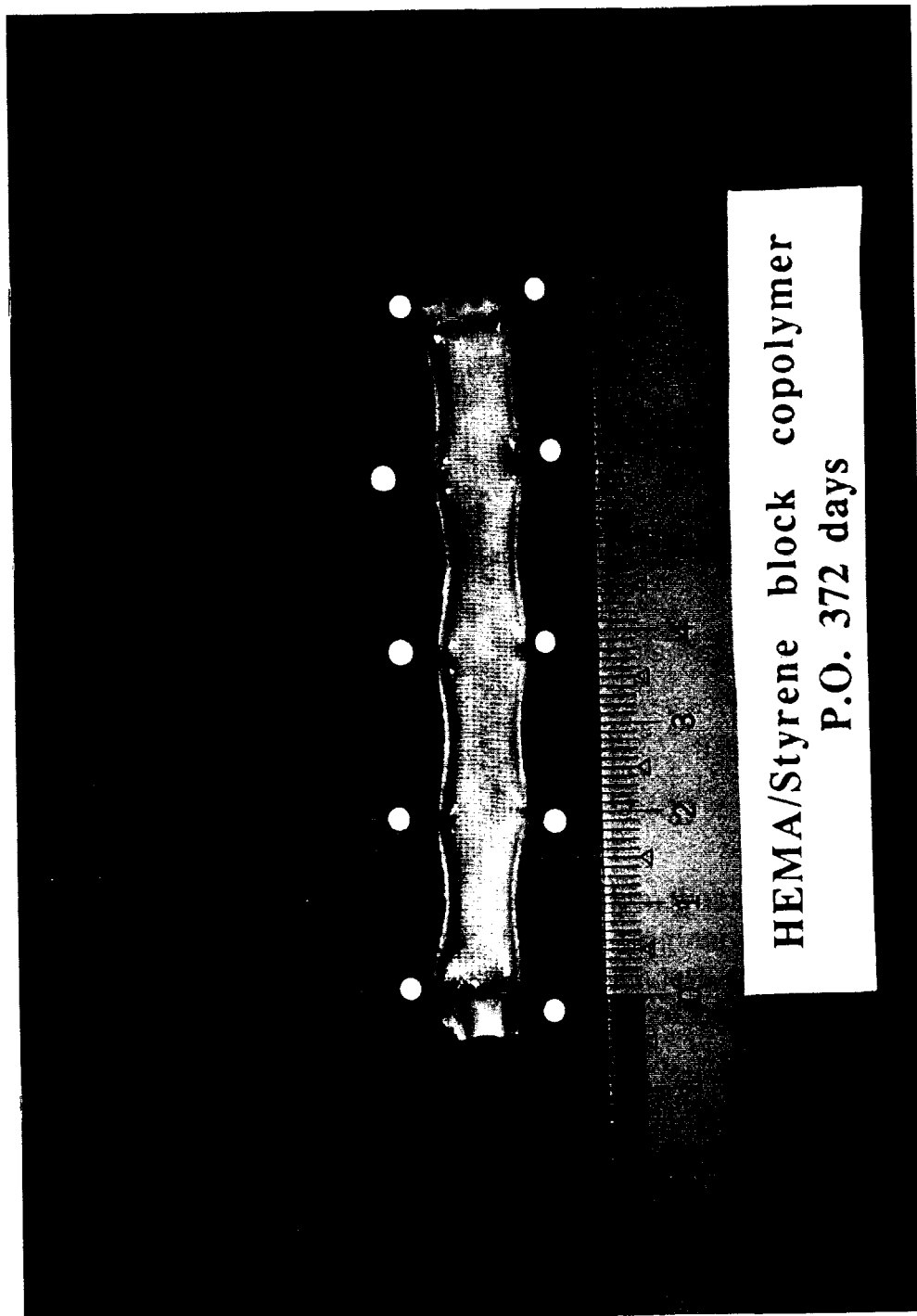


Figure 8-2. Luminal appearance of the graft 372 days after carotid replacement, showing a fairly clean surface without thrombi along the graft length.



Figure 8-3. Light photomicrograph of the proximal anastomotic site of a 3 mm-ID graft 372 days after carotid replacement (H&E, original magnification $\times 40$). There was neither endothelial ingrowth from the anastomosis nor internal thickening. The internal elastic lamina of the native artery (arrow) did not extend to the graft lumen across the anastomosis.

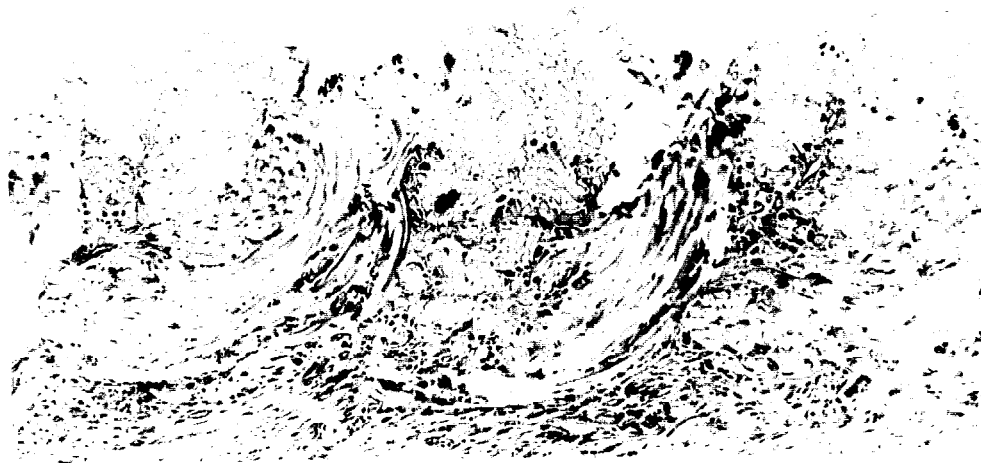
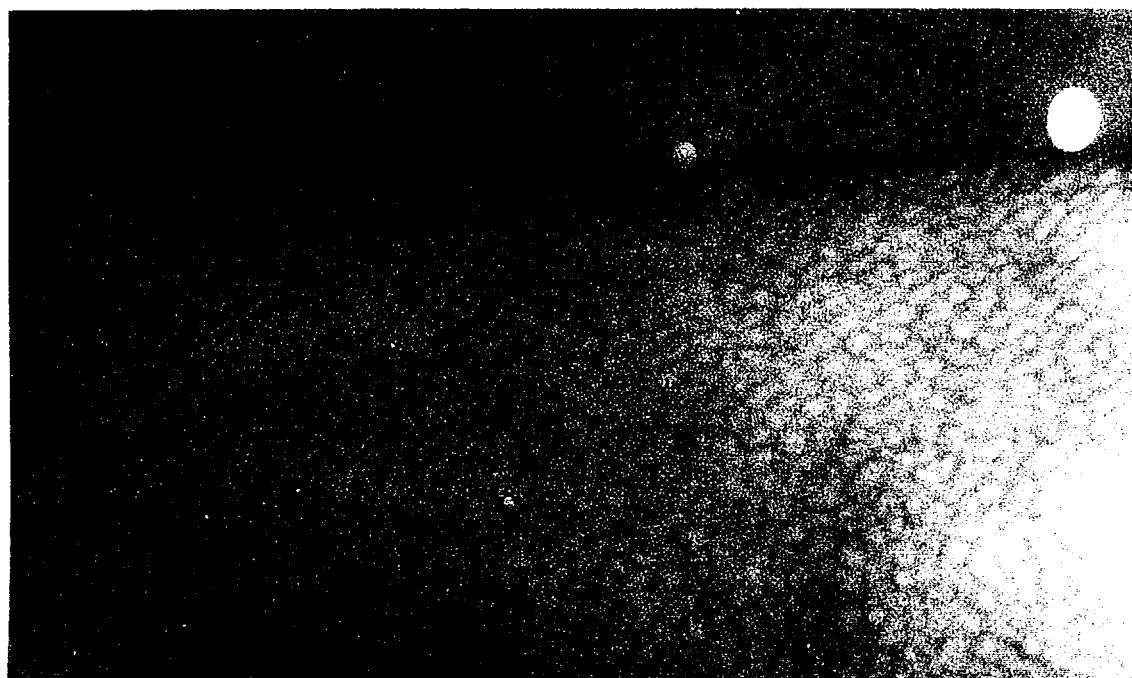


Figure 8-4. Light photomicrograph of the central portion of a 3 mm-ID graft 372 days after carotid replacement (H&E, original magnification $\times 100$). Fibrous ingrowth and occasional capillary formation (arrows) into Dacron fibers were noted in the outer aspect of the polyurethane middle layer.



100 nm

Figure 8-5. Cross sectional transmission electron micrograph of a 3 mm-ID graft 372 days after carotid replacement (stained with OsO_4).

Poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA) exhibited very thin ($< 200 \text{ \AA}$) protein layer. Microdomain structure of poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA) were also observed underneath the protein layer (hydrophilic polyHEMA microdomain is stained in black).

8-3 親水性-疎水性ブロック共重合体の血液適合性

8-3-1 はじめに

本節で血液適合性評価を行った親水性-疎水性ブロック共重合体の一次構造と評価方法の一覧を表8-1に示す。いずれのブロック共重合体も2～7章までに表面構造解析を行ってきたブロック共重合体である。poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)は血液適合性材料としての実績を有する材料であり、プラスコントロールとして比較できるだけでなく、合成方法の違いによるわずかな化学構造の違いが血液適合性に反映するかどうかは非常に興味深い。また、疎水性成分にpolyisopreneやpoly(4-octylstyrene)を有するブロック共重合体はそのゴム状の性質によりpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)には無かった柔軟な物性が予想され、新たな血液適合性材料として期待される材料である。尚、poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)については分子量の異なる2種類について評価を行い、分子量と血液適合性との関係を検討した。

8-3-2 曲げ試験

poly(HEMA-*b*-isoprene-*b*-HEMA)及びpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)の物性を曲げ試験から評価し、これら両者がpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)に欠けていた柔軟性を有する材料かどうかの判断を行った。直径1.5mmのポリウレタンチューブ(Pellethane 2363-80AE, Dow Chemical)の外表面に表8-1に示した3種類のブロック共重合体(Code No. 70901, IM-8B, IM-56B)をコートした後、8-6-3章に示した方法で曲げ試験を行った。曲げ試験後のチューブ外表面から得られたSEM像を図8-6に示す。poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)コート層に

はクラックが多数観察され柔軟性に欠けることが確認された。一方、poly(HEMA-*b*-isoprene-*b*-HEMA)やpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)では表面の状態は曲げ試験前となんら違いは認められず、優れた柔軟性を有することが示された。これより、疎水性成分のTgを室温以下に設計することで、ブロック共重合体に柔軟性を付与することが可能であることがわかった。

8-3-3 *in vitro*評価

表 8-1 に示した poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)(Code No. 70901) 及び 2 種類の poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)(Code No. IM-41B, IM-56B)についてEVM法から*in vitro*血液適合性を評価した。また、比較試料としてポリウレタン(Pellethane 2363-80AE, Dow Chemical)についても実験を行った。実験方法の詳細は8-6-4章に示した。各ブロック共重合体をコートした試料と血小板のみを蛍光ラベルした全血とを壁ずり速度, $\gamma_w=100\text{sec}^{-1}$ で接触させたときの時間に対する試料表面の血小板専有面積率を図8-7に示す。比較試料である Pellethaneの表面では血液との接触時間が長くなるに従い、血小板専有面積も徐々に増加し、20分後には30.2%まで上昇した。一方、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)表面では最後までほとんど血小板の粘着が認められず、接触時間20分後の血小板専有面積率はわずか0.06%であった。これより、岡野らによって今までに示されてきたpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の非常に優れた血液適合性がEVM法からも確認された。また、2種類のpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)でもpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)同様、血小板の粘着はほとんど認められなかった。IM-41BとIM-56Bのそれぞれの20分後の血小板専有面積率は、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)にはわずかに劣る0.16%と1.56%であった。また、student t-検定の結果($n=5$)、3種類のブロック共重合体はいずれもPellethaneに比べて有意に優れた血液適合性を有すること、3

種類間の血液適合性には有意な差がないことがわかった。以上のことから、疎水性成分にポリ(4-オクチルスチレン)成分を有するブロック共重合体はpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)と同等の優れた血液適合性を有することが確認できた。

8-3-4 *ex vivo*評価

表8-1に示した5種類のポリHEMAを有する親水性-疎水性ブロック共重合体の*ex vivo*における血液適合性をA-Aシャント法から評価した。方法の詳細は8-6-4章に示した。得られた結果を表8-2に示す。コントロールのポリウレタンチューブ(Pellethane 2363-80AE)ではわずか30分で閉塞してしまうのに対し、ブロック共重合体をコーティングした試料は、いずれも4時間以上の開存時間を示し、非常に優れた血液適合性を有することが明らかとなった。特に、アニオンリビング重合から合成したpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)(Code No. N-4B)は、一連の親水性-疎水性ブロック共重合体の中でも最も優れた血液適合性を示し、閉塞までの時間はコントロールの10倍であった。また、先の曲げ試験から柔軟な物性を有することが確認されたpoly(HEMA-*b*-isoprene-*b*-HEMA)やpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)もpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)にこそ劣るが、コントロールの7.5～8.7倍の開存時間を示し、優れた血液適合性を有することが確認できた。また、人工血管として優れた性能を有することが確認されているテレケリックオリゴマーの付加反応から合成されたpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)(Code No. 70901)についても*in vivo*評価同様にA-Aシャント法からも優れた血液適合性が確認できた。

最後に各親水性-疎水性ブロック共重合体の中での比較を行うために、student t-検定($n=3\sim 5$)を行った。その結果、危険率1%ではいずれの間にも有意な差がないことがわかった。

以上、*in vivo*, *ex vivo*評価の結果から、ポリHEMAを親水性成分とする親水性-疎水性ブロック共重合体は、いずれもコントロールのポリウレタンに比べて非常に優れた血液適合性を有することがわかった。また、疎水性成分の化学構造の異なる共重合体間での顕著な有意差は認められず、親水性-疎水性ブロック共重合体は疎水性成分の化学構造によらず、いずれも血液適合性材料として有用であることがわかった。また、poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)では分子量の異なる2種類のポリマーについて比較を行ったが、血液適合性には有意な差がないことが確認された。

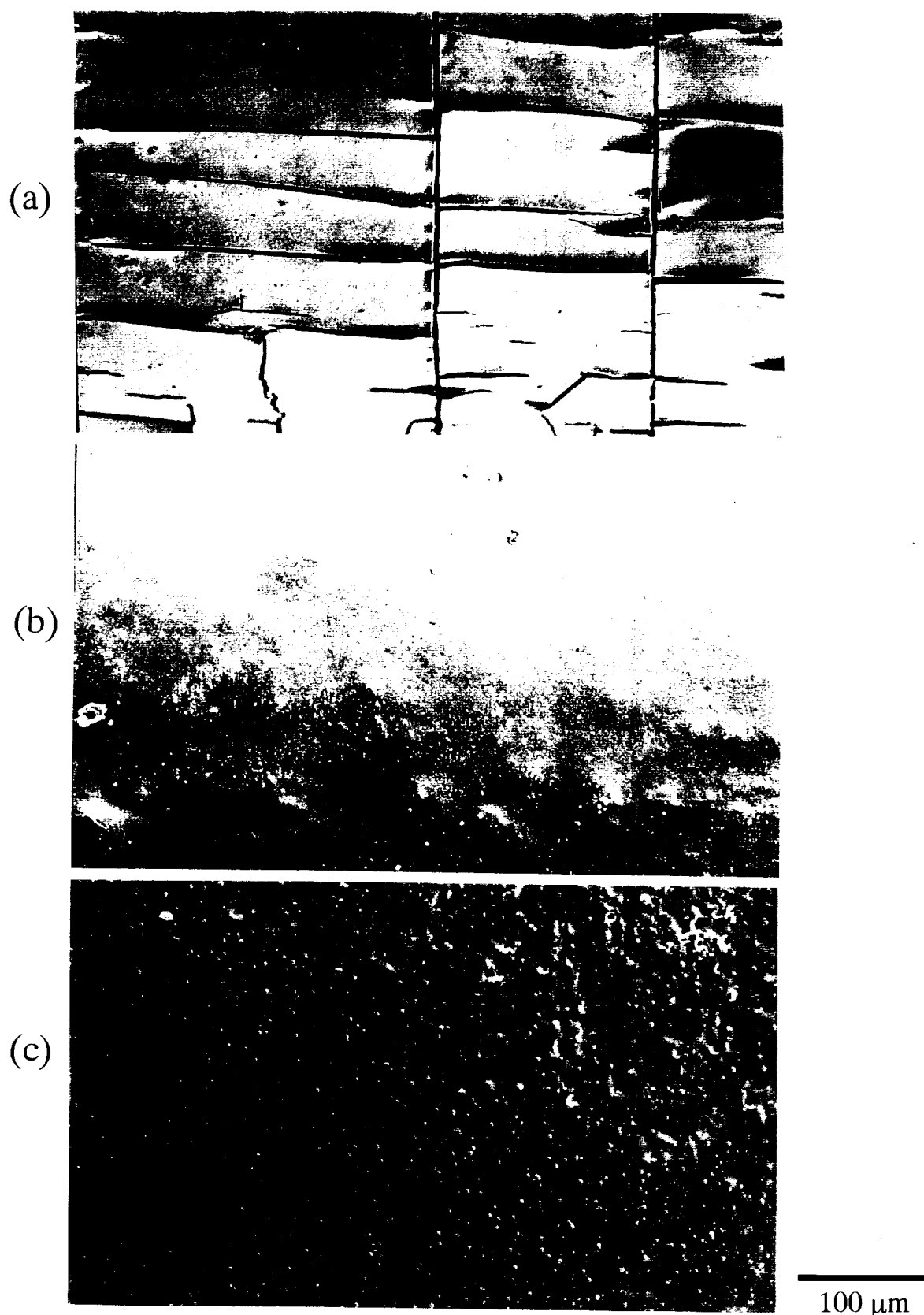


Figure 8-6. Scanning electron micrographs of (a) poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA) (Code No. 70901), (b) poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA) (Code No. IM-56B), and (c) poly(HEMA-*b*-isoprene-*b*-HEMA) (Code No. IM-8B) after kink resistance test. Poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA) developed a number of cracks, whereas poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA) and poly(HEMA-*b*-isoprene-*b*-HEMA) showed no cracks.

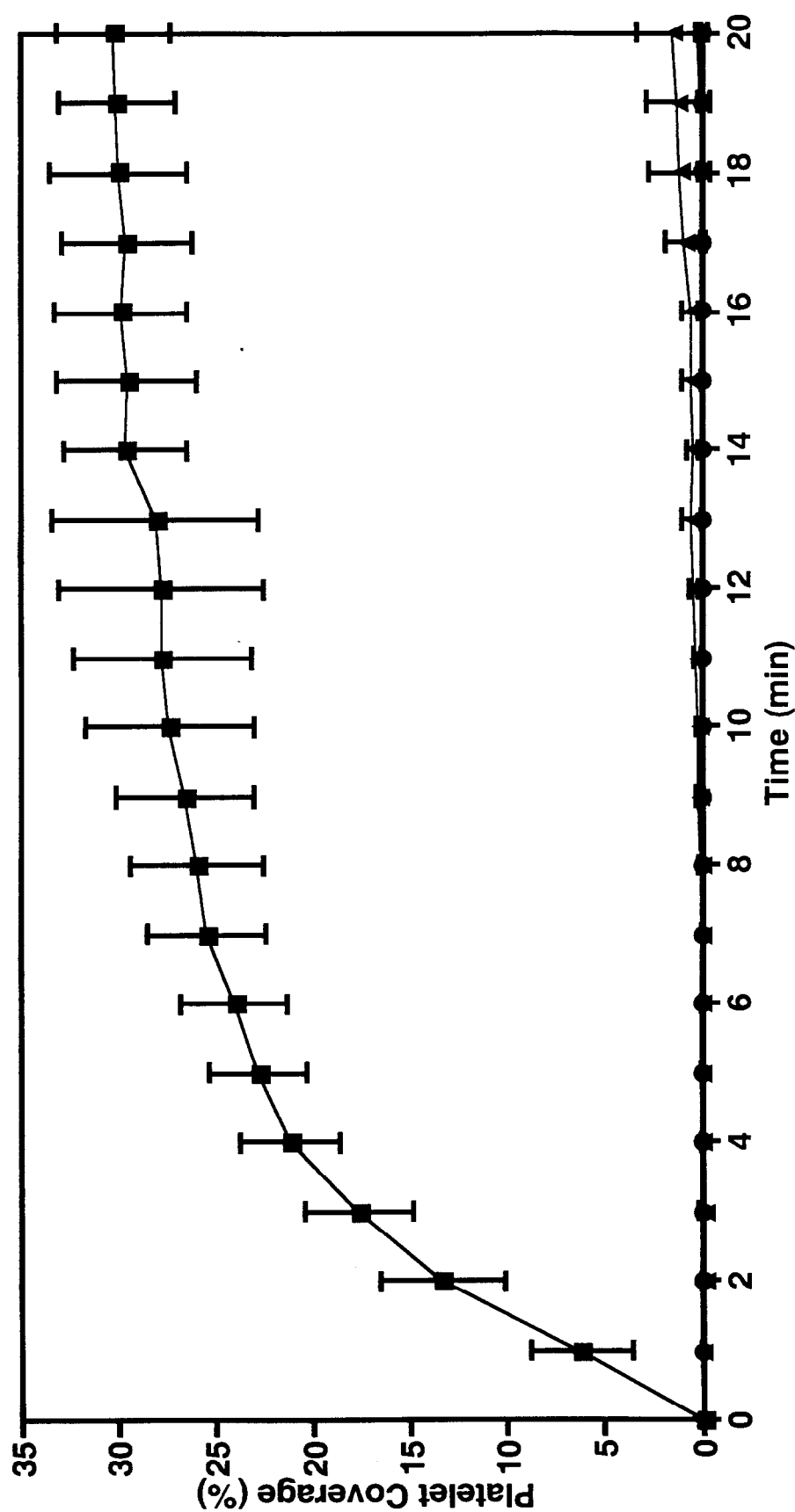


Figure 8-7. Percent surface area of platelet coverage versus contact time on block copolymer surfaces during 20 min EVM experiments (single path using a syringe pump). Wall shear rate was adjusted to 100 s^{-1} . ($n=5$)

■ : Pellethane 2363-80AE ▲ : poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA), Code No. IM-56B
 ● : poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA), Code No. 70901 ◆ : poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA), Code No. IM-41B

Table 8-1. Characterization of a Series of Hydrophilic-Hydrophobic Block Copolymers for Evaluation of Blood Compatibility

Polymer	M_n		wt% of HEMA unit	Evaluation Method ^a
	HEMA block	hydrophobic segment block		
poly(HEMA- <i>b</i> -styrene- <i>b</i> -HEMA) ^b (Code No. N-4B)	2400 × 2	5500	45	A-A shunt
poly(HEMA- <i>b</i> -styrene- <i>b</i> -HEMA) ^c (Code No. 70901)	10300 × 2	12200	63	EVM, A-A shunt, kink resistance test
poly(HEMA- <i>b</i> -isoprene- <i>b</i> -HEMA) ^b (Code No. IM-8B)	3250 × 2	8020	45	A-A shunt, kink resistance test
poly(HEMA- <i>b</i> -4-octylstyrene- <i>b</i> -HEMA) ^b (Code No. IM-41B)	14400 × 2	10200	59	EVM, A-A shunt
poly(HEMA- <i>b</i> -4-octylstyrene- <i>b</i> -HEMA) ^b (Code No. IM-56B)	3100 × 2	6500	49	EVM, A-A shunt, kink resistance test
polyurethane ^d (Code No. Pellethane 2363-80AE, Dow Chemical)	-	-	-	EVM, A-A shunt

^a EVM: *in vitro* evaluation method using parallel flow chamber and epifluorescent video microscopy.

^b Prepared by anionic living polymerization.

^c Prepared by addition reaction of telechelic oligomers.

^d Control sample.

Table 8-2. Rabbit A-A Shunt Occlusion Times of a Series of Hydrophilic-Hydrophobic Block Copolymers ^a

Polymer	M_n		wt% of HEMA unit	Occlusion Time (min) (means±SD)
	HEMA block	hydrophobic segment block		
poly(HEMA- <i>b</i> -styrene- <i>b</i> -HEMA) ^b (Code No. N-4B)	2400 × 2	5500	45	309 ± 31
poly(HEMA- <i>b</i> -styrene- <i>b</i> -HEMA) ^c (Code No. 70901)	10300 × 2	12200	63	241 ± 47
poly(HEMA- <i>b</i> -isoprene- <i>b</i> -HEMA) ^b (Code No. IM-8B)	3250 × 2	8020	45	269 ± 20
poly(HEMA- <i>b</i> -4-octylstyrene- <i>b</i> -HEMA) ^b (Code No. IM-41B)	14400 × 2	10200	59	261 ± 23
poly(HEMA- <i>b</i> -4-octylstyrene- <i>b</i> -HEMA) ^b (Code No. IM-56B)	3100 × 2	6500	49	232 ± 8
polyurethane tube ^d (Code No. Pellethane 2363-80AE, Dow Chemical)	-	-	-	31 ± 4

^a All block copolymers were coated on inner surface of polyurethane tube (ID 1.5mm, Length 30 cm), and then evaluated.

^b Prepared by anionic living polymerization.

^c Prepared by addition reaction of telechelic oligomers.

^d Control sample.

8-4 親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造と血液適合性との関係

本節では親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造と血液適合性との関係について考察したい。

材料が生体と接触すると、材料表面はただちにタンパク質によって覆われ、その後、血小板、リンパ球などの細胞レベルでの反応が起こり、さらに血栓形成、炎症などの異物反応が生起する。即ち、材料表面が血液側に異物と認識される情報は吸着タンパク質を介して生体系に伝えられる。この情報伝達は具体的には吸着タンパク質の量、コンフォメーション変化、組成、配向、分布などであると考えられており、材料表面が生体に対して不活性であるためには、いかにして吸着タンパク質をコントロールするかが重要であると言われている。

優れた血液適合性を有する親水性-疎水性ブロック共重合体は血液と接触する際、生体側にどのような表面を提供しているのであろうか。血液と材料とのインターアクションは非常に複雑なシステムであることが予想され、それらを *in situ* に且つダイレクトにとらえることは不可能であると思われる。そこで我々は血液中での表面構造は水中でのそれと比較的類似していると判断し、水中での表面構造や水和に至る過程の動的な表面構造についてTEM観察による形態学的解析を中心に行ってきた。その結果、水中浸漬後の親水性-疎水性ブロック共重合体表面は親水性成分では完全に覆われていること、表面形状は疎水性成分のTgや分子骨格によって異なることを明らかにすることができた。poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)とHEMAホモポリマーでは血液適合性が異なることはすでに確認されており[2-6]、たとえ水和したブロック共重合体の最表面がポリHEMA層で完全に覆われていても、ミクロ相分離構造が血液適合性に関与していることは明らかである。これは、生体側は材料の最表面($\sim 1\text{ Å}$, outermost surface)のみでなく、比較的深い部分($\sim 10\text{ Å}$, subsurface)までを認識していることを示唆している。含水したポリHEMA層で覆われたミクロ相分離構造を有するsubsurfaceが吸着タンパク質を安定化させ、生体側への異物情報伝達を阻害していると予想している。

それでは、ミクロ相分離構造表面での安定した吸着タンパク層はどのように形成されるのだろうか。表面構造解析の結果から、親水性-疎水性ブロック共重合体の表面は外部環境の変化に応じて再構築することが明らかにされている。血液中のタンパク質や脂質成分には親水性部位と疎水性部位の両者が存在し、疎水性部位が材料表面に吸着すると、血液中であってもその部分は疎水性成分を表面に濃縮させようとするのではないだろうか。また、一方で親水性部位が吸着すれば、材料表面も親水性成分が表面に濃縮するであろう。即ち、タンパク質はブロック共重合体表面が常に不安定であるために長時間にわたって吸着することができず、脱着を繰り返す。よって表面は常にフレッシュなタンパク質、即ち変性していないタンパク質で覆われることになり、優れた血液適合性を発現できるのではないかと考えている。8-2章で述べた、埋入372日後の人工血管内面の吸着タンパク層の厚みが単層様であったことはこれを示唆するものと考えている。また、8-3-3章で述べた、EVM法やA-Aシャント法による血液適合性評価の結果では、疎水性成分の化学構造によって、有意な差ではないものの、わずかに血液適合性が異なることが示されている。第7章で述べたように、水和に至る動的な表面構造は疎水性成分の化学構造によって異なることが明らかにされており、血液適合性の僅かな差は動的な表面構造再構築の違いに起因するのではないかと考えている。

以上、一連の親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造解析結果と血液適合性との関係から、血液適合性には材料の極最表面 (outermost surface) のみでなくその直ぐ下に存在する層 (subsurface) の構造が重要であることが示唆された。しかし、生体はどの程度までの表面深さを認識できるのかについては理解できておらず、今後の大きな課題である。また、水和に至る過程での表面状態の変化の様子と血液適合性との関係から、表面構造の動的再構築が血液適合性発現の一因であることを予想することができた。しかし、これについては直接的な証拠がないため、今後のさらなる研究が期待される。

8-5 結論

本章では小口径人工血管へのpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の応用展開と、ポリHEMAを親水性成分とする一連の親水性-疎水性ブロック共重合体の血液適合性を*in vitro*評価法のひとつであるEVM法と*ex vivo*評価法であるA-Aシャント法から評価し、血液適合性材料としての可能性について検討した。その結果、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)を内面にコートした人工血管は1年以上の開存を示し、その内表面には血栓だけでなく偽内膜も全く存在しなかった。これより、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)は偽内膜を必要としないという新しい概念の人工血管用材料としての可能性が示された。

疎水性成分のTgを低下させることでpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)の欠点であった柔軟性の欠如を改良することに成功した。この新しいpoly(HEMA-*b*-isoprene-*b*-HEMA)やpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)は、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)と同等の血液適合性を有する材料であることを明らかにできた。

8-6 実験

8-6-1 人工血管のin vivo評価

人工血管作製： 我々の作製した人工血管は図8-1に示したように3層構造からなり、長さ=7cm、内径=3mmの小口径人工血管である。外層が血管周囲組織治癒促進と補強のためのポリエステル製編み物人工血管(蛇腹付き)、中間層が人工血管の内腔面を平滑にするためのポリウレタンコート層、内層が1~3 μm のpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)コート層である。尚、ここで、用いたブロック共重合体は末端に官能基を有するテレケリックオリゴマーの付加反応から合成されたブロック共重合体で、ポリHEMA成分とポリスチレン成分の分子量はそれぞれ10300($\times 2$)と12200、ポリHEMA成分の重量%が63wt%のものである(Code No. 70901)。

次に人工血管作製方法を詳しく述べる。シリコン滑材を塗布したSUS芯金($\phi 3\text{ mm}$)に約20cmのポリエステル人工血管を蛇腹をのばさないように被せ、185℃で10分間熱処理を行う。熱処理後、加熱溶解したパラフィンの入ったパンに人工血管を芯金ごと浸漬し、人工血管の外側全体にパラフィンをコーティングする。十分にパラフィンが硬化した後、芯金を人工血管からパラフィンを崩さないように慎重に抜き取り、血管内面に15~20wt%のポリウレタン溶液(Pellethane 2363-80AE, 溶媒: 1,4-ジオキサン)を6~7回コーティングし、60℃で一晩以上乾燥させる。乾燥後、人工血管外側のパラフィンを剥がし取り、さらにヘキサンでソックスレー洗浄し(48時間以上)、パラフィンを完全に洗い落とす。リーク試験に合格したPUコート人工血管の内側にブロック共重合体を3wt/vol%のDMF溶液から2回コーティングし、はじめに40℃で24時間の、続けて60℃で48時間以上の乾燥を行う。乾燥後、7cmにカットし、さらにEOGガス滅菌を施して完成とする。完成した人工血管は生理的食塩水に一晩浸漬してから植え込み手術に使用した。

人工血管埋入と摘出： 雑種成犬(10～15kg)5頭の左右頸動脈に上で用意した人工血管10本を埋入した。埋入はペントバルビタールナトリウムとヘパリン(100 U/kg)の静脈投与と吸入麻酔下で、6-0ポリプロピレン製縫合糸を用いて端々吻合した。縫合は連続縫合で10～12針であった。手術後は抗凝固剤を与えることなく、ドッグフードで飼育した。

各人工血管の摘出は術後7, 14, 30, 92, 372日目に術時同様の麻酔下で行った。但し、術中の血栓形成を避けるため、ヘパリン量のみ300 U/kgに増量した。人工血管を天然血管と共に摘出し、生理的食塩水で十分に洗浄し、Karnovsky溶液に4℃で12時間の固定を行った。

8-6-2 摘出人工血管の解析

摘出した人工血管に対して、1)病理学的解析、2)走査型電子顕微鏡(SEM)観察による内表面の観察、及び3)透過型電子顕微鏡(TEM)による吸着タンパク層の厚み測定を行った。それぞれの詳細は次のとおりである。

病理学的解析： Karnovsky溶液で固定後、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)(pH=7.4)による洗浄、エタノール系列での脱水を行った。吻合部と人工血管中央部をサンプリングしてパラフィン包埋後、切片の切り出しを行った。さらにヘマトキシリン&エオジン(H&E)で染色を施し光学顕微鏡で観察・解析した。

SEM観察： 病理学的解析と同様に脱水を行った人工血管をさらに臨界点乾燥した。血管内面を切り開いた後、専用試料台に載せ白金蒸着を行ってからSEM(JSM 35C, JEOL, Tokyo)で観察した。

TEM観察： Karnovsky溶液で固定した人工血管をPBS(pH=7.4)で洗浄後、人工血管中央部から約3mm四方にトリミングした試料をサンプリングした。試料を4%四酸化オスミウム水溶液に48時間浸漬し、吸着タンパク質の染色を行った後、凍結乾燥を施し、低粘性エポキシ樹脂(Spurr Resin, Nisshin-EM, Tokyo)で包埋した。超薄切片はダイヤモンドナイフ(刃角=35度)と専用ミクロトーム(2088V, LKB Ltd., Sweden)を用いて切り出した。観察には日本電子製TEM(JEM 1200-EX, JEOL, Tokyo)を用い、加速電圧80kVで行った。

8-6-3 曲げ試験

ブロック共重合体を外側表面にコートしたポリウレタンチューブを下に示した方法で作製し、直径約1cmの輪を結ぶようにチューブを曲げる。再び元の状態に戻し、曲げた部分のコート層の状態をSEM(JSM-840, JEOL, Tokyo)にて観察した。尚、観察は試料に白金を蒸着してから行った。

試料： セグメント化ポリウレタン(Pellethane 2363-80AE)から内径1.5mmのチューブを熔融成形し、それをブロック共重合体の1wt%DMF溶液中に浸漬した。浸漬後のチューブを室温で一晩静置し、さらに60℃で48時間以上の乾燥を行ってから曲げ試験に供した。曲げ試験を行ったブロック共重合体はpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)(Code No. 70901)、poly(HEMA-*b*-isoprene-*b*-HEMA)(Code No. IM-8B)、及び poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)(Code No. IM-56B)の3種類である。それぞれの詳細は表8-1に示したとおりである。

8-6-4 EVM法による*in vitro*評価

システム概要： 野尻らの開発したEVM法から*in vitro*評価を行った。はじめにフローチャンバーの模式図を図8-8に示す。フローチャンバーはアクリル製ベース(93×43×20 mm)、2枚のシリコーンゴム製ガスケット(Dow Corning, Midland, MI)、および試験材料をコートしたスライドガラス(75×25 mm)から構成される。ベース上部に57×7×0.25 mmのフローパスを設け、その周りに二重に溝をつくり2枚のシリコーンゴム製ガスケットを固定した。試験材料を内面にコートした塩化ビニル製チューブをフローチャンバーの入口及び出口スロットに接続した。血液はフローチャンバー側面からチューブ、入口スロットを経てフローパス部に入り、スライドガラスと平行に流れ、出口スロットを経てフローチャンバー側面のチューブへ導かれる。

EVM装置の概略図を図8-9に示す。装置は主に、蛍光顕微鏡、パラレルプレートフローチャンバー、ビデオカメラ、イメージプロセッサー、及びビデオレコーダーから構成される。パラレルプレートフローチャンバーを100W水銀ランプを光源に持つ落射蛍光装置付き光学顕微鏡(Microphot-FXA EPI-FL3, Nikon, Tokyo)のステージ上に置いた。透過率25%のN.D.(neutral density)フィルターを挿入することにより光の強度を調整した。励起には主波長436nmのBV(blue-violet)フィルターカセット(励起フィルター:400~440 nm, ダイクロイックミラー:455 nm, 接眼側吸収フィルター:470 nm)を用いた。試験材料をコートしたスライドガラスをフローチャンバーに装着した。また、同材料をコートした60cmの塩化ビニル製チューブ(内径:1.8 mm)を片端をフローチャンバーの入口スロットに、他端をシリンジポンプ(Model STC-521, Terumo Corp., Tokyo)に接続し、30cmの同チューブを出口スロットに接続して回路を組んだ。シリンジポンプによりフローチャンバー内に流入した血液中の蛍光標識血小板が試料表面に粘着する様子を経時的にカメラ、ビデオカメラ(Model C2400-08, 浜松ホトニクス、浜松)で撮影・観察した。ビデオカメラに取り込まれた情報をイメージプロセッサ(ARGUS-10, 浜

松ホトニクス、浜松)で画像処理した後、ビデオレコーダー(ER-S810, Victor, Tokyo)で録画した。尚、ビデオレコーダーの制御にはtime laps control (SIV-J, 三啓、東京)及びAV personal computer (HC-95, Victor, Tokyo)を用いた。

EVM装置に組み込んだフローチャンバーにPBS(pH=7.4)を37℃、ずり速度、 $\gamma_w=100\text{sec}^{-1}$ で1時間灌流した。健常者肘静脈よりヘパリン加血(2 U/mL)を採取し、終濃度5 μM となるよう mepacrine(図8-10に化学構造式を示した)を添加した後、37℃で30分間インキュベートして全血中の血小板を選択的に蛍光標識した。この血液を空気と接触することなくPBSと置換し、同流速($\gamma_w=100\text{sec}^{-1}$)で20分間フローチャンバーに灌流した。励起光を試験材料表面へ1分毎に2秒ずつ照射して、試験材料への血小板粘着の様子を経時的に観察した。血小板粘着量の経時変化はビデオテープから画像解析器(TOSPIX-U, TOSHIBA, Tokyo)に入力し、材料表面積(0.03 mm²)に対する粘着血小板の占有面積比で算出した。灌流後は再びPBSに置換して回路内の血液を十分に洗浄した後、フローチャンバーに装着していたスライドガラスをKaronovsky溶液中に12時間、4℃で浸漬し粘着血小板の固定を行った。固定後、凍結乾燥を行い、さらに白金蒸着後に走査型電子顕微鏡(SEM, JSM-840, JEOL, Tokyo)にて材料表面に粘着した血小板の形態を観察した。

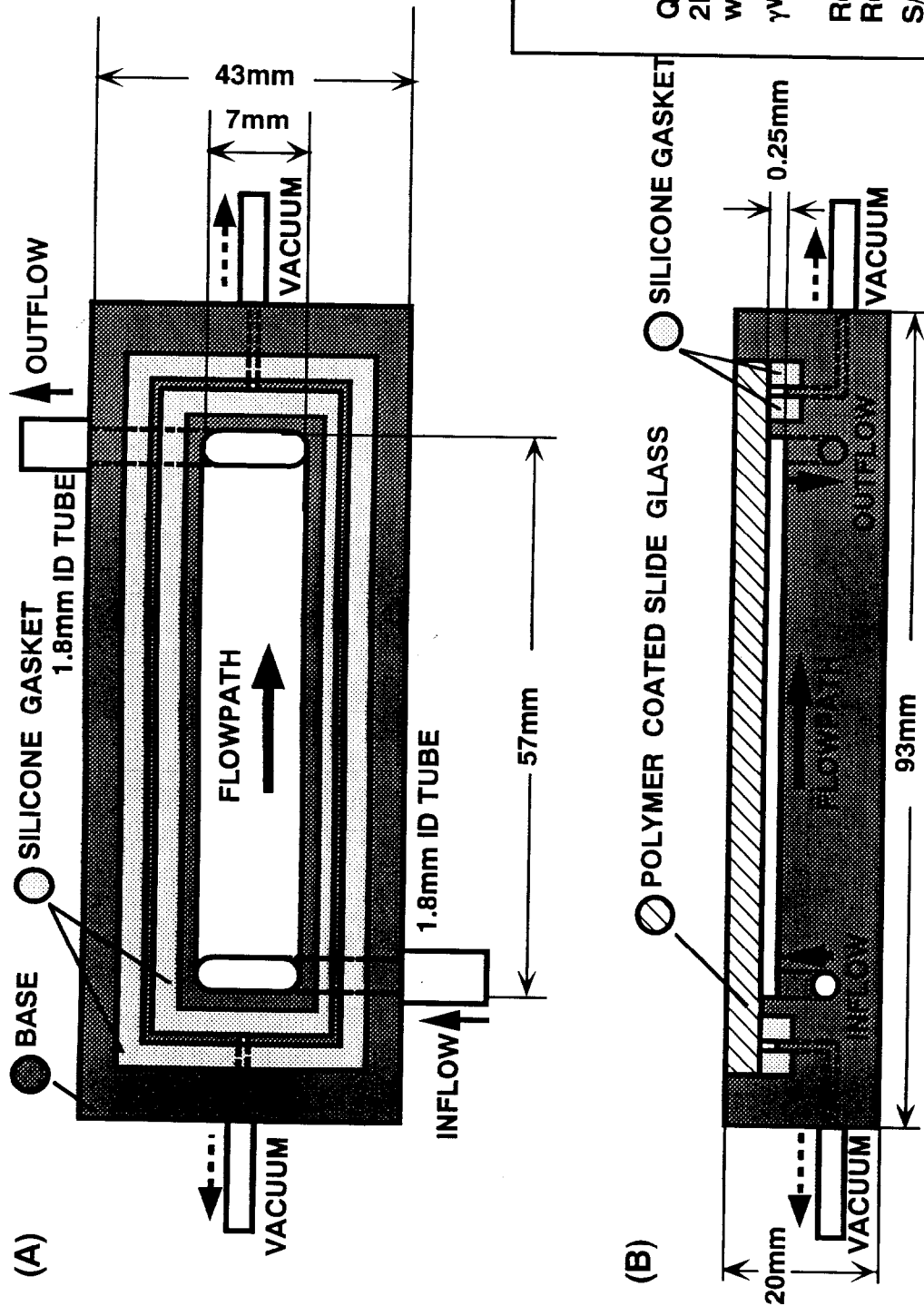
試料：評価に用いたブロック共重合体はpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)(Code No. 70901)及び2種類のpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)(Code No. IM-56B, IM-41B)である。それぞれのブロック共重合体の詳細は表8-1に示したとおりである。これらに比較試料として、ポリエーテル型セグメント化ポリウレタン(Pellethane 2363-80AE, Dow Chemical)を加えた計4種類の試料のEVM評価を行った。

それぞれのポリマーをDMF溶液(1 wt/vol%)からスライドガラス及び塩化ビニルチューブにコーティングした。コーティング後、60℃で48時間以上の乾燥を行ったものをEVM評価に用いた。

8-6-5 A-Aシャント法によるex vivo評価

シャントモデル： 家兎(体重：2～3kg)の左頸動脈をケタミン麻酔下で慎重に露出させ、試料をコーティングしたチューブでシャントを形成させる。末梢側血管をクランプではさみ血流量が2.5 mL/minとなるよう調整し、閉塞するまでの時間を測定した。血流量測定には超音波血流計(T201, Transonic System, Ithaca, NY)を用い、血流量がゼロになるまで連続的にモニタリングした。尚、閉塞時間は血流量がゼロになった時間と定義した。

試料： ポリHEMAを親水性成分とする3タイプの親水性-疎水性ブロック共重合体について評価を行った。尚、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)については重合方法の異なる、poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA)については分子量の異なる、それぞれ2種類のポリマーを用意した。各試料の詳細は表8-1に示したとおりである。セグメント化ポリウレタン(Pellethane 2363-80AE, Dow Chemical)から熔融成形したチューブ(内径：1.5 mm)をシャントチューブ用基材とした。各ブロック共重合体のDMF溶液(1wt/vol%、但し、poly(HEMA-*b*-isoprene-*b*-HEMA)はTHFとMeOHの混合溶液(5/1, v/v))からチューブ内面にブロック共重合体をコートし、60℃で48時間以上乾燥させた。さらに長さを30cmにそろえ、両端は血管内に挿入しやすいよう45度に切断したものにエチレンオキサイドガス(EOG)滅菌を施し、生理的食塩水中に一晚浸漬したものをシャントに用いた。尚、コーティングを施さなかったPellethaneチューブについても比較試験として同様の評価を行った。



$$\gamma_w = \frac{3Q}{2wh^2}$$

Q : Flow rate [cm³/sec]
 $2h$: Channel height [cm]
 w : Channel width [cm]
 γ_w : Wall shear rate [sec⁻¹]

Re. Number=3.08
 Retention time=6.85[sec]
 $S/V=13.7$ [cm²/cm³]

Figure 8-8. A schematic illustration of the flow chamber. Flow regimen is summarized. (A) top view, (B) side view.

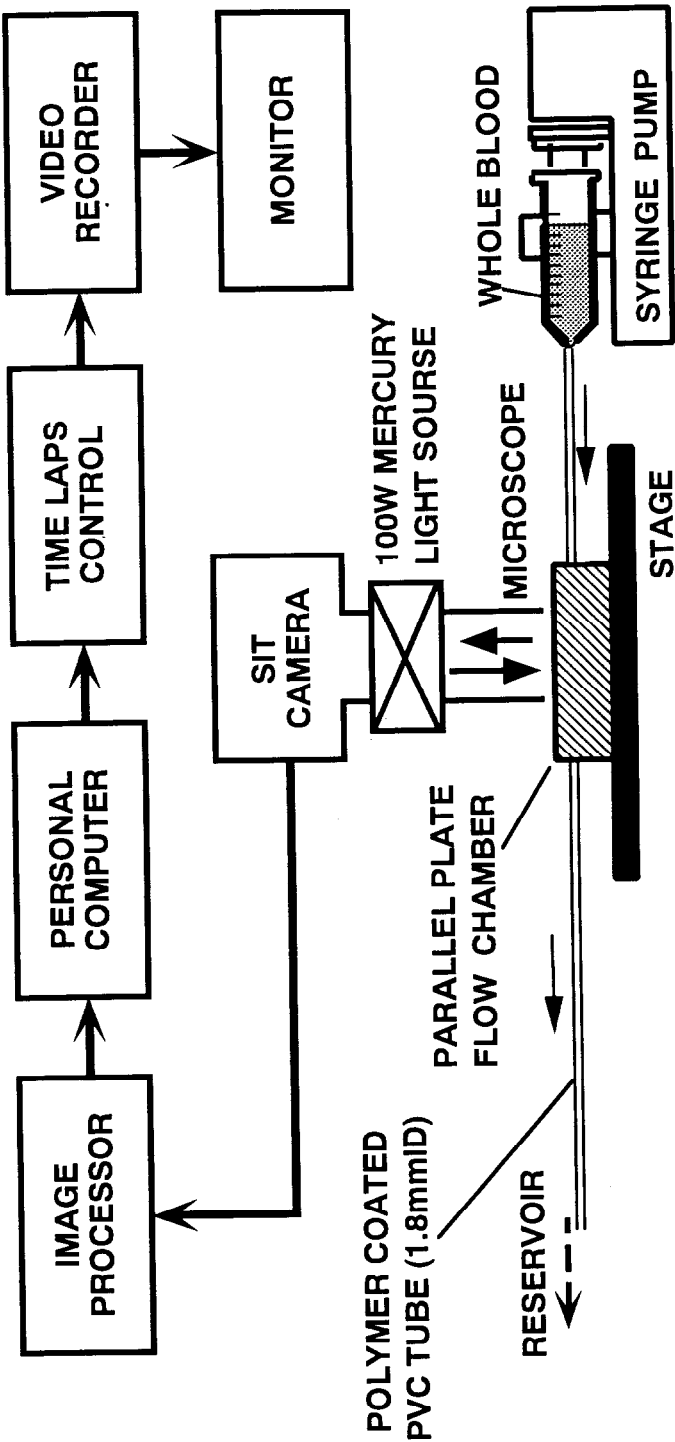


Figure 8-9. A schematic illustration of the epifluorescent video microscope (EVM) with the flow chamber.

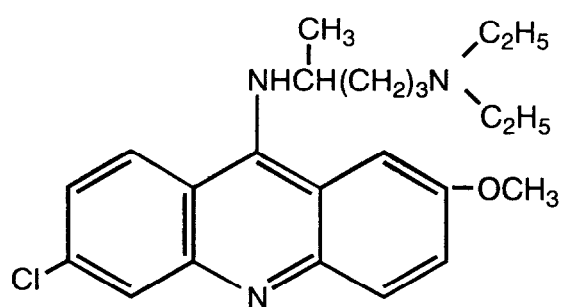


Figure 8-10. Chemical structure of mepacrine.

参考文献

- 1) A. B. Voorhees, A. Jaretski, A. H. Blakemore, *Ann Surg.*, **135**, 332 (1952)
- 2) T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, T. Akaike, Y. Sakurai, K. Kataoka, T. Tsuruta, *J. Biomed. Mater. Res.*, **15**, 393 (1981)
- 3) T. Okano, T. Aoyagi, K. Kataoka, K. Abe, Y. Sakurai, M. Shimada, I. Shinohara, *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, 919 (1986)
- 4) C. Nojiri, T. Okano, D. Grainger, K. D. Park, S. Nakahama, K. Suzuki, S. W. Kim, *Trans ASAIO*, **33**, 596 (1987)
- 5) 阿部一彦, 関口守衛, 片岡一則, 岡野光夫, 桜井靖久, 明見 仁, 篠原 功, *人工臓器*, **17**, 495 (1988)
- 6) C. Nojiri, T. Okano, H. A. Jacobs, K. D. Park, S. F. Mohammad, D. B. Olsen, S. W. Kim, *J. Biomed. Mater. Res.*, **24**, 1151 (1990)
- 7) T. Okano, K. Suzuki, N. Yui, Y. Sakurai, S. Nakahama, *J. Biomed. Mater. Res.*, **27**, 1519 (1993)
- 8) 松田武久, 医用高分子に対する生体反応とその評価法, 第4回医用高分子研究会講座要旨集, 1987, p48
- 9) K. Kataoka, M. Maeda, T. Nishimura, Y. Nitadori, T. Tsuruta, T. Akaike, *Makromol. Chem.*, **181**, 1363 (1980)
- 10) M. B. Lawrence, L. V. McIntire, S. G. Eskin, *Blood*, **70**, 1284 (1987)
- 11) N. Kawagoishi, C. Nojiri, K. Senshu, T. Kido, H. Nagai, T. Kanamori, K. Sakai, H. Koyanagi, T. Akutsu, *Artif. Organs*, **18(8)**, 588 (1994)
- 12) S. Kuroda, C. Nojiri, T. Kido, K. Senshu, H. Nagai, H. Koyanagi, K. Sakai, T. Akutsu, in *Artificial Hearts 5*, eds: T. Akutsu, H. Koyanagi, Springer-Verlag: Tokyo, 1996, p21

第9章 総括

本研究では、種々の親水性-疎水性ブロック共重合体のさまざまな環境下での表面状態を詳細に解析することにより、表面構造や外部環境変化に応答した表面構造再構築の様子とポリマーの一次構造との関係について明らかにすることを試みた。さらに、親水性-疎水性ブロック共重合体の医用材料としての可能性を評価し、血液適合性という材料表面が発現する機能とその機能発現のメカニズムとの関係について考察した。

第1章「序論」では、本研究に関連した過去の表面構造解析と医用材料開発に関する研究例をまとめ、本研究の位置づけを行うと共に、表面構造や環境変化に応答した表面構造再構築の様子とポリマーの一次構造との関係、さらに血液適合性という材料表面が発現する機能と表面構造との関係を明らかにすることの意義について述べた。また、さまざまな表面解析手法についてまとめ、本研究の中心である透過型電子顕微鏡(TEM)観察の表面解析法としての有用性と、複数の表面解析手法を組み合わせることの重要性について述べた。最後に本研究に用いたブロック共重合体の種類と表面構造解析法を紹介した。

第2章「合成方法の異なる2種類の2-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の表面構造」では、末端に官能基を有するテレケリックオリゴマーの付加反応から合成されたセグメント間にウレア結合を有するpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)(T-HS)と、アニオンリビング重合法から合成された各セグメントが直接連結されたpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)(L-HS)の表面構造についてTEM観察と接触角測定から検討した。その結果、セグメント間のウレア結合存在の有無によって表面構造が異なることを明らかにできた。詳しくは、L-HSでは製膜直後のフィルム最表面はポリスチレン層でほぼ完全に覆われていることを、T-HSのフィ

フィルム最表面にはポリスチレンがわずかに濃縮しているもののポリHEMA成分も存在することを断面TEM像の解析から明らかにできた。また、水中浸漬によって両フィルムの最表面は疎水性ドメインから親水性ドメインに入れ替わるという環境変化に応答した再構築を示すが、濡れた状態から乾燥状態への表面構造再構築はL-HSでのみ認められ、T-HISフィルム表面は親水性を保っていることが接触角測定からわかった。さらに動的接触角測定からT-HSはL-HSよりも短時間で平衡に達することを確認できた。

試料の調製法を工夫することで水中浸漬後のフィルム最表面の様子をTEM観察から視覚的にとらえることが可能であった。これより、水中浸漬による構造の再構築はフィルム最表面のみで認められ、バルクのミクロ相分離構造は常に維持されていることを明らかにできた。

第3章「HEMA/イソプレンプロック共重合体の表面構造とその環境応答性」ではT_gが室温以下で、且つ分子構造がコンパクトなポリイソプレンを疎水性成分としたブロック共重合体の表面構造についてTEM観察、接触角測定、及びXPS測定から検討した。その結果、炭素-炭素二重結合をモノマー単位に有するポリイソプレンは四酸化オスミウムでの固定・染色が短時間で完了することが確認され、水和過程における秒オーダーでの表面構造の再構築の様子をTEM観察により視覚的にとらえることが可能であった。また、環境変化に応答した表面構造の再構築は水酸基や α -メチル基のような官能基が主鎖を中心として回転するようなミクロな運動によって起こるのでなく、分子鎖の集合体がフィルム最表面を移動するというマイクロドメインスケールでのマクロな運動によって起こることを明らかにできた。さらには、室温以下のT_gを有する疎水性成分を含むブロック共重合体は室温以上のT_gを有するブロック共重合体に比べて環境変化に対する応答性が俊敏であることを明らかにできた。

第4章「2,3-ジヒドロキシプロピルメタクリレート(DIMA)/イソプレンプロック共重合体の表

面及びバルクの構造解析」では、水に可溶なポリDIMAを親水性成分としたブロック共重合体の環境変化に応答した再構築の様子についてTEM観察から検討した。その結果、poly(DIMA-*b*-isoprene)は製膜直後のフィルムはラメラ状マイクロ相分離構造を有し、且つ最表面は疎水性成分であるポリイソプレン層で完全に覆われているが、水中浸漬によって、フィルム最表面がポリDIMA層に入れ替わるだけでなくバルクのマイクロ相分離構造もラメラ状から海島状(ポリDIMA：マトリックスドメイン)に変化することがわかった。即ちpoly(DIMA-*b*-isoprene)では環境変化に応答したマイクロ相分離構造の再構築が表面とバルクの両方で同時に起こることを明らかにできた。

第5章「ポリ(4-オクチルスチレン)を疎水性成分とするブロック共重合体の表面構造解析」ではポリイソプレン同様にT_gは室温以下であるが、分子骨格が大きいポリ(4-オクチルスチレン)を疎水性成分としたpoly(HEMA-*b*-4-octylstyrene)とpoly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)の表面構造についてTEM観察から検討した。その結果、その他の親水性-疎水性ブロック共重合体同様に、製膜直後にはフィルム最表面に疎水性成分が濃縮していることを、水中浸漬によってフィルム最表面は親水性成分に入れ替わることを明らかにできた。また、poly(DIMA-*b*-4-octylstyrene)ではpoly(DIMA-*b*-isoprene)で認められた水中浸漬による表面とバルク両者のマイクロ相分離構造再構築は観察されず、マイクロドメインスケールでの運動性にはT_gのみでなく、分子骨格も大きく影響することを明らかにできた。

第6章「HEMA/4-(7'-オクテニル)スチレンブロック共重合体のモルフォロジーと環境変化に応答した表面構造の再構築との関係」では、組成比の異なる3種類のブロック共重合体の表面構造解析をTEM観察、接触角測定、及びXPS測定から行い、バルク中のマイクロ相分離構造のモルフォロジーと表面構造との関係について検討した。その結果、ラメラ状もしくは親水性成分がマトリックスの海島状マイクロ相分離構造を有するブロック共重合体では環境変化に応答した表面構造の再

構築が繰り返し起こることを、乾燥状態から水和状態への再構築は俊敏であるのに対し、水和状態から乾燥状態への再構築には時間を要することがわかった。特に水和状態から乾燥状態へのアニリングによる表面構造再構築はラメラ状マイクロ相分離構造を有するブロック共重合体よりも親水性成分がマトリックスの海島状のブロック共重合体の方が短時間で完了することを明らかにできた。

製膜直後には平坦であったフィルム最表面の形態が短時間の水中浸漬によってテラス状に変化し、さらに水中浸漬することで再び平坦に戻ったことから、表面構造の再構築時のマイクロドメインの動きを模式的に考察することができた。

疎水性成分がマトリックスの海島状マイクロ相分離構造を有するブロック共重合体の表面は、いかなる環境下においても疎水性のままであり、環境変化に応答した表面構造の再構築を示さないことを明らかにできた。

第7章「種々の親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造の比較」では、一連の親水性-疎水性ブロック共重合体の表面構造や環境変化に応答した表面構造再構築の様子を比較し、各成分が表面状態に及ぼす影響について検討した。その結果、いずれの親水性-疎水性ブロック共重合体表面においても製膜直後には疎水性成分が、水中浸漬後には親水性成分が濃縮しており、各成分の化学構造の違いは静的な表面構造にはほとんど反映しないことがわかった。しかし、その過程である動的な表面構造再構築の様子は顕著に異なり、親水性成分の水に対する溶解性や吸湿性、疎水性成分のTgや分子骨格が大きな影響を及ぼすことを明らかにできた。

第8章「親水性-疎水性ブロック共重合体の血液適合性とその応用」ではpoly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)から小口径人工血管を作製し、*in vivo*での長期開存性を確認した。その結果、1年以上の開存を認めることができた。また、人工血管の内表面に付着した吸着タンパク層の厚み

を測定した結果、埋入1年を経た人工血管においても200 Å以下であり単層様の吸着であることを明らかにできた。これらのことから、poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)を内面にコートした人工血管は、偽内膜形成を必要としない新しい概念の小口径人工血管として優れた性能を有することを明らかにできた。

ポリ HEMA を親水性成分とする poly(HEMA-*b*-styrene-*b*-HEMA)、poly(HEMA-*b*-isoprene-*b*-HEMA)、及び poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA) の EVM 法による *in vitro* 評価、及び A-A シェント法による *ex vivo* 血液適合性評価を行い、これらブロック共重合体の医用材料としての可能性について検討した。その結果、いずれのブロック共重合体も非常に優れた血液適合性を示すことがわかった。特に poly(HEMA-*b*-isoprene-*b*-HEMA) 及び poly(HEMA-*b*-4-octylstyrene-*b*-HEMA) はすぐれた柔軟性を示し、新規血液適合性材料として大きな可能性を有することを明らかにできた。

第9章「総括」では本研究をまとめた。

List of Publication

Articles:

- 1) "A New Amphiphilic Block Copolymer with Improved Elastomeric Properties for Application in Various Medical Devices" C. Nojiri, S. Nakahama, K. Senshu, T. Okano, N. Kawagoishi, T. Kido, K. Sakai, H. Koyanagi, T. Akutsu, *ASAIO J.*, **39**, 322 (1993) (Capter 8)
- 2) "Surface Characterization of 2-Hydroxyethyl Methacrylate/Styrene Block Copolymers by Transmission Electron Microscopic Observation and Contact Angle Measurement" K. Senshu, S. Yamashita, M. Ito, A. Hirao, S. Nakahama, *Langmuir*, **11**, 2293 (1995) (Capter 2)
- 3) "Nonthrombogenic Vascular Prosthesis" C. Nojiri, K. Senshu, T. Okano, *Artif. Organs*, **19**, 32 (1995) (Capter 8)
- 4) "Time-Resolved Surface Rearrangement of Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate-*block*-Isoprene) Diblock Copolymer in Response to Environmental Changes" K. Senshu, S. Yamashita, H. Mori, M. Ito, A. Hirao, S. Nakahama, *Langmuir*, **15**, 1754 (1998) (Capter 3)
q
- 5) "Relationship between Morphology of Microphase-Separated Structure and Phase-Restructuring at the Surface of Poly[2-Hydroxyethyl Methacrylate-*block*-4-(7'-octenyl)styrene] Diblock Copolymers Corresponding to Environmental Change" K. Senshu, M. Kobayashi, N. Ikawa, S. Yamashita, A. Hirao, S. Nakahama, *Langmuir*, **15**, 1763 (1998) (Capter 6)
q
- 6) "In Vitro Evaluation of Platelet/Biomaterial Interactions in an Epifluorescent Video Microscopy Combined with a Parallel Plate Flow Cell" N. Kawagoishi, C. Nojiri, K. Senshu, T. Kido, H. Nagai, T. Kanamori, K. Sakai, H. Koyanagi, T. Akutsu, *Artif. Organs*, **18**, 588 (1994) (Not included in this thesis)
- 7) "In Vitro Evaluation of Platelet/Biomaterial Interactions in an Epifluorescent Video Microscopy Combined with a Parallel Plate Flow Chamber" N. Kawagoishi, C. Nojiri, T. Kido, K. Senshu, T. Kanamori, K. Sakai, *Jpn. J. Artif. Organs*, **23(3)**, 564 (1994) (Not included in this thesis)
- 8) "Synthesis and Surface Characterization of Hydrophilic-Hydrophobic Block Copolymers Containing Poly(2, 3-dihydroxypropyl methacrylate)" H. Mori, A. Hirao, S. Nakahama, K. Senshu, *Macromolecules*, **27**, 4098 (1994) (Not included in this thesis)

- 9) "Evaluation of Blood Compatibility of Six Different Polyurethans using An Epifluorescent Video Microscopy" S. Kuroda, C. Nojiri, T. Kido, K. Senshu, H. Nagai, K. Sakai, *Jpn. J. Artif. Organs*, **24(1)**, 59 (1995) (Not included in this thesis)
- 10) "In Vitro Studies of Heparin Immobilized and Sulfonated Polyurethane using Epifluorescent Video Microscopy" C. Nojiri, S. Kuroda, N. Saito, K. D. Park, K. Hagiwara, K. Senshu, T. Kido, T. Sugiyama, T. Kijima, Y. H. Kim, K. Sakai, T. Akutsu, *ASAIO J.*, **41**, 389 (1995) (Not included in this thesis)
- 11) "Novel Functional Polymers: Poly(dimethylsiloxane)-Polyamide Multiblock Copolymer VI. A Transmission Electron Microscopic Study on Microphase-Separated Structure in Aramid-Silicone Resin" T. Furuzono, K. Senshu, A. Kishida, T. Matsumoto, M. Akashi, *Polym. J.*, **29**, 201 (1997) (Not included in this thesis)
- 12) "Novel Functional Polymers: Poly(dimethylsiloxane)-Polyamide Multiblock Copolymer VIII. Surface Characterization of Aramid-Silicone Resin by means of XPS, static SIMS, and TEM" K. Senshu, T. Furuzono, N. Koshizaki, S. Yamashita, T. Matsumoto, A. Kishida, M. Akashi, *Macromolecules*, **30**, 4421 (1997) (Not included in this thesis)
- 13) "Polyether-Segmented Nylon Hemodialysis Membrane. VI. Effect of Polyether Segment on Morphology and Surface Structure of Membrane" A. Mochizuki, K. Senshu, Y. Seita, T. Fukuoka, S. Yamashita, N. Koshizaki, *J. Appl. Polym. Sci.*, **69**, 1645 (1998) (Not included in this thesis)

Books and Preprints;

- 1) "Improved Patency of HEMA-Styrene Block Copolymer-Coated Small Vessel Prosthesis Without Neointima Formation" C. Nojiri, T. Okano, N. Takemura, K. Senshu, T. Kido, H. Koyanagi, S. W. Kim, T. Akutsu, in *Artificial Hearts 4*, T. Akutsu, H. Koyanagi (eds), Springer-Verlag: Tokyo, 1993, p53
- 2) "Phase Restructuring at the Surface of the Hydrophilic-Hydrophobic Block Copolymers Corresponding to the Environmental Change" S. Nakahama, A. Hirao, H. Mori, K. Senshu, *Polym. Prep.*, **36**, 57 (1995)

- 3) "Surface Characterization of HEMA-Styrene Block Copolymer using Transmission Electron Microscopy" K. Senshu, C. Nojiri, T. Kido, S. Yamashita, A. Hirao, S. Nakahama, in *Advanced Biomaterials in Biomedical Engineering and Drug Delivery Systems*, Ogata, N.; Kim, S. W.; Feijen J.; Okano, T. (eds), Springer-Verlag: Tokyo, 1996, p261

- 4) "Improved Nonthrombogenicity of Heparin Immobilized and Sulfonated Polyurethane: In Vitro Evaluation using Epifluorescent Video Microscopy" C. Nojiri, S. Kuroda, T. Kido, K. Hagiwara, K. Senshu, K. D. Park, Y. H. Kim, K. Sakai, T. Akutsu, in *Advanced Biomaterials in Biomedical Engineering and Drug Delivery Systems*, Ogata, N.; Kim, S. W.; Feijen J.; Okano, T. (eds), Springer-Verlag: Tokyo, 1996, p247

- 5) "In Vitro Evaluation of Six Different Segmented Polyurethanes and HEMA/St Block Copolymer Using Epifluorescent Video Microscopy" S. Kuroda, C. Nojiri, T. Kido, K. Senshu, H. Nagai, H. Koyanagi, K. Sakai, T. Akutsu, in *Artificial Hearts 5*, T. Akutsu, H. Koyanagi (eds), Springer-Verlag: Tokyo, 1996, p21

- 6) "Surface Properties of Aramid-Silicone Resin" M. Akashi T. Furuzono, K. Senshu, A. Kishida, T. Matsumoto, in *Advances in Polymeric Biomaterials Science*, T. Akaike, T. Okano, M. Akashi, M. Terano, N. Yui (eds), CMC Co LTD, Tokyo, 1997, p33

- 7) "透過型電子顕微鏡による表層部断面観察" 千秋和久, 新しい自己組織化ポリマー表面の解析及び機能設計, 寺野 稔, 由井伸彦(編集), CMC出版, 東京, 1999 , p43

謝辞

本研究を行うにあたり、終始適切なご指導・ご助言を頂きました
東京工業大学教授 中浜精一 先生

に深く感謝いたします。

本論文審査にあたり、ご指導・ご助言を頂きました
東京工業大学教授 野瀬卓平 先生
同教授 石津浩二 先生
同教授 平尾 明 先生
同助教授 手塚育志 先生

に深く感謝いたします。

本研究を進める機会を与えて下さった
(元)テルモ株式会社 研究開発センター主席研究員

山下修蔵 博士

に深く感謝いたします。

本研究を進めるにあたり、*in vivo*, *ex vivo*, *in vitro*実験にご指導・ご助言を頂きました
テルモ株式会社 研究開発センター主任研究員

野尻知里 博士

に深く感謝いたします。

貴重なポリマーをご提供頂きました石曾根 隆博士、永岡通宏氏(現三菱化学)、伊藤光則氏(現出光石油化学)、森 秀晴博士(現北陸先端技術大学院大学)、小林元康氏、早川(旧姓：伊香輪)典子氏(現東京国立文化財研究所)をはじめとする東京工業大学中浜・平尾研究室の方々に深く感謝します。

EVM実験にご協力頂きました、早稲田大学酒井研究室・皮籠石信親氏(現東燃化学)、黒田 茂氏(現花王)に深く感謝します。

種々の面にわたってご助言・ご指導・ご協力頂きました佐藤真知子技官、竹中克彦博士(現長岡技術科学大学)、石曾根隆博士、岩崎克彦博士(現住友化学)、森秀晴博士(現北陸先端技術大学院大学)をはじめとする東京工業大学中浜・平尾研究室の方々に心から感謝します。

本研究を進めるにあたり、終始温かい目で見守って下さったテルモ株式会社 研究開発センター部長代理 佐渡峯生氏、主任研究員 中橋敬輔氏をはじめとする、物理・化学評価センターの方々に感謝します。

最後に日常の生活を支えてくれただけでなく、日々叱咤激励してくれた妻 修子に心から感謝する。

平成11年2月

千秋和久