

審査の結果の要旨

氏名 陸洲

細菌の吸着、引き続き起こるバイオフィルムの形成は、衛生用品、食品・海洋産業、さらに医療デバイスの分野において重篤な問題である。バイオフィルムの形成を抑制するためには、材料表面に細菌が接着する初期プロセスを抑制することが必要となる。そのためには、細菌表面のタンパク質と材料表面の相互作用を解析し、接着抑制可能な材料を設計することが解決策となる。双性イオン性ポリマーは、タンパク質の吸着を抑制できる有用な材料である。その中でも、細胞膜を模倣したリン脂質ポリマーである **2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)** ポリマーは、細菌の接着抑制できる優れた性質をもつことで知られている。しかし、細菌吸着は複雑であり材料の化学的、物理的性質に影響されるため、それらを複合的に考慮し詳細な材料表面を創製しなくてはならない。本研究は、リン脂質ポリマーを表面修飾用材料として選択し、細菌の初期接着を化学的に抑制できるだけでなく、物理的、つまり機械的に抑制できる性質を探り、さらにリン脂質ポリマーに抗菌性を付与した表面を提案することを目的とした。第 1 章ではこれらの背景をまとめている。

第 2 章では、薄膜の厚さと剛性が可変な、架橋型リン脂質ポリマーとして、MPC, 3-methacryloxypropyl trimethoxysilane (MPTMSi), 3-(methacryloyloxy) propyl-tris(trimethylsilyloxy) silane (MPTSSi) で構成される共重合体 (PMMMSi) を合成した。PMMMSi をガラスの表面にディップコーティングをし、コーティング溶媒の濃度を変化させることで、水中で数 nm から 90 nm の膜厚で可変なことを確認した。また、表面の凹凸を原子間力顕微鏡 (AFM) で、ぬれ性を接触角で、表面元素組成を X 線光電子分光法 (XPS) で評価し、各表面で、表面の物理化学的性質がほぼ同様であることを確認した。一方、水中での機械的性質である剛性を AFM で評価し、膜厚が厚くなると、剛性が下がることがわかった。膜厚、剛性の異なる PMMMSi 薄膜の表面での、グラム陽性菌である黄色ブドウ球菌、グラム陰性菌である緑膿菌の接着を、24 時間以内の初期において評価した。黄色ブドウ球菌の初期接着は PMMMSi 薄

膜の剛性に依存し、剛性が低く、つまり柔らかい材料では、バクテリア吸着が抑制されることを確認した。緑膿菌においては、PMMMSi 薄膜の剛性に強く依存することはなかった。また、バクテリアの吸着は培地中のタンパク質の吸着にも依存するため、PMMMSi 薄膜へのタンパク質吸着を、水晶振動子マイクロバランス法(QCM)で評価した。薄膜が 10 nm から 90 nm 程度の領域では、タンパク質の吸着はほぼ同様に抑制できることが示された。したがって、黄色ブドウ球菌は、PMMMSi 薄膜表面のタンパク質吸着状態が同じであっても、膜厚変動に伴う機械的性質に影響をうけることを明らかにした。

第 3 章では、膜厚、機械的性質が異なる PMMMSi 薄膜における黄色ブドウ球菌の吸着力を、マイクロ流路構造を用いて評価するシステムを構築した。マイクロ流路は、ポリジメチルシロキサン(PDMS)を用い、ガラス基板に PMMMSi 薄膜を形成して作製した。このマイクロ流路を用いると、流速を変化させることで、せん断応力を 1 Pa- 3 Pa で変化させることができる。培地中のタンパク質吸着の影響を除くためリン酸緩衝液を培地に用い、黄色ブドウ球菌を吸着させたのち、流体を駆動させせん断応力を印加した。結果、黄色ブドウ球菌の吸着力は、PMMMSi が厚く剛性が低い表面で弱いことが明らかになった。タンパク質の影響を排除したシステムで評価を行ったため、PMMMSi 薄膜の剛性がバクテリアの吸着力の大小を支配していることを示せた結果である。

第 4 章では、PMMMSi 薄膜に膜破壊機能をもつ抗菌性ペプチドを固定させ、バクテリア吸着とバクテリアの生死を評価した。抗菌性ペプチドの固定化は、3-aminopropyl)triethoxy silane (ATPSi)を用い、PMMMSi 薄膜に化学固定した。PMMMSi に ATPSi の固定、抗菌性ペプチドの固定を XPS と、QCM を用いて確認した。黄色ブドウ球菌は、抗菌性ペプチド固定化 PMMMSi 薄膜では、PMMMSi 薄膜より若干吸着量が増加するが、効果的に吸着したバクテリアを死滅させることが示された。

第 5 章は、以上の研究をまとめている。架橋型リン脂質ポリマーである PMMMSi は、ガラス基板へ薄膜形成が可能であり、膜厚と剛性が可変な性質をもつ。この PMMMSi 薄膜は、グラム陽性、陰性菌である黄色ぶどう球菌と緑膿菌の接着を抑制した。またバクテリア接着は、タンパク質の吸着量に依存するだけでなく、薄膜の機械的性質にも依存して抑制できることを明らかにした。さらに、バクテリアの材料表面への吸着力を、マイクロ流路を用いて評価できるシステムを構築した。PMMMSi 薄膜と抗菌性ペプチドの複合化で抗菌力増大を示した。

以上の研究から、バクテリア初期接着を防ぐ材料設計指針につながり、バイオマテリアル研究の発展に寄与するものと期待される。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。