

200718057A

厚生労働科学研究費補助金

基礎研究成果の臨床応用推進研究事業

新しいマテリアル創製を基盤とする
運動器疾患治療法の開発

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 川口浩

平成20（2008）年 4月

目次

I.	総括研究報告	
	新しいマテリアル創製を基盤とする運動器疾患治療法の開発	1
	川口浩	
II.	分担研究報告	
1.	MPC ポリマーゲル合成の至適条件の決定	17
	— ポリマー分子構造の規格化 —	
	石原一彦	
2.	MPC ポリマーゲル合成の至適条件の決定	25
	— 性状変化と解離速度の検討 —	
	金野智浩	
3.	マウス変形性関節症（OA）モデルを用いた関節潤滑機構改善効果の検討	33
	高取吉雄・茂呂徹	
4.	鶏屈筋腱損傷モデルを用いた組織癒着防止効果の検討	43
	川口浩・三浦俊樹	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	57
IV.	研究成果の刊行物・別刷	59

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書

新しいマテリアル創製を基盤とする運動器疾患治療法の開発

主任研究者 川口浩（東京大学医学部附属病院 准教授）

研究要旨：生体適合性高分子材料 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) ポリマーを用いた生体内解離性ハイドロゲル (MPC ポリマーゲル) による新規運動器疾患治療法を開発するため、① MPC ポリマーゲル合成の至適条件の決定、② 変形性関節症 (OA) モデルを用いた関節潤滑機構改善効果の検討、③ 屈筋腱損傷モデルを用いた組織癒着防止効果の検討、を行った。

MPC ポリマーゲル合成の至適条件の決定では、工学的パラメーターを設定し、合成至適条件を検討したところ、水溶性を確保するためには MPC ユニットとして、望ましくは 60 mol%以上必要であることが判明した。また、重合開始剤の種類によって得られるポリマーの分子量を容易に制御することに成功した。さらに、MPC ポリマーゲルは生体親和性が高く、力学特性・解離速度の制御も可能であることがわかった。

変形性関節症 (OA) モデルを用いた関節潤滑機構改善効果の検討では、Ball-on-Flat 型摩擦試験機およびマウス変形性関節症モデルでの検討を行ない、MPC ポリマーゲルの投与により関節面の静摩擦係数、動摩擦係数がともに改善し、その効果は添加剤を加えても影響を受けないことが判明した。

屈筋腱損傷モデルを用いた組織癒着防止効果の検討では、ラットアキレス腱損傷モデルを確立し、このモデルにおいて、MPC ポリマーゲルが腱組織の修復を阻害することなく、周囲組織と腱との癒着を有意に抑制することを確認した。また、次年度に向けて、鶏の屈筋腱を用いた腱損傷モデルも確立した。

以上の研究成果は、新しいマテリアル創製を基盤とする運動器疾患治療法の開発を推進しうるものであり、MPC ポリマーゲルの臨床応用が期待できる内容であった。

分担研究者

石原一彦	（東京大学大学院工学系研究科 教授）
高取吉雄	（東京大学大学院医学系研究科 特任教授）
茂呂徹	（東京大学大学院医学系研究科 特任准教授）
三浦俊樹	（東京大学医学部附属病院 助教）
金野智浩	（東京大学大学院工学系研究科 助教）

A. 研究目的

医療の進歩と生活環境基盤の整備により日本人の平均寿命は男性・女性共に世界一となっており、日本は世界に例を見ない高齢社会となったが、支援や介護を要する高齢者が急激に増加傾向を示してきている。生命活動を維持する臓器のみの機能が保たれていても、運動器による意図的な身体活動が制限されているのであれば QOL を保つことはできず、長寿と QOL の維持・改善の両立が求められている。平成 16 年度の厚生労働省の国民生活調査によると、支援や介護を要する高齢者の中で「関節疾患」・「骨折・転倒」の運動器疾患が原因となる要支援・軽度の要介護高齢者が多くを占めており、運動器疾患対策を充実させれば自立を保てるはずの高齢者が、現実には自立喪失に陥っていることが示されている。この高齢者が自立喪失に陥っていく過程は二分される。一つは、変形性関節症（OA）等の慢性疼痛による廃用症候群として徐々に自立喪失に陥る例、もう一つは骨折等の外傷や手術、その後の関節拘縮・組織癒着により急激に自立喪失に陥る例である。そこで我々はこの問題の解決のための新規治療法として、優れた生体適合性と潤滑特性を発揮する高分子材料・2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)を用いた生体内解離性ハイドロゲル（MPC ポリマーゲル）を創出した。これは、MPC とブチルメタクリレート、ビニルフェニルボロン酸の共重合体を組み合わせたもので、1) 患部・術野にあわせて瞬時に成型できること、2) ナノ単位の小孔を有する三次元構造からなり液性因子の透過を妨げないこと、3) 表面に細胞の接着が起きないため癒

着する可能性が少ないこと、4) 生体の異物反応を惹起しないこと、5) 潤滑性に優れること、6) 生体内の解離速度を制御可能であること、が判明している。

本研究の目的は、MPC ポリマーゲルを変形性関節症、骨折後の関節拘縮、外傷・手術後の組織癒着の治療法として臨床応用するために必要な基礎的検討を完成させることである。この目的で今年度は MPC ポリマーゲルの至適合成条件を検索するとともに、関節機能改善効果、組織癒着防止効果の検討を行った。

B. 研究方法

① MPC ポリマーゲル合成の至適条件の決定

1. ポリマー分子構造の規格化

(分担研究者 石原一彦)

1) MPC ポリマーの合成

MPC ポリマーゲルの合成時の分子組成、分子量とその分布、疎水性・親水性ユニットの構造、イオン濃度などをパラメーターとして考え、a) 効率的な固化・成形、b) 有効な粘弾性、c) 適切な解離速度、d) 周囲組織からの液性因子の効率的な供給、を獲得する分子構造を検索した。

2) ゲル調製の至適条件の決定

形成した MPC ポリマーゲルをラット大腿筋組織に移植した。異物認識反応を評価するために7日後の異物巨細胞の出現を検討した。

2. 性状変化と解離速度の検討

(分担研究者 金野智浩)

1) ラット背部皮下での性状変化の観察による合成条件の検討

MPC ポリマーゲルを構成する、MPC ポリマー・ブチルメタクリレート・ビニルフェニルボロン酸の共重合体 (PMBV) ポリマーの溶液濃度を変化させて、至適 MPC ポリマーゲル合成条件を検討した。

ラットを用いた解離速度および微細構造変化の検討を行うため、体液の交通が許されるメチルセルロース膜を貼付したチャンバーの中に MPC ポリマーゲルを封入し、ラット背部の皮下へ埋植する手術を行なった (n=3)。術後 1、2 週でチャンバーを摘出してゲルを回収し、その肉眼性状の観察、走査型電子顕微鏡 (SEM) による微細構造の観察を行なった。

2) PBS 内での重量変化率の測定による解離速度の検討

解離速度を検討するため、MPC ポリマーゲルを上記 1) と同様のチャンバーに封入し、リン酸緩衝化生理食塩水 (PBS) 内に浸漬した (n=6)。PBS は 37 °C で持続震盪した。経時的 (1 日、3 日、7 日、14 日後) に各チャンバーの重量を測定し、重量減少率を解析することで解離速度の評価を行い、統計学的に検討した。

② 変形性関節症 (OA) モデルを用いた関節潤滑機構改善効果の検討 (分担研究者 高取吉雄、茂呂徹)

1. 摩擦試験

MPC ポリマーもしくはヒアルロン酸 (HA) を添加した潤滑液を用いたときの摩擦係数について、Ball-on-Flat 型摩擦試験機により評価した。潤滑液には蒸留水 (室温) を用いた。摩擦係数は、摺動回数 100 回時点の値を求めた。

2. マウス変形性関節症モデルにおける検討

マウスは C57Black/6J マウス (8 週齢・オス・18-22 g) を使用した。今年度はまず以下の Medial model の検討を行った。右膝関節を前方より展開し、内側側副靭帯 (MCL) の切離、内側半月板 (MM) の切除を行った。関節内を洗浄した後、皮膚縫合した。左膝関節については皮膚切開のみを行い、Sham 手術とした。手術後マウスはゲージ内を自由に運動できるようにした。下記 1)、2) の検討を行った。

1) X 線撮影

マウスの膝関節の X 線撮影は、術後 0、2、4、8 週において行った。膝関節の正面像、側面像を撮影した。

2) 組織学的解析

組織学的解析のためにマウスは 2、4、8 週で安楽死させた。灌流固定し、膝関節を一塊として摘出した後、固定液で固定した。検体は脱灰液に浸漬し、脱灰を行った。パラフィン・ブロックはミクロトームを用いて、4 μm の厚さで薄切し、連続切片とした。組織切片は Hematoxylin・Eosin (HE) 染色、Safranin O 染色を行った。

③ 屈筋腱損傷モデルを用いた組織癒着防止効果の検討

(分担研究者 川口浩、三浦俊樹)

1. ラットアキレス腱損傷モデルの確立

- 1) 麻酔・体位：腹腔内麻酔後、ラットを腹臥位とした。
- 2) 坐骨神経の切断：手術用顕微鏡下に坐骨神経を切断した。
- 3) 足底筋腱の切断：アキレス腱直上を皮膚切開後、足底筋腱を切断した。

- 4) アキレス腱の切断・縫合：アキレス腱を剪刀にて切断し、modified Kessler 法にて腱をコア縫合した後、周囲縫合を追加した。
- 5) 閉創：創内を生理食塩水にて洗浄後、皮膚を縫合し、閉創した。
- 6) ギプス固定・覚醒：右下肢をギプス固定した上で麻酔からの覚醒を待ち、以後はケージ内で自由に運動させた。
- 7) 腱癒着と修復の評価：術後3週で、術後の腱組織の癒着および修復の状態を以下の2、3で評価した。

2. MPC ポリマーゲルの組織癒着防止効果についての検討

今回は MPC ポリマーゲルを構成する PMBV ポリマーの溶液濃度の条件をかえ、組織癒着防止効果を検討した。上記1)の術後3週の時点で、手術創を再切開し、まず創内を肉眼的に評価した。次に、癒着線維の切離回数を癒着の程度を表す指標として測定した。

3. MPC ポリマーゲルの組織修復への影響についての検討

2.でアキレス腱を周囲組織から切離後に、全長にわたって採取した。レオメーターシステムを用い、腱が破断するまで牽引した。この際の最大破断張力を組織修復の指標として測定し、統計学的に検討した。

4. 鶏趾屈筋腱損傷モデルの確立

- 1) 麻酔・体位：鶏を筋肉内麻酔後に腹臥位とした。
- 2) 屈筋腱鞘の切除：手術用顕微鏡下に左足第3趾を皮膚切開後、腱鞘を切除した。
- 3) 趾屈筋腱の損傷・縫合：趾屈筋腱を剪刀にて切断した。癒着評価用には深趾屈筋腱の半切断のみ行な

い、修復評価用には全切断した。modified Kessler 法にて深趾屈筋腱をコア縫合し、周囲縫合を追加した。

- 4) 閉創：創内を生理食塩水にて洗浄後、皮膚縫合し、閉創した。
- 5) ギプス固定・覚醒：閉創後、左脚をギプス固定した上で麻酔からの覚醒を待ち、以後はケージ内で自由に運動させた。
- 6) 腱癒着と修復の観察：術後3週で、術後の腱組織の癒着および修復の状態を肉眼的に評価した。
- 7) 腱癒着と修復の評価：術後3週で、術後の腱組織の癒着および修復の状態を以下のa)、b)、c)で評価した。
 - a) 屈曲仕事量測定による検討：レオメーターを用いて、趾屈曲仕事量を測定した。
 - b) 腱破断張力測定の検討：趾屈筋腱を全長にわたって採取し、レオメーターシステムにより腱が破断するまで牽引した。この際の最大破断張力を組織修復の指標として測定した。
 - c) 組織標本の検討：縫合部を含めて採取した腱を Hematoxylin および Eosin (H-E) にて染色し、縫合部の組織連続性を評価した。

(倫理面への配慮)

すべての動物実験は「動物の保護及び管理に関する法律」、「実験動物の飼育及び保管等に関する基準総理府告示」、「東京大学医学部動物実験指針」に従って、東京大学医学部倫理委員会の承諾の下で行った。

C. 研究結果

① MPC ポリマーゲル合成の至適条件の決定

1. ポリマー分子構造の規格化

1) MPC ポリマーの合成

MPC ポリマーの分子組成は親水性モノマーである MPC を 60 mol% 含み、n-ブチルメタクリレート (BMA) を 30 mol%、ビニルフェニルボロン酸 (VPBA) を 10 mol% を含む MPC ポリマー (PMBV60) を合成した。ポリマー合成時に使用する重合開始剤として α, α' -アゾビスイソブチロニトリル (AIBN) または t-butyl peroxyneodecanoate (PBND) を用いて合成した。AIBN または PBND を重合開始剤として用いて合成することにより得られた 2 種類の MPC ポリマーは、ともに水溶性ポリマーであることを確認した。また、 $^1\text{H-NMR}$ 測定に基づく構造解析の結果、ともに重合時の仕込みモノマー組成通りであることを確認した。ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) による分子量測定の結果、2 種類の MPC ポリマーは分子量が異なることがわかった。この MPC ポリマーとポリビニルアルコール (PVA) とを室温条件下で混合すると MPC ポリマーゲルを形成した。用いた PVA は完全ケン化型で平均重合度が 500 または 1000 を用いた。得られた MPC ポリマーゲルを凍結乾燥し、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いてゲル内部の微細構造を観察した。形成した MPC ポリマーゲルはいずれも三次元構造を形成していた。また、ポリマー溶解時の溶媒として純水、PBS または細胞培養液を用いたが、いずれでもゲル化が確認された。

2) ゲル調製の至適条件の決定

MPC ポリマー (5 wt%) と PVA1000 (5 wt%) との混合比を 1:1 または 2:1 として形成した MPC ポリ

マーゲルをラット筋組織内に埋植した。埋植 14 日後にゲルを回収し、重量変化を測定した結果、全てのゲルで解離による重量減少を認められた。また、ラット大腿筋組織内に MPC ポリマーゲルを留置して 7 日後の病理組織評価を行った。その結果、MPC ポリマーゲルは筋線維間組織まで入り込んで存在しており、高い溶質透過性を有することがわかった。また、異物巨細胞の出現頻度について検討したところ、MPC ポリマーゲルに対する出現頻度は極めて低く、生体親和特性に優れることが見出された。

2. 性状変化と解離速度の検討

1) ラット背部皮下での性状変化の観察による合成条件の検討

肉眼の観察では、各群の MPC ポリマーゲルともゲルとしての固体状態であることが確認された。また、PMBV 溶液濃度が高いゲルほど体積変化が小さく、解離速度が低いと考えられた。SEM による観察では、術後 1 週および 2 週においても微細構造に大きな変化はみられなかった。

2) PBS 内での重量変化の測定による解離速度の検討

いずれのゲルも経時的に重量が減少し、解離が進んでいることが示された。溶液濃度が高いゲルほど解離速度は低値であり、濃度依存性がみられた。

② 変形性関節症 (OA) モデルを用いた関節潤滑機構改善効果の検討

1. 摩擦試験

MPC ポリマー水溶液単剤、MPC ポリマー水溶液 + ヒアルロン酸ナトリ

ウム水溶液の静摩擦係数は、蒸留水と比し、改善傾向がみられた。また、MPC ポリマー水溶液単剤、MPC ポリマー水溶液+ヒアルロン酸ナトリウム水溶液の動摩擦係数は、蒸留水と比し、約 40%改善していた。

2. マウス変形性関節症モデルにおける検討

1) X 線撮影

術後 4 週までに変形性関節症様の变化はみられなかったが、術後 8 週において関節適合性の低下と軟骨下骨硬化像が観察された。

2) 組織学的解析

Sham 手術を行った膝関節軟骨は滑らかな表面を保ち、基質の破壊像や欠損像はみられなかった。これらの組織学的所見は、手術侵襲を加えていない正常膝関節軟骨のものと同様であった。一方、術後 2~4 週で軟骨細胞の分裂像と大型化が観察され、術後 8 週では軟骨破壊がヒトの初期変形性関節症 (OA) にきわめて近い病像を呈していた。

③ 屈筋腱損傷モデルを用いた組織癒着防止効果の検討

1. ラットアキレス腱損傷モデルの確立

肉眼での観察では、術後 3 週において、アキレス腱切断部の連続性は良好であった。また、アキレス腱周囲の癒着は著明にみられ、周囲組織との分離には剪刀による鋭的切離を必要とした。以上より、このラットの腱損傷モデルは今回の研究において適当であると考えられたため、以後の実験でも使用することとした。

2. MPC ポリマーゲルの組織癒着防止効果についての検討

1.のラットの腱損傷モデルにおいてアキレス腱を縫合後、縫合部を含めた腱全体を MPC ポリマーゲルでそれぞれ被覆した群 (各群 n=8) では、コントロール群 (n=8) と比較し、線維性癒着の切離回数が低値であった。

3. MPC ポリマーゲルの組織修復への影響についての検討

上記 2 の操作に引続いて行なった力学試験において、最大破断張力はコントロール群と各 MPC ポリマーゲル群の間で、有意な差を認めなかった。

4. 鶏趾屈筋腱損傷モデルの確立

肉眼での観察では、術後 3 週において、趾屈筋腱切断部の連続性は良好であった。また、趾屈筋腱周囲の癒着は著明にみられ、周囲組織との分離には剪刀による鋭的切離を必要とした。さらに、レオメーターによる趾屈曲仕事量の測定が可能であった。また、腱破断張力も測定でき、組織標本においても腱断裂部の連続性が回復していることが確認できた。

以上より、この鶏腱損傷モデルは、今回の研究において趾屈曲仕事量を測定して力学的評価する上でも適していると考えられ、次年度以降の実験で使用することとした。

D. 考察

分担研究者の石原らが開発した MPC ポリマーは、生体細胞膜と同様のホスホリルコリン機を有するため、生体内で異物としての認識を受けず、優れた生体適合性を発揮する。また、MPC ポリマー表面ではタンパクの吸着、細胞接着、血栓形成が抑制されることが明らかとなっており、様々な医療材料への応用研究が行われており、その一部は既に実用化されている。近

年では MPC ポリマーを用いたわが国独自の人工心臓、人工股関節の治験が国内で行われている（人工股関節の治験は分担研究者の高取、茂呂が担当）。今回の新規運動器疾患治療法の有効性が明らかにできた場合、次の目的は実用化ということになるが、主任・分担研究者らはこれまでの MPC ポリマーを応用した医療機器の研究開発を通し、厚生労働省医薬審発第 0213001 号「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について」および ISO 10993 に準拠して、生体内安全性試験、体内代謝動態の検討を終えている。MPC ポリマーを用いたクラスⅢの材料（カテーテル等）が認可を受け実用化されていることと考え合わせると、速やかな実用化が期待できる。

本研究の目的は、MPC ポリマーゲルを運動器疾患の革新的な治療法として臨床応用するために必要な基礎的検討を完成させることである。この目的で今年度は MPC ポリマーゲルの至適合成条件を検索するとともに、関節機能改善効果、組織癒着防止効果の検討を行った。

MPC ポリマーゲルの至適合成条件の検討では、MPC ポリマー合成時に水溶性を確保するためには MPC ユニットとして 60 mol% 以上必要であることが判明した。重合開始剤の種類によって得られるポリマーの分子量を容易に制御することに成功し、これにより、MPC ポリマー組成・MPC ポリマー分子量の制御を満足した。また、1) MPC ポリマーゲルは形成時の混合比を変化させることで力学特性に変化を持たせられること、および解離過程の制御が可能であること、2) MPC ポリマーゲルは三次元ネットワーク構造を形成しており、癒合に必要なサイ

トカインをはじめとする液性因子の透過を期待できること、3) MPC ポリマーゲルは、ラットへの埋植後、異物巨細胞の出現も認められず、極めて高い生体親和特性を発揮すること、が明らかとなった。来年度以降は、生体内からの排泄を考慮して、分子量の低い MPC ポリマーによるゲル化の最適化、MPC ポリマー構造の最適化と同時に工学的パラメーターの制御基盤技術を確立するとともに、PMBV ポリマー濃度、PVA との混合比等に変更を加えて、より至適な合成条件の検討を継続していく予定である。

関節機能改善効果に関する検討では、今回の検討で用いるマウスにおいて、靭帯、半月板の切離・切除による病期の異なる変形性関節症を再現する変形性関節症モデルを確立し、MPC ポリマーゲルの投与により関節面の静摩擦係数、動摩擦係数がともに改善することを明らかにした。来年度以降は変形性関節症モデルを用いた検討を継続するとともに、摩擦試験において、ポリマーゲル濃度、ヒアルロン酸ナトリウムとの混合比等をかえ、潤滑機構の改善のみならず、ヒアルロン酸の安定化についても検討を加える予定である。

屈筋腱損傷モデルを用いた組織癒着防止効果の検討では、ラットアキレス腱損傷モデルを確立し、このモデルにおいて、MPC ポリマーゲルが腱組織の修復を阻害することなく、周囲組織と腱との癒着を有意に抑制することを確認した。また、来年度以降に向けて、鶏の屈筋腱を用いた腱損傷モデルも確立した。このモデルにおいて組織学的評価、力学的評価、残存ゲルの物性評価等を行い、効率的に組織癒着防止効果を発揮する MPC ポリマーゲルを創製していく予定である。

本研究開発によりこれらの新規運動器疾患の治療法の有効性が証明できれば、高齢者の支援や介護（自立喪失）の主因となる運動器疾患の革新的な治療法となることは確実であり、高齢者のQOLの維持・改善とともに支援介護費用までも含めた医療費の削減に多大な貢献ができる。また、これらの運動器疾患は高齢者のみならず、世界中の中壮年者、関節リウマチ患者においても深刻な疾患となっており、新規治療法の開発は労働力という社会資本の確保、当該分野での国際競争力の獲得にも多大な貢献が期待できる。

E. 結論

今年度の研究により、新しいマテリアル創製を基盤とする運動器疾患治療法の開発を推進しうる結果を得ることができた。

来年度以降も上記内容の検討を継続するとともに、骨折モデルを用いた関節拘縮防止効果、脊椎椎弓切除モデルを用いた神経・硬膜外癒着防止効果の検討についても行なう予定である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

① 和文

- 1) 茂呂徹: 人工臓器. *医療ナノテクノロジー—最先端医学とナノテクの融合*—片岡一則監修, 杏林図書, p139-146, 2007.
- 2)
- 3) 石原一彦: ナノバイオインターフェイス. *医療ナノテクノロジー—最先端医学とナノテクの融合*—片岡一則監修, 杏林図書, p109-126,

2007.

- 4) 金野智浩, 石原一彦: 細胞培養環境を可逆的に固体化するリン脂質ポリマーハイドロゲル. *医療用ゲルの最新技術と開発—バイオミメティックゲルの応用* 216 - 225, 2008
- ② 英文
- 1) Konno T, Ishihara K: Temporal and spatially controllable cell encapsulation using a Photo-immobilization of a water-soluble phospholipid polymer with phenylboronic acid moiety. *Biomaterials* 28: 1770-1777, 2007
 - 2) Kimura M, Konno T, Takai M, Ishiyama N, Moro T, Ishihara K: Prevention of tissue adhesion by a spontaneously formed phospholipid polymer hydrogel. *Key Engineering Materials* 342-343: 777-780, 2007.
 - 3) Choi J, Konno T, Takai M, Ishihara K: Biocompatible phospholipid polymer hydrogel layer on metal surface for releasing bioactive agents. *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn* 32 (4): 1243-1246, 2007
 - 4) Kyomoto M, Moro T, Miyaji F, Hashimoto M, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Ishihara K: Effect of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine concentration on photo-induced graft polymerization of polyethylene in reducing the wear of orthopaedic bearing surface. *J Biomed Mater Res A*, in press.
 - 5) Kyomoto M, Moro T, Konno T, Takadama H, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Yamawaki N, Ishihara K: Effects of photo-induced

- graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on physical properties of cross-linked polyethylene in artificial hip joints. *J Mater Sci Mater Med* in press
- 6) Kyomoto M, Moro T, Miyaji F, Konno T, Hashimoto M, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Ishihara K: Enhanced wear resistance of orthopaedic bearing due to the cross-linking of poly(MPC) graft chains induced by gamma-ray irradiation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, in press.
- 7) Yamakawa K, Kamekura S, Kawamura N, Saegusa M, Kamei D, Murakami M, Kudo I, Uematsu S, Akira S, Chung UI, Nakamura K, Kawaguchi H: Microsomal prostaglandin E synthase-1 null mice are normal regarding induction of bone loss and osteoarthritis, but show impaired fracture healing. *Arthritis Rheum* in press.
- 8) Kyomoto M, Moro T, Miyaji F, Hashimoto M, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Ishihara K: Effects of mobility/immobility of surface modification by 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymer on the durability of polyethylene for artificial joints. *J Biomed Mater Res A*, in contribution.
- 9) Kyomoto M, Moro T, Iwasaki Y, Miyaji F, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Ishihara K: Super-lubricious surface mimicking articular cartilage by grafting poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) on orthopaedic metal bearings. *J Biomed Mater Res A*, in contribution.
- 10) Liu G, Ogasawara T, Watanabe J, Ishihara K, Asawa Y, Chung UI, Moro T, Takatori Y, Takato T, Nakamura K, Kawaguchi H, Hoshi K: Selection of highly osteogenic and chondrogenic cells from bone marrow stromal cells in biocompatible polymer-coated plates. *J Biomed Mater Res A*, in contribution.
- 2.学会発表
- ① 国内学会
- 1) 石山典幸、茂呂徹、大江隆史、三浦俊樹、川口浩: 生体適合性ポリマーゲルのニワトリ腱損傷モデルにおける癒着防止効果. 第50回日本手の外科学会学術集会. 山形, 2007.4.19-20
- 2) 高取吉雄、茂呂徹、山本基、菊田達郎、伊藤英也、京本政之、川口浩、中村耕三: シンポジウム「各部位の人工関節の耐久性と問題点」未来に向けて何年もたせるか人工股関節の耐久性とMPC処理. 第51回日本リウマチ学会・学術集会. 横浜, 2007.4.26-29
- 3) 岡敬之、吉村典子、村木重之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三: 変形性膝関節症 X線画像自動読影システムの開発とその信頼性. 第51回日本リウマチ学会総会・学術集会. 横浜, 2007.4.26-29
- 4) 村木重之、吉村典子、岡敬之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三: 変形性膝関節症および変形性腰椎症の痛みへの影響: The Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) study. 第51回日本リウマチ学会総会・学術集会. 横浜,

2007.4.26-29

- 5) 馬淵昭彦、村木重之、岡敬之、吉村典子、徳永勝士、川口浩、中村耕三: 日本人における変形性膝関節症感受性遺伝子の関連解析. **第51回日本リウマチ学会総会・学術集会**. 横浜, 2007.4.26-29
- 6) 吉村典子、村木重之、岡敬之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三: 都市部、山村部における変形性膝関節症および腰椎症の有病率とその地域差: Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) プロジェクト. **第51回日本リウマチ学会総会・学術集会**. 横浜, 2007.4.26-29
- 7) 石山典幸、茂呂徹、中村耕三、川口浩: 術後癒着防止効果を有する生体内解離性ゲル. **第51回日本リウマチ学会総会・学術集会**. 横浜, 2007.4.26-29
- 8) Kawaguchi H, Kamekura S, Yamada T, Koshizuka Y, Nakamura K: Molecular basis of osteoarthritis from mouse genetics approach. **第16回国際リウマチシンポジウム**. 横浜, 2007.4.26-29
- 9) 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、金野智浩、京本政之、山脇昇、山本基、苅田達郎、中村耕三、川口浩: ポリエチレン表面のMPCグラフト処理による長寿命型人工関節の開発—処理密度の制御と対摩耗効果—. **第80回日本整形外科学会学術総会**. 神戸, 2007.5.24-27
- 10) 川口浩、亀倉暁、山田高嗣、中村耕三: マウスジェネティクスを用いた変形性関節症の分子メカニズ

ムの解明. **第80回日本整形外科学会学術総会**. 神戸, 2007.5.24-27

- 11) 村木重之、吉村典子、岡敬之、馬淵昭彦、山本精三、鈴木隆雄、延與良夫、吉田宗人、川口浩、中村耕三: 変形性膝関節症および変形性腰椎症の痛みへの影響: The Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) study. **第80回日本整形外科学会学術総会**. 神戸, 2007.5.24-27
- 12) 金野智浩、河手由美子、石原一彦: 細胞の活性を保持するシグナル解離性リン脂質ポリマーハイドロゲル. **第56回高分子学会年次大会**. 京都, 2007.5.29-31
- 13) 川口浩: マウスジェネティクスからの骨・関節疾患の分子メカニズムの解明. **宮崎大学大学院セミナー**. 宮崎, 2007.6.25
- 14) 高取吉雄: 股関節疾患の診断と治療—問題点の検討 **第11回整形外科研修会 Meet the Professional**. 東京, 2007.6.27
- 15) 川口浩: 関節の痛み・骨の痛み. **2007 ゼリアパール会**. 横浜, 2007.7.8
- 16) 高取吉雄: 人工股関節の問題点と対策. **第69回東京都城北整形外科医会**. 東京, 2007.7.10
- 17) 川口浩、中村耕三: 変形性関節症研究の現状と限界. **第25回日本骨代謝学会**. 大阪, 2007.7.19-21
- 18) 馬淵昭彦、吉村典子、岡敬之、村木重之、川口浩、中村耕三: 変形性

- 膝関節症研究の病因解明・治療標的分子同定のための総合研究: ROAD (Research on Osteoarthritis Against Disability) プロジェクト. **第25回日本骨代謝学会**. 大阪, 2007.7.19-21
- 19) 岡敬之、村木重之、馬淵昭彦、鈴木隆雄、吉田英世、山本精三、川口浩、中村耕三、吉村典子: 単純X線画像における変形性膝関節症のコンピュータ支援診断システムの開発—ROAD (Research on Osteoarthritis Against Disability) プロジェクト—. **第25回日本骨代謝学会**. 大阪, 2007.7.19-21
- 20) 村木重之、岡敬之、馬淵昭彦、延與良夫、吉田宗人、雑賀明宏、川口浩、中村耕三、吉村典子: 大規模住民コホートにおける変形性膝関節症および変形性腰椎症の危険因子—ROAD (research on osteoarthritis against disability) プロジェクト—. **第25回日本骨代謝学会**. 大阪, 2007.7.19-21
- 21) 東川晶郎、斎藤琢、亀倉暁、大庭伸介、池田敏之、中村耕三、鄭雄一、川口浩: Runx2 による 10 型コラーゲンの転写メカニズムの解明—変形性関節症を誘導する軟骨細胞肥大化の分子ネットワーク—. **第25回日本骨代謝学会**. 大阪, 2007.7.19-21
- 22) Kawaguchi H: Molecular backgrounds of degenerative skeletal disorders from mouse genetics approach. **4th Meeting of Bone Biology Forum**. 大阪, 2007.8.24-25
- 23) 川口浩: 変形性関節症. **第4回六甲カンファレンス**. 兵庫, 2007.9.1-2
- 24) 金野智浩、石原一彦: 細胞培養環境を可逆的に固体化するリン脂質ポリマーゲル“セルコンテナ”. **第56回高分子討論会**. 名古屋, 2007.9.19-21
- 25) 川口浩: 変形性関節症 up-to-date: その研究の新世紀. **南河内関節症研究会**. 大阪, 2007.9.22
- 26) 高取吉雄、荻田達郎、馬淵昭彦: 多発性骨端異形成症: 患者の変形性股関節症に対する外反骨切り術—MATN3 遺伝子の変異を同定できた2例での結果—. **第56回東日本整形災害外科学会**. 軽井沢, 2007.9.22
- 27) 茂呂徹: 関節摺動面の MPC 処理による人工股関節の耐久性の向上. **トライボロジー会議 2007 秋 佐賀**. 佐賀, 2007.9.27
- 28) 茂呂徹: 関節摺動面のナノ処理による新しい人工股関節の開発. **第13回人工関節基礎研究会**. 東京, 2007.9.29
- 29) 高取吉雄、伊藤一弥、祖父江牟婁人、廣田良夫、糸満盛憲、松本忠美、浜田良機、進藤裕幸、山田治基、安永裕司、伊藤浩、森諭史、大湾一郎、藤井玄二、大橋弘嗣、馬渡太郎、高平尚伸、杉森端三、杉山肇、岡野邦彦、荻田達郎、安藤謙一、濱木隆成、平山光久、岩田憲、松浦正典、神宮司誠也: (社) 日本整形外科学会学術プロジェクト研究「日本人における臼蓋形成不全による変形性股関節症に関する疫学調査」—変形性股関節症の

- 単純X線写真における病期とX線指数-測定誤差と共同研究での合意形成について-。第34回日本股関節学会。金沢, 2007.10.11
- 30) 茂呂徹: 耐摩耗性を高めた新しい人工関節の開発。茨城整形外科講演会。水戸, 2007.10.25
- 31) 岡敬之、村木重之、馬淵昭彦、吉村典子、川口浩、中村耕三: 変形性膝関節症における単純X線コンピュータ支援診断システムの開発と各重症度指標の痛みとの相関。第22回日本整形外科学会基礎学術集会。浜松, 2007.10.25-26
- 32) 石山典幸、茂呂徹、三浦俊樹、大江隆史、中村耕三、川口浩: 生体解離性ポリマーゲルによる腱癒着防止効果。第22回日本整形外科学会基礎学術集会。浜松, 2007.10.25-26
- 33) 東川晶郎、斎藤琢、亀倉暁、中村耕三、鄭雄一、川口浩: 軟骨細胞肥大化によって変形性関節症を誘導するRunx2の10型コラーゲンプロモーターに対する応答領域の同定。第22回日本整形外科学会基礎学術集会。浜松, 2007.10.25-26
- 34) 吉村典子、村木重之、岡敬之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三: 変形性膝関節症および変形性腰椎症の有病率の検討- Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) プロジェクトより-。第22回日本整形外科学会基礎学術集会。浜松, 2007.10.25-26
- 35) 村木重之、吉村典子、岡敬之、馬淵昭彦、川口浩、中村耕三: 部位による変形性関節症の危険因子の相違-ROAD (research on osteoarthritis against disability) プロジェクト-。第22回日本整形外科学会基礎学術集会。浜松, 2007.10.25-26
- 36) Kawaguchi H: Transcriptional regulation of cartilage degeneration during osteoarthritis. *The 2007 International Symposium-Workshop on Advanced Bone and Joint Science*. Tokyo, Japan, 2007.10.28-31
- 37) 村木重之、岡敬之、馬淵昭彦、延與良夫、吉田宗人、雑賀明宏、川口浩、中村耕三、吉村典子: 膝関節および腰椎における変形性関節症の危険因子の相違-ROAD (research on osteoarthritis against disability) プロジェクト-。第9回日本骨粗鬆症学会。東京, 2007.11.14-16
- 38) 金野智浩、石原一彦: リン脂質ポリマー“ハイドロゲル”セルコンテナ”による細胞保持技術。第29回日本バイオマテリアル学会大会。大阪, 2007.11.26-27
- 39) 京本政之、岩崎泰彦、茂呂徹、宮路史明、金野智浩、川口浩、高取吉雄、中村耕三、石原一彦: 長寿命人工関節のためのリン脂質グラフとポリマーによる高潤滑性Co-Cr-Mo合金の創製。第29回日本バイオマテリアル学会大会。大阪, 2007.11.26-27
- 40) 石山典幸、茂呂徹、三浦俊樹、大江隆史、伊藤祥三、金野智浩、吉河美都奈、大山但、中村耕三、川口浩、石原一彦: 生体内解離性リン脂質ポリマーハイドロゲルによる

- 組織癒着防止材の開発. **第29回日本バイオマテリアル学会大会**. 大阪, 2007.11.26-27
- 41) 茂呂徹: オーガナイズドセッション「ナノメディシンー研究と人材育成ー」ナノ表面処理による新しい人工関節の開発. **第51回日本学術会議材料工学連合講演会**. 京都, 2007.11.27-29
- 42) 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、京本政之、山本基、荻田達郎、伊藤英也、中村耕三、川口浩: 長寿命型人工股関節の開発ー生体適合性ポリマーによるポリエチレンライナーのナノ表面処理ー. **第34回日本臨床バイオメカニクス学会**. 東京, 2007.12.7-8
- 43) 京本政之、茂呂徹、宮路史明、上野勝、橋本雅美、川口浩、高取吉雄、中村耕三、石原一彦: 高密度生体適合性リン脂質ポリマー表面による長寿命型人工関節. **第34回日本臨床バイオメカニクス学会**. 東京, 2007.12.7-8
- 44) 荻田達郎、高取吉雄、山本基、茂呂徹、馬淵昭彦、伊藤英也、齊藤貴志: 人工股関節においてジルコニア骨頭を架橋ポリエチレンと組み合わせた場合の線摩耗率. **第34回日本臨床バイオメカニクス学会**. 東京, 2007.12.7-8
- 45) 北野和彦、松野亮介、金野智浩、高井まどか、石原一彦: ナノ構造制御したリン脂質ポリマーブラシのバイオ特性. **第18回日本MRS学術シンポジウム**. 東京, 2007.12.8
- 46) 川口浩: マウスジェネティクスを用いた変形性関節症の分子メカニズムの解明. **第30回日本分子生物学会・第80回日本生化学学会合同大会**. 横浜, 2007.12.11-15
- 47) 齊藤貴志、伊藤英也、荻田達郎、馬淵昭彦、高取吉雄、中村耕三: 手術シミュレーション骨モデルの有用性-RAPADILINO 症候群患者に対する人工股関節の経験. **第48回関東整形災害外科学会**. 東京, 2.15, 2008.
- 48) 高取吉雄: 長寿命型人工関節の臨床応用推進に関する研究. **トランスレーショナル研究成果発表会**. 東京, 2008.2.26
- 49) 高取吉雄、茂呂徹、山本基、荻田達郎、伊藤英也、齊藤貴志、京本政之、川口浩、中村耕三: 耐久性に優れた人工股関節の開発ーポリエチレン・ライナーの MPC 処理. **第38回日本人工関節学会**. 沖縄, 2008.2.29
- 50) 京本政之、茂呂徹、宮路史明、金野智浩、川口浩、高取吉雄、中村耕三、石原一彦: 超耐久性高潤滑インターフェイスの構築による長寿命型人工関節. **第56回高分子討論会**. 名古屋, 2008.3.2-5
- 51) 金野智浩、石原一彦: 常温・常圧で細胞機能を保持管理する自発形成ー解離性高分子ハイドロゲル「セルコンテナ」. **第7回日本再生医療学会総会**. 名古屋, 2008.3.13-14
- ② 国際学会
1) Kyomoto M, Moro T, Konno T, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura

- K, Miyaji F, Ishihara K: High density grafting of nano-polymer makes ultra-longevity for artificial joints. ***The 2007 Society for Biomaterials Annual Meeting and Exposition***. Chicago, USA, 2007.4.18-21
- 2) Ishihara K, Konno T: Cell recoverable polymer hydrogel matrix composed of phospholipid polymers. ***7th International symposium on frontiers in biomedical polymers 2007 (FBPS2007)***. Ghent, Belgium, 2007.6.24-27
 - 3) Oka H, Yoshimura N, Muraki S, Mabuchi A, Nakamura K, Kawaguchi H: Full-automatic measurement of knee osteoarthritis parameters by novel computer-assisted system on standard radiographs. ***1st Workshops on Imaging-Based Measures of Osteoarthritis***. Salzburg & Ainring, Germany, 2007.7.11-14
 - 4) Ishihara K: Spontaneous forming hydrogels composed of phospholipid polymers for biomedical application. ***7th international gel symposium***. Tokyo, 2007.8.6-8
 - 5) Konno T, Ishihara K: Cell encapsulation hydrogel matrix "cell-container" prepared by spontaneous reversible gelation between water-soluble phospholipid polymer bearing phenylboronic acid moiety and polyols. ***234th ACS National Meeting***. Boston, USA, 2007.8.19-23
 - 6) Kyomoto M, Moro T, Miyaji F, Hashimoto M, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Ishihara K: Nano-scale modification with 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymer brings to ultra-longevity for orthopaedic bearing. ***3rd UHMWPE International Meeting***. Madrid, Spain, 2007.9.14-15
 - 7) Higashikawa A, Saito T, Kamekura S, Ohba S, Ikeda T, Nakamura K, Chung UI, Kawaguchi H: Transcriptional regulation of type X collagen by Runx2: Molecular network underlying chondrocyte hypertrophy causing osteoarthritis. ***29th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research***. Honolulu, USA, 2007.9.16-19
 - 8) Shimizu S, Asou Y, Itoh S, Chung UI, Kawaguchi H, Shinomiya K, Muneta T: Intra-articular osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin prevents cartilage degeneration in a murine model of osteoarthritis. ***29th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research***. Honolulu, USA, 2007.9.16-19
 - 9) Muraki S, Yoshimura N, Oka H, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, Kawaguchi H, Nakamura K: Prevalence of radiographic osteoarthritis of knee and lumbar spine and its association with pain: The Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD) study. ***29th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research***. Honolulu, USA, 2007.9.16-19
 - 10) Ishiyama N, Moro T, Miura T, Ohe T, Nakamura K, Kawaguchi H: Biodissociatable phospholipid polymer hydrogel prevents tendon

- adhesion without impairing healing. **62nd Annual Meeting of the American Society for Surgery of the Hand.** Seattle, USA, 2007.9.27-29
- 11) Kawaguchi H: Cartilage differentiation and osteoarthritis. **19th Annual Meeting of the Korean Society for Molecular Cell Biology.** Seoul, Korea, 2007.10.18-19
 - 12) Konno T, Ishihara K: Cytocompatible phospholipid polymer hydrogel “cell-container” for reversible entrapment of stem cells. **45th Annual Meeting of the Japanese Society for Artificial Organs and 2nd Meeting of the International Federation for Artificial Organs.** Osaka, 2007.10.28-31
 - 13) Choi J, Konno T, Matsuno R, Takai M, and Ishihara K: Regulation of cell response by multilayered phospholipids polymer hydrogels capable of controlling bioactive agents release. **1st Asian Biomaterials Congress (Integrated Congress of 6th Asian International Symposium on Biomaterials and 8th Asian Symposium on Biomedical Materials).** Tsukuba, 2007.12.6-8
 - 14) Konno T, Ishihara K: Cytocompatible phospholipid polymer hydrogel “Cell-Container” for preservation of cells. **1st Asian Biomaterials Congress (Integrated Congress of 6th Asian International Symposium on Biomaterials and 8th Asian Symposium on Biomedical Materials).** Tsukuba, 2007.12.6-8
 - 15) Ishihara K and Konno T: Cell Function Controllable Polymer Hydrogel System by Highly Cytocompatible Phospholipid Polymers. **1st Asian Biomaterials Congress (Integrated Congress of 6th Asian International Symposium on Biomaterials and 8th Asian Symposium on Biomedical Materials).** Tsukuba, 2007.12.6-8
 - 16) Kawaguchi H: Transcriptional regulation of cartilage degeneration from a mouse OA model. **2007 World Congress on Osteoarthritis.** Ft. Lauderdale, USA, 2007.12.6-9
 - 17) Higashikawa A, Saito T, Kamekura S, Ohba S, Ikeda T, Nakamura K, Chung UI, Kawaguchi H: Transcriptional induction of type X collagen expression and hypertrophic differentiation of chondrocytes by Runx2 during osteoarthritis progression. **2007 World Congress on Osteoarthritis.** Ft. Lauderdale, USA, 2007.12.6-9
 - 18) Muraki S, Oka H, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saiga A, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N: Risk factors for radiographic knee osteoarthritis and lumbar spondylosis: the ROAD study. **2007 World Congress on Osteoarthritis.** Ft. Lauderdale, USA, 2007.12.6-9
 - 19) Oka H, Yoshimura N, Muraki S, Mabuchi A, Nakamura K, Kawaguchi H: Fully automatic quantification of knee osteoarthritis severity on standard radiographs parameters by a novel computer-assisted system. **2007 World Congress on Osteoarthritis.** Ft. Lauderdale, USA, 2007.12.6-9
 - 20) Ishiyama N, Moro T, Miura T, Ohe T, Ito S, Konno T, Yoshikawa M, Ohyama T, Ishihara K, Nakamura K, Kawaguchi H: Biocompatible

Anti-adhesion Effect of
Biodissociated Phospholipid Polymer
Hydrogel. **54th Annual Meeting of
the Orthopaedic Research Society.**
San Francisco, USA, 2008.3.2-5

21) Kyomoto M, Moro T, Konno T,
Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura
K, Miyaji F, Yamawaki N, Ishihara
K: Advanced wear resistance of MPC
grafted surface with various
phosphate density on cross-linked
polyethylene. **54th Annual Meeting
of the Orthopaedic Research Society.**
San Francisco, USA, 2008.3.2-5

22) Moro T, Takatori Y, Ishihara K,
Kyomoto M, Yamamoto M, Karita T,
Ito H, Nakamura K, Kawaguchi H:
Advanced wear resistance of artificial
hip joints by nano-scaled grafting
with biocompatible phospholipid
polymers. **54th Annual Meeting of
the Orthopaedic Research Society.**
San Francisco, USA, 2008.3.2-5

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 発明の名称: 「組織癒着および関節
拘縮防止材」

発明者: 石原一彦、金野智浩、
茂呂徹、石山典幸、川口浩、
中村耕三、大山但、
吉河美都奈

出願番号: 特願 2007-303389

出願日: 平成 19 年 11 月 22 日

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

MPCポリマーゲル合成の至適条件の決定

— ポリマー分子構造の規格化 —

分担研究者 石原一彦（東京大学大学院工学系研究科 教授）

研究要旨：本研究の目的は、生体組織との親和性（生体適合性と潤滑特性）に優れる高分子材料（MPC ポリマーゲル）を変形性関節症、骨折後の関節拘縮、外傷・手術後の組織癒着の治療法として臨床応用するために必要な基礎的検討を完成させることである。基礎的検討のうち、特に MPC ポリマーゲルを構成する主要成分である水溶性 MPC ポリマーの合成段階における分子組成、分子量を制御パラメーターとし、その分子構造の規格化を中心に行った。MPC ポリマーゲル形成時のポリマー濃度、混合比率がゲル形成過程、構造、および解離過程に与える影響について検討した。これらの検討の結果、ポリマー合成時の仕込み組成比および重合開始剤の種類によって、組成、分子量を制御することに成功し、その結果、これらから形成される MPC ポリマーゲルの物性を任意に制御することに成功した。生体埋植モデルを確立し MPC ポリマーゲルの生体内での解離挙動を評価した。その結果、本ゲルによる異物反応は惹起されることはなく、埋植 2 週間後において患部周囲でのゲルの残存を確認した。本研究で調製した MPC ポリマーハイドロゲルは組織癒着の治療法として臨床応用するために必要な基礎的検討事項を満足するものであった。

A. 研究目的

高齢者が自立喪失に陥っていく過程は二分される。一つは、変形性関節症（OA）等の慢性疼痛による廃用症候群として徐々に自立喪失に陥る例、もう一つは骨折等の外傷や手術、その後の関節拘縮・組織癒着により急激に自立喪失に陥る例である。そこで我々はこの問題の解決のための新規治療法として、優れた生体適合性と潤滑特性を発揮する高分子材料・2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン（MPC）を一成分とするポリマーからなる生体内解離性ハイドロゲル（MPC ポリマーゲル）を創出した。

本研究の目的は、MPC ポリマーゲルを変形性関節症、骨折後の関節拘縮、外傷・手術後の組織癒着の治療法として臨床応用するために必要な基礎的検討を完成させることである。このため、今年度は、MPC ポリマーのゲル化特性と生体内からの離脱を考えた分子構造設計を行い、合成と構造解析を中心に研究を遂行した。

B. 研究方法

1) MPC ポリマーの合成

MPC ポリマーゲルの合成時の分子組成、分子量とその分布、疎水性・親水性ユニットの構造、イオン濃度などをパラメーターとして考え、a) 効率

的な固化・成形、b) 有効な粘弾性、c) 適切な解離速度、d) 周囲組織からの液性因子の効率的な供給、を獲得する分子構造を検索した。

2) ゲル調製の至適条件の決定

形成した MPC ポリマーゲルをラット大腿筋組織に移植した。異物認識反応を評価するために7日後の異物巨細胞の出現を検討した。

C. 研究結果

1) MPC ポリマーの合成

MPC ポリマーの分子組成は水溶性ポリマーとするために親水性モノマーである MPC を 60 mol% 含み、親水性-疎水性のバランスを考慮して n-ブチルメタクリレート(BMA)を 30 mol%、他のポリオール化合物との架橋構造を形成させるためのビニルフェニルボロン酸(VPBA)として 10 mol% を含む MPC ポリマー(PMBV60) を合成した。得られるポリマーの分子量を制御するために、ポリマー合成時に使用する重合開始剤として代表的なアゾ系開始剤として知られる α , α' -アゾビスイソブチロニトリル(AIBN)または過酸化物系開始剤である t-butyl peroxyneodecanoate(PBND)を用いて合成した。AIBN または PBND を重合開始剤として用いて合成することにより得られた2種類の MPC ポリマー(PMBV-AIBN、PMBV-PBND)は、ともに水溶性ポリマーであることを確認した。また、 $^1\text{H-NMR}$ 測定に基づく構造解析の結果、PMBV-AIBN および PMBV-PBND ともに重合時の仕込みモノマー組成通り MPC/BMA/VPBA=60/30/10 (mol%)であることを確認した。ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)による分子量測定の結果、PMBV-AIBN の数平均分子量

(Mn)は 34,000、重量平均分子量(Mw)は 94,000 であった。一方、PMBV-PBND の Mn は 12,000、Mw は 30,000 であった (図 1)。

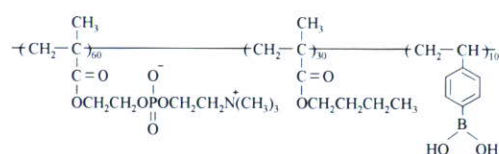


図 1. 水溶性 MPC ポリマー (PMBV-AIBN、PMBV-PBND)の化学構造式

PMBV-AIBN または PMBV-PBND と代表的なポリオール化合物としてポリビニルアルコール(PVA)とを室温条件下で混合することによって MPC ポリマーゲル形成能について検討した。用いた PVA は完全ケン化型で平均重合度が 500 または 1000 を用いた。5 wt% の PMBV-AIBN または PMBV-PBND と 5 wt% の PVA500 または PVA1000 とを等量で混和した。その結果、PMBV-AIBN は PVA500、PVA1000 とともにゲル形成を確認した (図 2)。



図 2. PMBV-AIBN 水溶液(5 wt%)と PVA1000 水溶液(5 wt%)の等量混合により得られた MPC ポリマーゲル