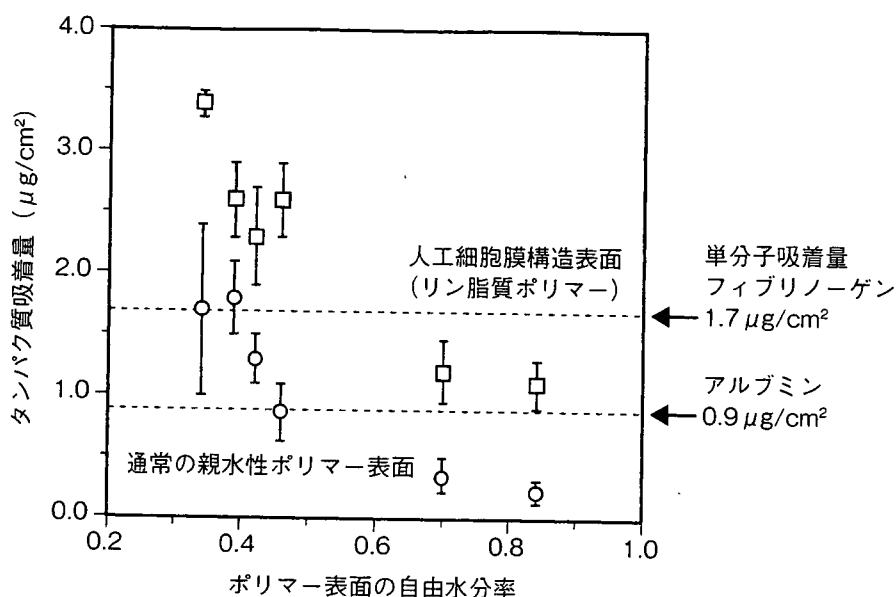


図2-9 タンパク質吸着量と自由水分率の関係



ナノバイオインターフェイスの精密創製

1) シグナルレベルを維持するマテリアル界面

バイオ分子の有する生物学的特異性（アフィニティー）を利用するバイオ分析デバイス、センサーなどにおいてシグナルレベルを高めるために必要なことは、①バイオ分子自体の標的分子に対する結合定数を高める、②バイオ分子の固定化数を増加させる、③標的分子と反応しやすい場を提供することである。固定化数を増やすためには表面積を増加させることが有効であると考えられる。これにはナノ粒状構造やナノファイバーを作成することができる電解スプレー法^{注6}が適用されている¹²⁾。一方、重要なことは、バイオ分子の本来有する高い選択性を維持することである。生体内では多くの混合物から、特定の標的分子を認識・反応するという完全な分子認識がなされている。このバイオ分子をマテリアル表面に固定化すると、その選択性が低下することは一般的な現象として認められている。そこで、温和な条件でバイオ分子を固定化する方法と、固定化されたバイオ分子を安定に維持する表面の創製が求められる。近年のバイオテクノロジーの進歩に伴い、バイオ分子の固定化試薬として多くのものが市販されるようになってきた。中には生体環境中で脱水反応を触媒する試薬もあり、多用されている。

バイオ分子を固定化するプラットフォームとしては、バイオ分子の構造を変化させないことが第一条件となる。従来、親水性あるいは水溶性ポリマーを固定化した表面ではタンパク質の構造変化が起こりにくいと考えられてきた。この中には、PEG, PAAm およびその誘導体であるポリジメチルアクリルアミド (PDMAAm), ポリビニルアルコール (PVA) などが含まれる。しかし、PAAmやPVAは、汎用的に利用されてきたものの、決して満足な結果を与え

注6：電解スプレー法 溶液の入ったキャピラリー先端に高電圧を印加すると、電解集中により液体がスプレーする（電解スプレー）。この電解スプレーを応用し、薄いポリマーフィルムやナノ粒子、ナノファイバーといった構造を作製する方法。

ない。これは、これらのポリマーと水分子とが強い水素結合を形成していることに起因している。さまざまな水溶性ポリマーを溶解した溶液中の水の構造がラマン分光法^{注7}を利用して解析された(表2-2)¹³⁾。その結果、疎水性基の周囲に形成される疎水性水和により水分子間の水素結合を促進する場合と、液体中のネットワーク構造中にはまり込んで水の構造を維持する2種類のポリマーが比較的水の構造を保持するとされた。PDMAAmは前者に、PEGは後者と考えられる。MPCポリマーの水の構造に対する影響はこれらのポリマーよりも小さいことが認められている。これはホスホリルコリン基のように正負電荷が近接すると電縮効果が打ち消され、見かけ上、電荷を持たないような振る舞いをするためと考えられた。この結果により、MPCポリマーをプラットフォームポリマーとすることの有用性が示された。事実、MPCポリマーをブロッキング剤として利用した酵素免疫固相分析(ELISA)^{注8}では、一次抗体の活性が25℃においても6週間以上高いレベルで維持されることが認められている¹⁴⁾。

バイオ分子の固定化反応条件の適用範囲を広めるために、あらかじめ活性エステル基を導入した表面修飾ポリマーが合成されている。ここでは*p*-ニトロフェニルエステル基を活性エステルとする新たなMPCポリマーを設計した(図2-10)^{15)~18)}。具体的には基材との親和性を考慮し、親水性-疎水性のバランスを制御するためにBMA、タンパク質を固定化できるユニットとして*p*-ニトロフェニルオキシカルボニルポリエチレンオキシドメタクリレート(MEONP)からなる3元ポリマー(PMBN)である。PMBNは各組成を制御、水溶性あるいは非水溶性とすることができる。MEONPユニットは側鎖に*p*-ニトロフェニルエステル基を有し、アミノ基を有する各種タンパク質と固定化することが可能である。各モノマーユニットの組成を制御することにより、水媒体に対する溶解性を変化させることができる。非水溶性ポリマーはアルコールに溶解して基板上に被覆することができる^{15), 16)}。一方、水溶性ポリマーを用いて、ナノ微粒子の作成も可能である^{17), 18)}。この際、PMBNは乳化剤および表面処理剤の両方の機能を発現する。MEONPユニットとバイオ分子との結合反応は水を媒体とした系で低温にて混合するだけで進行するために、変性や活性低下などの危険性を回避できる。実際に酵素、抗体などのタンパク質、酵素反応の基質化合物などが固定化されているが、それぞれ生理活性は高く維持されている。

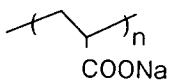
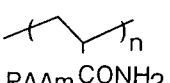
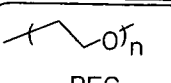
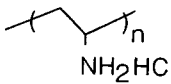
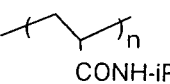
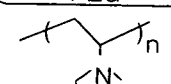
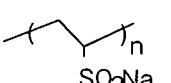
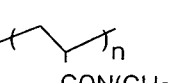
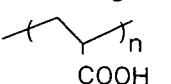
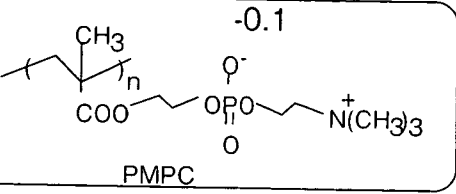
2) ノイズレベルを低くするために必要な界面

MPCポリマーの特徴の1つとして、分子設計が可能である点が挙げられる。重合性もよいために、他のビニル化合物と容易に共重合することができ、必要な機能を入れ込むことが可能である。例えば、表面修飾する基材に対する親和性、安定性を高めるためのユニットとして、疎水性の官能基や、アルコキシルシリル基、芳香族アジド基のような反応性基を持つモノマーと共重合することができる。また、表面電荷の制御を目的として、スルホン酸やアンモニウム基のような荷電も持つモノマーユニットの導入も容易である¹⁹⁾。これにより表面電位を変化させる

注7：ラマン分光法 ラマン散乱光の振動数と入射光の差は物質の構造に固有の値をとることから、赤外分光法と同様に分子の構造や状態を知るための分析法として知られる。ラマン散乱と赤外線吸収の選択則は異なるので、赤外分光とは相補関係にある。

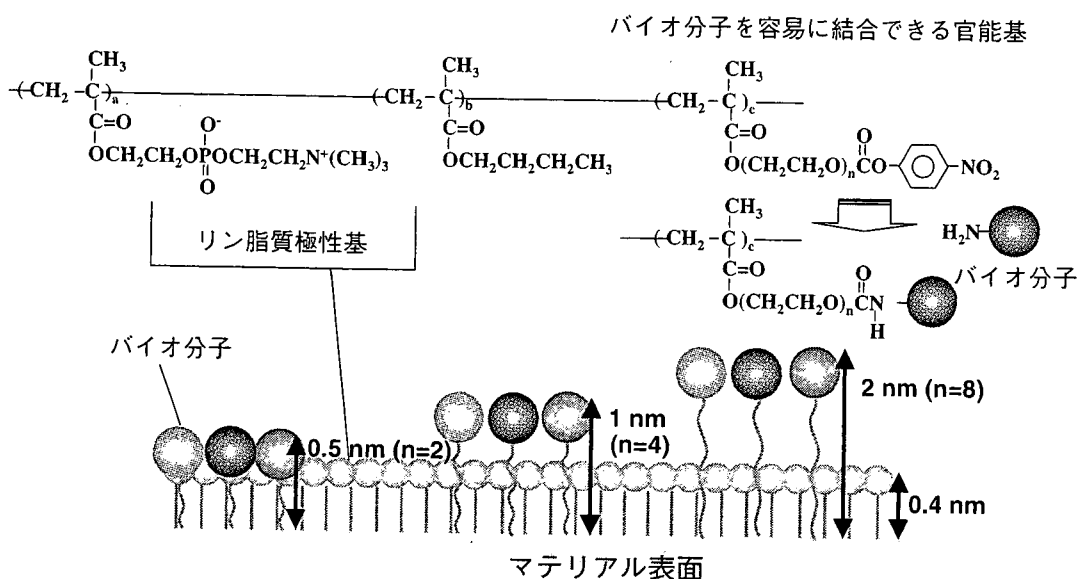
注8：ELISA 試料中の特定の物質濃度を、特異的な抗原抗体反応を用い、酵素反応に基づく発色をシグナルとして測定する方法。放射免疫測定(RIA)と比べて、安全性が高く安価で簡便であるため、微量タンパク検出が感染微生物の抗原の検出・定量に広く使用されている。

表2-2 水の構造に与える水溶性ポリマーの化学構造の影響

ポリマー	N ^{a)}	ポリマー	N ^{a)}	ポリマー	N ^{a)}
 COONa	8.7	 PAAm CONH ₂	3.2	 PEG	0.9
 NH ₂ HCl	7.6	 CONH-iPr	2.1		1.0
 SO ₃ Na	7.5	 CON(CH ₃) ₂	1.3		
 COOH	3.4	PDMAAm			
 PMPC		リン脂質極性基はほとんど水の構造に影響を与えない			

a) モノマーユニットあたりで破壊される水分子間の水素結合数

図2-10 バイオ分子を結合可能なリン脂質ポリマーとその界面の構造



ことができ、この結果、マイクロ流体の流れを電気浸透圧 (Electro Osmotic Pressure) により制御できる。このように多種多様な表面を持つポリマーマテリアルは、バイオデバイス創製において大切な役割を担っている。

3) デバイス表面のナノ精密制御

表面への修飾法として、ポリマー溶液からのコーティング、表面からのグラフト重合、基材へのブレンドなどが挙げられる。いずれの表面処理法もバイオデバイスの創製には利用することが可能である。しかし、ナノスケールでの分析や解析を行うことを考慮した場合、表面の状

態を限りなく制御しておくことは必要と考える。すなわち、従来の統計的な表面創製ではなく、限定された構造を作り上げることが求められる。近年、ポリマーの合成法として、リビングラジカル重合法が進歩してきた。これは、ラジカル重合で合成されるポリマーの欠点であった分子量と分子量分布の制御とが行える方法であり、構造の明確なポリマーを合成することができることを意味する。また、さらなる特徴としては、第一のモノマーを重合した後、異なる第二のモノマーを添加することによりさらにポリマー鎖の伸長反応が起こるために、ブロックポリマーの合成も容易にできる特徴も持つ。

シリコンウエハーの表面にリビングラジカル重合の開始剤を導入し、次いでMPCの精密グラフト重合がなされている(図2-11)²⁰⁾。開始剤ユニットとモノマーの割合に対応して、ポリマー鎖が伸長したグラフト反応が進行することを見出した。さらに、光分解反応を組み合わせ、表面開始剤の結合を解離させパターン化した表面からグラフト重合させた。これによりタンパク質吸着をパターン制御することに成功している。同様な手法で、PMPC鎖の密度と長さを制御した表面の構築がなされている。例えば、ポリマー鎖密度を0.10本/nm²にした場合と、0.39本/nm²にした場合とで原子間力顕微鏡で観察すると、低密度では大きな凹凸が認められるが、高密度にすると平滑になることが明らかとなった。この表面に対するタンパク質(フィブリノーゲン)の吸着量は、MPCポリマー鎖の密度、および長さの両方に影響され、高密度で、長いポリマー鎖であるほど吸着を抑制することが分かった。このときの吸着量は、2ng/cm²であり、通常の基材表面の約1/1,000となる。このような表面を利用することにより、初めて正確なサブマイクログラムオーダーの分析が可能となる(図2-12)²¹⁾。

表面からブロックポリマー鎖を生成させ、これにバイオ分子を固定化してELISAに適用する研究がなされている。リビングラジカル開始剤官能基を有するポリマー(スチレンと

-クロロメチルスチレンのコポリマー)をあらかじめ合成し、これを基板にスピコートした表面から、MPCおよびMEONPが重合された²²⁾。この際にモノマーユニットの配列制御を試みた。ポリマー型開始剤は溶媒キャスト法²³⁾にてほぼすべての基材に対して被覆可能であり、分子構造制御されたポリマー鎖で修飾できる。ここでは、ポリエチレンテレフタレートに安定にポリマー型開始剤を導入し、MPCおよびMEONPを重合した。ブロック型にすることにより、結合するバイオ分子の配列制御が可能となった。この表面でELISAを検討したところ、一次抗体や標的抗原の非特異的な吸着に伴うノイズレベルの低下が観察され、一方でシグナルレベルが高く維持できることが分かった。

光パターン化技術を応用して、マイクロメートルオーダーでの表面修飾ができるポリマー系も実現してきている。ジチオカルバメート基を利用する光イニテーター法を利用した系で、光照射により表面からリビングラジカル重合を行い、マテリアル表面の精密創製が行われている²³⁾。これは光照射時のみリビングラジカル重合が進行するために、光のon-offで明瞭なパターンが生成する。MPCをグラフト重合させると、やはり密度とポリマー鎖長の双方がタンパク質吸着抑制に影響することが分かった。さらにN-ヒドロキシスクシンイミド基を活性エステルとするモノマーのブロック重合も可能であり、バイオ分子を固定化することによる表面機能化が期待できる。一方、直接バイオ分子を光パターン固定化するMPCポリマーの合成もなされてい

注9：溶媒キャスト法 ポリマーなどを溶媒に溶解して基材上にて滴下した後溶媒を蒸発させ、薄膜を作製する方法。

図2-11 シリコン表面からのナノグラフト重合

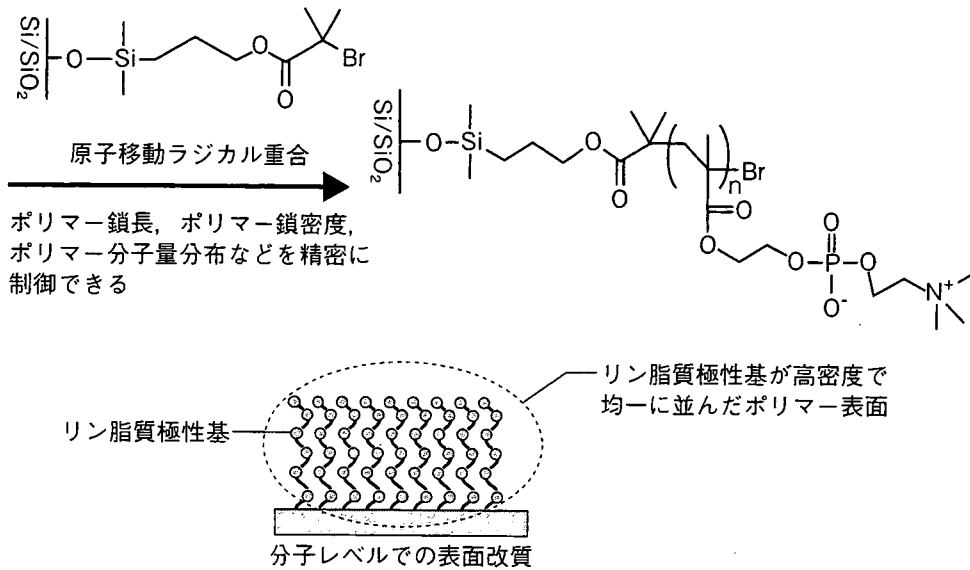
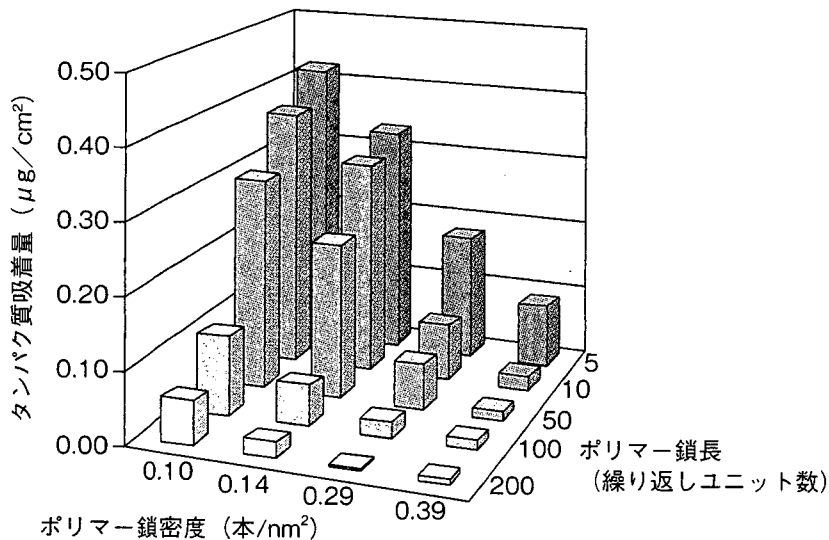


図2-12 ナノグラフトしたリン脂質ポリマー表面でのタンパク質吸着

フィブリノーゲン初期濃度=0.10mg/mL



る²⁴⁾。光反応性基として芳香族アジド基を導入したMPCポリマーは、光照射により活性なナイトレンを生じ、これが炭化水素基から水素を引き抜いて新たな結合を生じる。従って、このポリマーとバイオ分子をあらかじめ水溶液として混合し、この溶液を基板に展開して光照射することにより、バイオ分子が表面に安定に固定化できる。光照射はマイクロな空間の処理においても適用できるために、マイクロ流路や微小電極を選択的に修飾、バイオ分子の固定化が可能である。一方でMPCポリマーにこの機能を付加することにより、今後のバイオ領域におけるマイクロデバイス創製には欠かせない表面処理技術になる。

バイオ領域におけるデバイス創製の基盤技術となるバイオマテリアル，ナノバイオインターフェイスについて解説した。バイオ分子の高い生物学的特性を，微細加工技術により作成したマイクロデバイスに実装するためには，その仲立ちをする界面構築が極めて重要である。特に，バイオシグナルの確保と非特異的反応に基づくノイズの低減には欠かせない。従って，新規マテリアルの合成やマテリアルプロセス創製を中心としたマテリアル工学の研究成果を適用することが重要であると結論できる。なお，最近，バイオマテリアルについて極めて分かりやすく解説した成書が出版されたことを付記しておく²⁵⁾。

(石原一彦)

参考文献

- 1) 酒井清孝 編著：人工臓器 (2) 代謝系人工臓器，東京，コロナ社，2003.
- 2) 堀池靖浩，宮原裕二 編：バイオチップとバイオセンサー，共立出版，東京，2006.
- 3) 石原一彦，畑中研一，山岡哲二 他：バイオマテリアルサイエンス，東京化学同人，東京，2003.
- 4) 宮下徳治 編著：ライフサイエンス系の高分子化学，三共出版，東京，2004.
- 5) 上平 恒：水の分子工学，講談社サイエンティフィック，東京，1998.
- 6) Lu DR, Lee SJ, Park K : Calculation of solvation interaction energies for protein adsorption on polymer surfaces. *J Biomater Sci Polymer Ed* 1991 ; 3 : 127-47.
- 7) Nojiri C, Okano T, Jacobs HA, et al : Blood compatibility of pego grafted polyurethane and HEMA/styrene block copolymer surfaces. *J Biomed Mater Res* 1990 ; 24 : 1151-71.
- 8) 石原一彦，米山隆之：ポリマーナノ処理による金属材料表面の生体適合化. あたりあ, 2004 ; 43 : 118-121.
- 9) 石原一彦：新しい血液適合性機構を持つ高分子材料の開発－生体膜類似表面の構築－. 生体材料, 1993 ; 11 : 36-41.
- 10) 石原一彦：細胞膜に着目した体に適合しやすい材料－リン脂質ポリマーバイオマテリアル. 現代化学, 2004 ; 401 : 49-54.
- 11) Ishihara K, Nomura H, Mihara T, et al : Why do phospholipid polymers reduce protein adsorption ? *J Biomed Mater Res* 1998 ; 39, 323-30.
- 12) 西沢一樹，高井まどか，石原一彦： μ -TASのためのバイオインターフェイス創製. BIO INDUSTRY 2007 ; 24 : 12-9.
- 13) 北野博巳，井出誠：高分子－水界面. 高分子, 2003 ; 52 : 28-31.
- 14) Sakaki S, Iwasaki Y, Nakabayashi N, et al : Water-soluble 2-Methacryloyloxyethyl Phosphorylcholine Copolymer as a Novel Synthetic Blocking Reagent in Immunoassay System. *Polym J* 2000 ; 32 : 637-641.
- 15) Takei K, Konno T, Watanabe J, et al : Regulation of enzyme-substrate complexation by a substrate conjugated with a phospholipid polymer. *Biomacromolecules* 2004 ; 5 (3) : 858-62.
- 16) Sakai-Kato K, Kato M, Ishihara K, et al : An enzyme-immobilization method for integration of biofunctions on a microchip using a water-soluble amphiphilic phospholipid polymer having a reacting group. *Lab Chip* 2004 ; 4 : 4-6.
- 17) Konno T, Watabnabe J, Ishihara K : Conjugation of enzymes on polymer nanoparticles covered with phosphorylcholine groups. *Biomacromolecules* 2004 ; 5 (2) : 342-7.
- 18) Kinoshita K, Fujimoto K, Yakabe T, et al : Multiple primer extension by DNA polymerase on a novel plastic DNA array coated with a biocompatible polymer. *Nucleic Acids Res* 2007 ; 35 (1) : e3.
- 19) Xu Y, Takai M, Konno T, et al : Microfluidic flow control on charged phospholipid polymer interface. *Lab Chip* 2007 ; 7 (2) : 199-206.
- 20) Iwata R, Suk-In P, Hoven VP, et al : Control of nanobiointerfaces generated from well-defined biomimetic polymer brushes for protein and cell manipulations. *Biomacromolecules* 2004 ; 5 (6) : 2308-14.

- 21) Feng W, Zhu S, Ishihara K, et al : Protein Resistant Surfaces : Comparison of Acrylate Graft Polymers Bearing Oligo-ethylene Oxide and Phosphorylcholine Side Chains. *Biointerphases* 2006 ; 1 (1) : 50-60.
- 22) Poilane N, Takai M, Ishihara K : Well Defined Surface Preparation with Phospholipid Polymers for Highly Sensitive Immunoassays. *Key Eng Mater* 2007 ; 342-343 : 889-92.
- 23) Sibarani J, Konno T, Takai M, et al : Surface Modification by Grafting with Biocompatible 2-Methacryloyloxyethyl Phosphorylcholine for Microfluidic Devices. *Key Eng Mater* 2007 ; 342-343 : 789-92.
- 24) Konno T, Kawazoe N, Chen G, et al : Culture of mouse embryonic stem cells on photoimmobilized polymers. *J Biosci Bioeng* 2006 ; 102 (4) : 304-10.
- 25) 古蘭 勉, 岡田正弘 編 : ヴィジュアルでわかるバイオマテリアル, 秀潤社, 東京, 2006.



人工臓器とは

私たちの体は多数の細胞から構成される組織と、組織の複合体である臓器からなる。これらの組織や臓器は、病気やけが（外傷）で本来の機能を発揮できなくなることがある。その機能喪失が重度になると薬剤等による保存的な治療や手術による部分的な修復が無効となり、臓器移植や人工臓器による治療が必要となる。臓器移植は有効な治療法の1つであるが、臓器の提供数には限りがある。このような現状を踏まえ、さまざまな人工臓器の研究開発が進められており、また、多数の人工臓器が実用化されている（表3-7）。

人工臓器という名称から、人工心臓や人工肝臓など生命維持に不可欠な臓器の代替物が連想されるが、例えば人工血管や人工神経など組織の代替物も人工臓器に含まれる。また、私たちになじみの深いコンタクトレンズや、歯科で用いられるインプラント（人工歯根）も人工臓器に含まれる。心臓のペースメーカー^{注5}、人工心臓弁や人工関節などのように、生涯にわたり体内に置かれるものもあれば、人工透析（腎臓）^{注6}や人工心肺など、体外で効果を発揮するものもある。このように、人工臓器は、その代替する機能、設置される場所により、それぞれ異なった特質を求められている。

人工臓器の研究開発は、当初は工学的なアプローチのみで行われてきた。しかし、近年では、遺伝子工学や組織工学（再生医学）などのバイオテクノロジーや、ナノテクノロジーの技術を応用した研究開発が行われており、医療側のニーズと工学側の技術が結びついた、医工連携による研究開発の成果と考えることができる。第Ⅲ節では近年目覚ましい進歩を遂げている代表的な人工臓器について概説する。

表3-7 主な人工臓器の種類

- 循環・呼吸系：人工心臓・ペースメーカー・人工弁・人工血管・人工（心）肺・人工血液
- 消化系：人工歯・人工歯根（インプラント）・人工腸管・人工肛門
- 代謝・浄化系：人工腎臓・人工肝臓・人工脾臓
- 構造・骨格系：人工関節・人工靭帯・人工骨・人工皮膚・人工硬膜
- 感覚系：人工角膜・人工網膜・人工内耳・眼内レンズ・コンタクトレンズ・人工神経
- 美容系：人工乳房・人工頭髪 など

注5：ペースメーカー 機能を喪失した心臓の刺激伝達系に代わり、心臓に定期的に電気刺激を与えて心臓の拍動を起こさせる医療機器。

注6：人工腎臓（透析） 血液透析と腹膜透析の2種類からなる腎不全の治療方法。我が国では前者が多く行われている。血液透析では、半透膜からなる径約0.2mmの中空糸を約1万本束ねたダイアライザーに一定量の血液を送り、拡散・限外ろ過の原理で、老廃物・過剰な水分の除去、電解質の濃度・血液pHの調節を行う。

1) 心臓の働きと心不全

心臓は、全身からの血液が戻る右心房、肺に血流を送る右心室、肺からの血流が戻る左心房、全身に血液を送る左心室の二心房二心室からなり、筋肉（心筋）を介して血液の循環を行うポンプの働きを担っている。心筋に生じた異常などでポンプ機能が低下する状態を心不全というが、薬剤による治療が無効の重度の心不全では、このポンプ機能を補助・代替する治療が必要となり、心臓移植や人工心臓手術の適応になる。

2) 心臓移植の現状

心臓移植は1967年に南アフリカで行われて以降、これまでに7万件を超える手術が行われており、安定した成績が期待できる治療として確立されている¹⁶⁾。一方で国際的にもドナー不足は深刻であり、国内では2006年7月末現在で247人が心臓移植候補として登録しているのに対し、1997年10月～2006年8月までの約10年間でも36人の心臓移植手術しか行われておらず、手術までの平均待機期間は767日である¹⁷⁾。

3) 人工心臓の開発

(1) 完全人工心臓と補助人工心臓

世界で最初の人工心臓は、1958年に開発されたものとされている。この人工心臓は空気圧で動かすポンプ型のもので、イヌの心臓を1.5時間動かしたものであったが、当時としては画期的な発明であった。その後1964年に米国で人工心臓プログラムが始まり、研究開発が本格化した。人工心臓は、機能の面から完全（置換型）人工心臓（total artificial heart ; TAH）と補助人工心臓（ventricular assist system ; VAS）に分類することができる。完全人工心臓は心臓の左心室・右心室部分を取り除き、血液ポンプに置き換えるものである。これに対し補助人工心臓は自分の心臓は残し、低下したポンプ機能を補うために使用されるものである。補助人工心臓には左心補助人工心臓、右左心補助人工心臓、両心補助人工心臓があるが、心臓の中では全身に血液を送る左心室が最も強いポンプ機能を必要としており、左心室から脱血して血液を大動脈へ戻す左心補助人工心臓が広く使用されている。

(2) 我が国で使用されている補助人工心臓

生涯を通じ永久に使用できる完全人工心臓を目指して始まった研究開発であるが、克服すべき課題が多く、現在でも海外で少数の完全人工心臓が実用化されているに過ぎず、補助人工心臓の役割が高まっている。現在我が国では、数種類の補助人工心臓が実用化されており、年間170件以上の手術が行われているが¹⁸⁾、末期の重度心不全で治療が長期にわたる症例には我が国で開発された2種類が頻用されている。これらは、ダイヤフラム型、サック型という形式の拍動流型の血液ポンプを有する補助人工心臓である。ダイヤフラムあるいはサックを空気圧で収縮させることにより、本来の心臓と同様に血液を補助人工心臓に引き込み、人工心臓弁を介して拍出するというポンプ作用を発揮している。ダイヤフラムやサックは、血液接触面に使用され、繰り返し変形を受けることから、血液適合性、柔軟性、強靱性、耐久性が求められており、さまざまな工夫が施されている。例えば、ダイヤフラムの素材に

は、疎水性と親水性の相分離構造を有するセグメント化ポリウレタン (SPU) が使用されている。SPUの硬い相 (ハードセグメント) が強度を、柔らかい相 (ソフトセグメント) が柔軟性を付与するとされている¹⁹⁾ (第II部2章4-2) を参照)。また、サックの素材には柔軟性に優れた特殊塩化ビニル (PVC) が用いられており、血液適合性改善のため、サック表面を継ぎ目のない平滑な構造にし、抗血栓性を持つカーディオサンでコーティングしている。

(3) 次世代の補助人工心臓

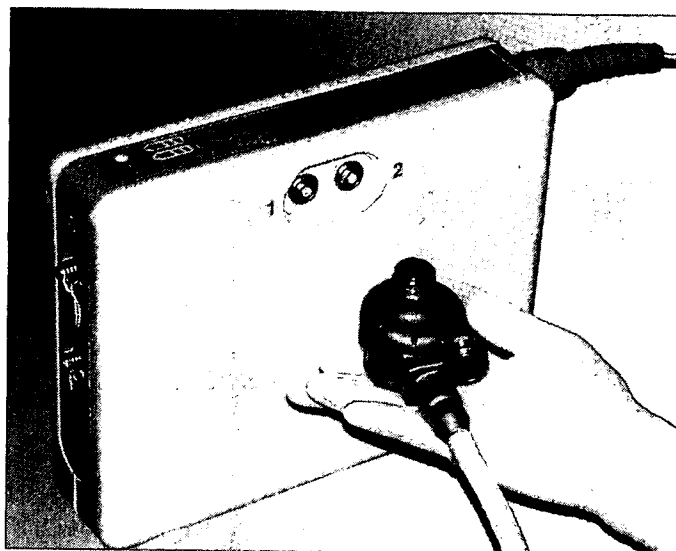
補助人工心臓は急性期の重度心不全の治療に用いられるほか、慢性的にドナーが不足する心臓移植までの待機期間の橋渡しをする「ブリッジ治療 (bridge to transplantation ; BTT)」にも使用されており、最近では年単位での使用も報告されるなど、優れた治療成績を挙げている。一方、長期使用などへのニーズが高まることにより、いくつかの克服すべき課題も生じている。まず、体外の血液ポンプと心臓をつなぐ血液チューブの体内への刺入部から感染を引き起こすことがある。また、前述の工夫はなされているものの、血液を貯めて拍出するという性質上、どうしても血栓ができやすく、脳血栓症という重篤な合併症の原因となることがある。さらに、小型化は進んでいるものの、圧縮空気を作り出す体外の駆動装置が必要となり、自宅療養や職場復帰の際の自由度が制限される。日本人の小柄な体格を考えた場合、ポンプの小型化も重要な課題である。

これらの課題を克服するため、近年ではロータリーポンプを用いた次世代の補助人工心臓の開発が進んでいる。ロータリーポンプは羽根車 (インペラー) の回転によって血液を送り出す仕組みになっているが、主に軸流ポンプと遠心ポンプに分類される。軸流ポンプは羽根車の前後に作用する揚力を利用して回転軸方向に血液を送るのに対し、遠心ポンプは回転軸に対して垂直方向に作用する遠心力を利用して血液を送る²⁰⁾。ロータリーポンプを用いた補助人工心臓はポンプの小型化が可能であり、小柄な日本人にも埋め込むことが可能である。一方、ロータリーポンプにより生じる血流は連続流となり、脈のない無拍動流である。生理的な拍動流がないことによる副作用は報告されていないが、今後も長期の経過を見る必要がある^{20) 21)}。

現在、我が国発の遠心ポンプを用いた2種類の補助人工心臓の臨床試験が国内外で行われており、実用化が間近なところまできている。このうちの1つは、グループ軸受で支持した遠心ポンプの羽根車を駆動し、血液を左心室より吸引し上行大動脈へ駆出するものである。ポンプのモーター内部で滅菌水を環流させ、軸受部の潤滑とモーター自体の冷却を行うとともに、軸受部のシールより漏出する血中タンパク成分をwash outすることで血栓の形成の抑制を図っている (クールシールシステム)^{22) 23)}。また、素材の純チタン表面を、血栓形成抑制効果のあるMPCポリマー (第II部2章4-3) を参照) でコーティングをしている (図3-5)²³⁾。

もう1つは、磁気浮上型遠心ポンプを持つ補助人工心臓である。羽根車は2枚のリングで挟まれており、一方のリングに組み込んだ永久磁石と、モーター側に組み込んだ磁石との磁気カップリングにより回転する。羽根車の反対側に取り付けた磁性金属リングを電磁石で吸引し、その電磁石電流は羽根車が常に血液室の中心に浮いた状態を保つように制御される。血液室に機械的な摩擦がないため、長期の機械的な寿命が期待できる。また、機械的に接触する部位、摺動部に発生しやすい血栓の形成抑制も期待できる²⁰⁾。

図3-5 補助人工心臓



写真提供 (株) サンメディカル技術研究所

4) 今後の展望

以上のように、心臓移植への「ブリッジ治療」に用いられてきた補助人工心臓であるが、技術が急速に進歩しており、長期使用に耐え得る性質を持ったものが開発されており、恒久的治療 (destination therapy ; DT) を達成できるデバイスとして期待されている。「ブリッジ治療」の開始当初は、末期重症心不全に対し補助人工心臓が装着された場合は、補助人工心臓からの離脱は極めて困難とされていた。しかし、近年になり補助人工心臓からの離脱例が報告されるようになり、「自己心機能回復への橋渡し (bridge to recovery ; BTR)」の概念が提唱されるようになってきた²²⁾。今後は、薬物療法や心臓弁形成などの外科的治療の併用、再生医療との組み合わせによる発展が強く期待される。



人工関節

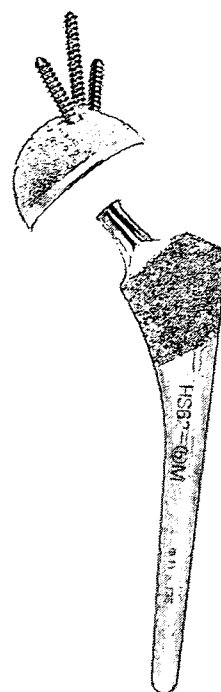
1) 人工関節とは

私たちの体内には数多くの関節が存在し、運動のほとんどは関節を介して行われる。関節は加齢、変形性関節症や関節リウマチなどの病気、外傷 (骨折など) によりその性質・形状に変化を来し、これらが進行すると痛みや運動制限の原因となる。初期の段階では薬物療法、運動療法、装具療法などの保存的な治療が行われるが、これらの治療法が無効で関節の機能が失われた場合には、手術により外科的に治療する必要がある。人工関節置換手術は、機能が失われた関節を人工関節に置き換える手術である。股関節、膝関節、肘関節、肩関節、足関節、指関節などの人工関節が実用化されており、関節の動き (可動域) の改善と除痛をほぼ確実に獲得できる優れた治療法として、国内で年間12万件以上の手術が行われている。なかでも人工股関節、人工膝関節の手術は、人工関節手術全体の90%以上を占めるなど、広く行われている手術である¹⁸⁾。

人工関節手術は19世紀ごろより行われていたとされている。現在使用されている人工股関節、

人工膝関節は、1960～70年代に開発されたものが原型となっているが、基本的に私たちの関節を模した構造になっている。例えば人工股関節では骨盤の寛骨臼という受け皿（くぼみ）の代わりに金属製のカップを固定し、太もも（大腿骨）の側には金属製のステムと呼ばれる部品を固定している。カップに固定した超高分子量ポリエチレン（ultra high molecular weight polyethylene；UHMWPE，以下PE）製のライナーという部品との間で関節を構成する（図3-6）。

図3-6 人工股関節



写真提供
日本メディカルマテリアル(株)

2) 人工関節の緩み

人工関節は実用化から50年近くがたち、これまでにさまざまな改良が行われている。例えば、材料の点では、カップやステムの素材には生体適合性が高いチタン合金が用いられるようになった。また、インプラントの骨へ固定方法としては polymethyl methacrylate (PMMA) からなる骨セメントや、インプラント表面に骨を誘導するポーラスコーティングなどの技術が開発された。手術の合併症である感染の予防には、クリーンルームという手術室が使われるようになり、そのリスクは低下した。人工関節手術は、以上のような、材料、デザイン、手術手技、術後管理などの面でさまざまな改良がなされ、よりよいADL (activities of daily living)・QOL (quality of life) の獲得に大きな役割を果たしている。しかし、手術後人工関節の周囲に生じる骨吸収とこれに続発するインプラントの緩みは、今なお根本的な解決策が得られておらず、人工関節の長期予後を決定的な合併症である。人工関節周囲の骨吸収のみで症状が出ることはまれであるが、骨吸収の範囲の拡大と体重負荷（荷重）などのメカニカルストレスによりインプラントは固定性を失い、痛みや関節の運動範囲の制限のため入れ換えの手術（再置換手術）が必要となる。一方、社会の高齢化とともに、人工関節を入れた患者のその後の人生は長期化している。つまり人工関節を受けた患者は再置換手術の潜在的な対象であり、生涯に数回の再置換手術が必要となることがあるため、その件数は今後飛躍的に増加し続けることが予想される。また、特に我が国においては将来の再置換手術回数をなるべく減らすため人工関節手術が中高年以降となることが多いが、実際の臨床の場においては人工関節手術以外では治療しえない末期の関節症の若年患者も少なくなく、治療に難渋することも多い。従って、人工関節の弛みを防止し、耐久性（寿命）を延長することは、重要な課題である。

3) 人工関節の緩みの原因

緩みの原因についてはこれまでに数多くの研究が行われてきたが、人工関節周囲から生じる submicron size の微小摩耗粉に対する生体の異物反応が惹起する“particle disease”であることが明らかになっている。これらの摩耗粉には、関節摺動面から生じるPE、金属（コバルトクロム合金・チタン）、セラミックス（アルミナ・ジルコニア）、そして、時に人工関節の固定に用いられる骨セメントなどがある。それぞれの微粒子が骨吸収に与える影響については諸説が

あるものの、微粒子の中ではPEの摩耗粉が圧倒的に多く、緩みの主因と考えられている²⁴⁾。これらの摩耗粉は体内で異物を貪食するマクロファージ (MΦ) に取り込まれ、サイトカインやプロスタグランジンなどの液性因子が分泌される。これらの因子の一部が骨を破壊・吸収する細胞 (破骨細胞) の形成・活性を促進し、その結果として人工関節周囲の骨吸収が起きて緩みを生じる²⁵⁾。従って、現在までの緩み抑制のための研究開発は、PE摩耗粉を減少させること、あるいは、摩耗粉による骨吸収の誘導を抑制することの2つの方向性で行われている。

4) 緩みの抑制のための研究開発

(1) 薬剤療法・遺伝子治療

骨吸収の誘導を抑制する目的で、抗サイトカイン抗体や破骨細胞形成抑制因子 (osteoprotegerin ; OPG) などを用いた薬物療法、遺伝子治療が研究開発されており、*in vitro/vivo* で良好な結果を得ているものもある。マクロファージが異物を貪食する機能は生体に必須のものであり、全身への副作用をいかに抑制するかが今後の課題であるが、今後の発展が期待できるアプローチ方法である。

(2) 関節面の組み合わせによる摩耗粉産生抑制

人工関節再置換手術時のインプラント周囲の解析によれば、組織1g当たり 1×10^{10} 個の摩耗粉の産生が骨吸収を生じる境界値とされており²⁶⁾、骨吸収はPEの摩耗粉の量に依存した現象である。従って、PEの摩耗粉の量を抑制することも緩みの阻止のための有効な手段と考えられており、関節面の組み合わせを変えることで耐摩耗特性の改善を図る研究開発が行われている。

従来使用されていたコバルトクロム合金製の金属骨頭の代わりに、より表面精度を上げやすいアルミナセラミックス骨頭を用いた人工関節も、摩耗を抑制する手法として実用化されており、耐摩耗特性の改善が報告されている²⁷⁾。一方セラミックス特有の脆弱性の問題があり、少数ではあるが体内での破損例も報告されている。ジルコニアセラミックスは骨頭に用いた場合アルミナに匹敵する摩耗特性を示し、かつアルミナの約2倍の力学的強度があるため、アルミナに代わる材料として実用化されたが、生体内で結晶構造が正方晶形から単斜晶形に経年的に変化し力学的強度が劣化される可能性が指摘され、アルミナほど臨床では使用されていない。

PEを用いない人工関節としては金属対金属、セラミックス対セラミックスの関節面を持つ人工関節が実用化されている。金属同士での摩擦では摩耗粉は少ないものの、コバルトやクロムなどの金属イオンの溶出も報告されている。体内への金属イオンの溶出による発癌性への懸念も、現時点では疫学的に有意差はみられていないものの、議論の続いているところである。

以上のように関節面の組み合わせにはそれぞれ長所、短所があり、実際の臨床の場では症例により使い分けを行っている。

(3) PEの改質による摩耗粉産生抑制

PEは摩耗粉の問題はあるものの、溶出物もなく、化学的に安定な材料であり、相手の形状に応じて変形する柔軟性を有し、成形しやすいという特質を有するため、臨床の場では金属あるいはセラミックス製の摺動面の相手として圧倒的にPEが用いられているのが現状である。そこで、PE自体を改質して、耐摩耗特性の改善を図る数多くの研究開発が行われているが、我が国で開発されたクロスリンクポリエチレン (CLPE) は優れた技術として世界的に

使用されている。これは、100Mradという高線量の γ 線照射をすることでPEの非結晶部分の架橋(crosslink)を増加させたもので、基礎実験で摩耗量を減らすことに成功し、1970年代からの臨床的使用により良好な長期成績が報告されている²⁸⁾。当初は γ 線照射時に発生するfree radicalによる機械的強度の低下が問題とされていたが、熱処理方法の改良などでこの問題は解決されつつあり、現在では照射量5~10MradのCLPEが人工股関節の関節摺動面に実用化されており、短期~中期の臨床成績が報告され始めている。一方、架橋によりPEの柔軟性が低下するため、人工膝関節の関節摺動面におけるCLPEの有効性は今なお議論の分かれるところであり、この分野への応用は積極的には進んでいない。

(4) PEのナノ表面処理による摩耗粉産生抑制

私たちの関節軟骨は、生涯にわたり荷重や運動の負荷を受け続けるにもかかわらず、少なくとも数十年にわたり関節面を保護し、その潤滑機構を改善するなど、優れた表面構造を構築する。この関節軟骨の表面にナノスケールのリン脂質層が存在し、この層が関節面の保護と潤滑機構の改善に寄与している。そこで、人工関節の関節摺動面を生体適合性の高いリン脂質ポリマーで被覆し、耐摩耗特性を改善させる研究開発が行われている。これは、临床上使用されているPEライナーの表面に、MPCポリマー(第II部第2章4-3)参照)を光グラフト重合するもので、PEとMPCの炭素原子同士が安定に共有結合し、表層に100~200nmのMPC層が形成される²⁹⁾。MPCポリマーは、生体細胞膜と同様ホスホリルコリン基を有するため優れた生体適合性を発揮する。基材表面をMPCで被覆することにより、細胞接着、タンパク吸着、血栓形成が抑制されるほか、生体内で異物としての認識をうけないことから細胞系の活性化を抑制することが期待できる²³⁾。また、親水性のMPCポリマーを疎水性のPE表面にグラフトすることで、水の薄膜が形成され、関節摺動面の潤滑機構が改善される。人工股関節手術後の歩行を再現するシミュレーターを用いた基礎検討において、関節摺動面のトルクが低下すること、摩耗量が顕著に抑制すること、表面処理効果が長期にわたり持続することが報告されている³⁰⁾。

(5) 今後の展望

これまでの研究開発により、少なくとも人工関節手術後10~15年の臨床成績は安定しており、今後はより長期の耐久性を持った人工関節の開発へ向け、さまざまな研究開発が行われていくだろう。現在の人工関節では基本的に日常生活の制限はないものの、激しい運動は制限されているほか、特に活動度の高い若年者へは慎重な適応が求められている。耐久性の向上が、単なる耐用年数延長にとどまらず、活動制限の少ない、よりQOLを高めることのできる人工関節へとつながる必要があるだろう。また、近年目覚ましい進歩を遂げている再生医療であるが、歩行により体重の約5倍の負荷がかかることされる関節全体を再生骨・軟骨で置き換える組織再生の実現には、まだ時間を要することが予測される。すでに臨床成績の確立した人工関節と再生骨・軟骨をうまく組み合わせた治療法の開発が期待される。

(茂呂 徹)

参考文献

- 1) <http://www.zyvex.com:80/nanotech/feynman.html> (2007年10月1日アクセス)
- 2) (訳文はすべて本講演を収載している以下の訳書による。)
リチャード・P.ファインマン:ファインマンさんベストエッセイ, 大貫昌子, 江沢洋 訳, 岩波書店, 東京, 2001.
- 3) 日本生化学会 編:細胞機能と代謝マップII 細胞の動的機能, 東京化学同人, 東京, 1998.

- 4) 浅島誠 編著：再生医療の基礎シリーズ1. 再生医療のための発生生物学, コロナ社, 東京, 2006.
- 5) 西川伸一：痛快！人体再生学, 集英社インターナショナル, 東京, 2003.
- 6) 上野直人, 野地澄晴 編：キーワードで理解する 発生・再生イラストマップ, 羊土社, 東京, 2005.
- 7) 中辻憲夫：ヒトES細胞 なぜ万能か, 岩波書店, 東京, 2002.
- 8) 鄭雄一：ティッシュ・エンジニアリング—臨床生命情報学入門, 永井良三 監修, 杏林図書, 東京, 2006 : 120-128.
- 9) Ohba S, Ikeda T, Kugimiya F, et al : Identification of a potent combination of osteogenic genes for bone regeneration using embryonic stem (ES) cell-based sensor. *FASEB J*. 2007 in press.
- 10) Mussano F, Ciccone G, Ceccarelli M, et al : Bone morphogenetic proteins and bone defects. *Spine* 2007 ; 32 (7) : 824-830.
- 11) Sato M : Imaging molecular events in single living cells. *Anal Bioanal Chem*. 2006 ; 386 : 435-43.
- 12) Itaka K, Ohba S, Chung U, et al : Bone regeneration by regulated in vivo gene transfer using biocompatible polyplex nanomicelles. *Mol Ther*. 2007 in press.
- 13) Igawa K, Mochizuki M, Sugimori O, et al : Tailor-made tricalcium phosphate bone implant directly fabricated by a three-dimensional ink-jet printer. *J Artif Organ*. 2006 ; 9 : 234-240.
- 14) Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, et al : Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *N Engl J Med*. 2004 ; 351 : 1187-96.
- 15) Shimizu T, Sekine H, Isoi Y, et al : Polysurgery of cell sheet grafts overcomes diffusion limits to produce thick, vascularized myocardial tissues. *FASEB J*. 2006 ; 20 : 708-10.
- 16) Heart/Lung Registries ISHLT <http://www.ishlt.org/>
- 17) 日本移植学会 臓器移植ファクトブック2006 <http://www.asas.or.jp/jst/factbook/2006/index.html>
- 18) 矢野経済研究所 メディカルバイオニクス (人工臓器) 市場の中期予測と参入企業の徹底分析
- 19) 林紘三郎：人工臓器や補綴物への応用, 生体材料学, 日本機械学会編, オーム社, 東京, 1993 : 15-44.
- 20) 野尻知里：磁気浮上型人工心臓, 日外会誌. 2002 ; 103 (9) : 607-610.
- 21) 阿部祐輔：人工心臓 (基礎), 人工臓器. 2005 ; 34 (3) : 136-138.
- 22) 西村元延：人工心臓 (臨床), 人工臓器. 2005 ; 34 (3) : 131-135.
- 23) Ishihara K, Oshida H, Endo Y, et al : Hemocompatibility of human whole blood on polymers with a phospholipid polar group and its mechanism. *J Biomed Mater Res*. 1992 ; 26 : 1543-1552.
- 24) Goodman SB, Chin RC, Chiou SS, et al : A clinical-pathologic-biochemical study of the membrane surrounding loosened and nonloosened total hip arthroplasties. *Clin Orthop* 1989 ; 244 : 182-7.
- 25) Jacobs JJ, Roebuck KA, Archibeck M, et al : Osteolysis : basic science. *Clin Orthop*. 2001 ; 393 : 71-7.
- 26) Kobayashi A, Bonfield W, Kadoya Y, et al : The size and shape of particulate polyethylene wear debris in total joint replacements. *Proc Inst Mech Eng [H]*. 1997 ; 211 (1) : 11-5.
- 27) Zichner LP, Willert HG : Comparison of alumina-polyethylene and metal-polyethylene in clinical trials. *Clin Orthop Relat Res*. 1992 ; 282 : 86-94.
- 28) Oonishi H, Kadoya Y, Masuda S : Gamma-irradiated cross-linked polyethylene in total hip replacements--analysis of retrieved sockets after long-term implantation. *J Biomed Mater Res*. 2001 ; 58 (2) : 167-71.
- 29) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, et al : Surface grafting of artificial joints with a biocompatible polymer for preventing periprosthetic osteolysis. *Nat Mater*. 2004 ; 3 (11) : 829-36.
- 30) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, et al : 2006 Frank Stinchfield Award : grafting of biocompatible polymer for longevity of artificial hip joints. *Clin Orthop Relat Res*. 2006 ; 453 : 58-63.

第8章 自発的・可逆的にゲル化する生体内 ソフトデバイスとしてのリン脂質 ポリマーハイドロゲル

金野智浩^{*1}, 石原一彦^{*2}

1 はじめに

ポリマーハイドロゲルはポリマー鎖間に作用する相互作用力により特性が変化するため、多機能なソフトマテリアルとしての応用が期待されている。とりわけ医療デバイスとしては、生体分子や細胞と組み合わせた周囲の情報受信と伝達および変換、あるいは内包される分子や細胞の保持輸送と制御放出に注目が集められる¹⁾。このようなポリマーハイドロゲルから実現される医療デバイスをソフトバイオデバイスとして定義する。しかし一方、従来のポリマーハイドロゲルは生体分子や細胞と接触すると、石灰化やカプセル化といった生体異物反応を誘起する。石灰化は含水率の高いポリマーハイドロゲルに特徴的でゲル内部に各種イオンが沈着することに起因する。またカプセル化はタンパク質分子の非特異的吸着に起因する。つまり、既存の多くのポリマーハイドロゲルは生体親和性が十分とは言い難く、ソフトバイオデバイスとして応用するには課題が山積している。天然高分子や生体高分子または合成高分子といった各種ポリマーと生体分子との非特異的相互作用を制御する試みは数多く行われてきた。合成高分子としてはポリ(2-ヒドロキシエチルメタクリレート)などの親水性ポリマーが良く知られている。しかし、これらもまた生体異物反応を抑止するには至っていない。そのような状況の中、現在のところ、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)を一成分としたMPCポリマーは生体分子との非特異的相互作用を抑制する合成高分子の一つとして知られており、これを基盤とした各種医療デバイスが検討されている²⁻⁴⁾。

次に、ハイドロゲルをソフトバイオデバイスとして利用する際には調製方法も極めて重要である。物理架橋型のハイドロゲルはその構造を周辺環境の変化に応じて変化できる点や調製方法の容易さの観点から時間的に制約される手術現場や迅速な作業が要求される細胞操作時において有用である。また、ハイドロゲルの分子設計によっては自発的にゲル化するばかりでなく可逆的に

* 1 Tomohiro Konno 東京大学 大学院工学系研究科 マテリアル工学専攻 助教

* 2 Kazuhiko Ishihara 東京大学 大学院工学系研究科 マテリアル工学専攻 教授

ゲル化させることも可能である。これらの点において物理架橋型のハイドロゲルはソフトバイオデバイスとしての応用の幅が広く有用である。

本稿ではポリマーハイドロゲルの構成単位であるモノマーから分子設計することで高い生体親和性を実現したソフトバイオデバイスについてその医療分野への応用について概説する。

2 経口投与型コントロールドリリースデバイス

外部環境に敏感に応答して物性が変化するハイドロゲルの特徴を活かすことでゲル内に内包した物質の放出が制御できる。図1に示すように消化器系のpHは胃では1.3から腸では6.6へと変化する。ここではこのようなpH変化に応じたペプチド医薬の制御放出システムを可能にするポリマーハイドロゲルを紹介する。

MPCとメタクリル酸（PMA）およびMPCとメタクリル酸ブチル（PMB）をそれぞれ共重合して水溶性ポリマー（図2）を合成した。

PMBは両親媒性ポリマーであり、水中では疎水性相互作用を駆動力とした会合体構造を構築する^{5,6}。つまりPMBは水中に誘電率の低い疎水場を構築する。疎水性領域内ではカルボキシレートアニオンの解離は抑制され、2つの非解離型のカルボキシル基間で水素結合が形成する。これによってPMAとPMBの水溶液を混合するとPMAが水素結合を介して架橋されることによ

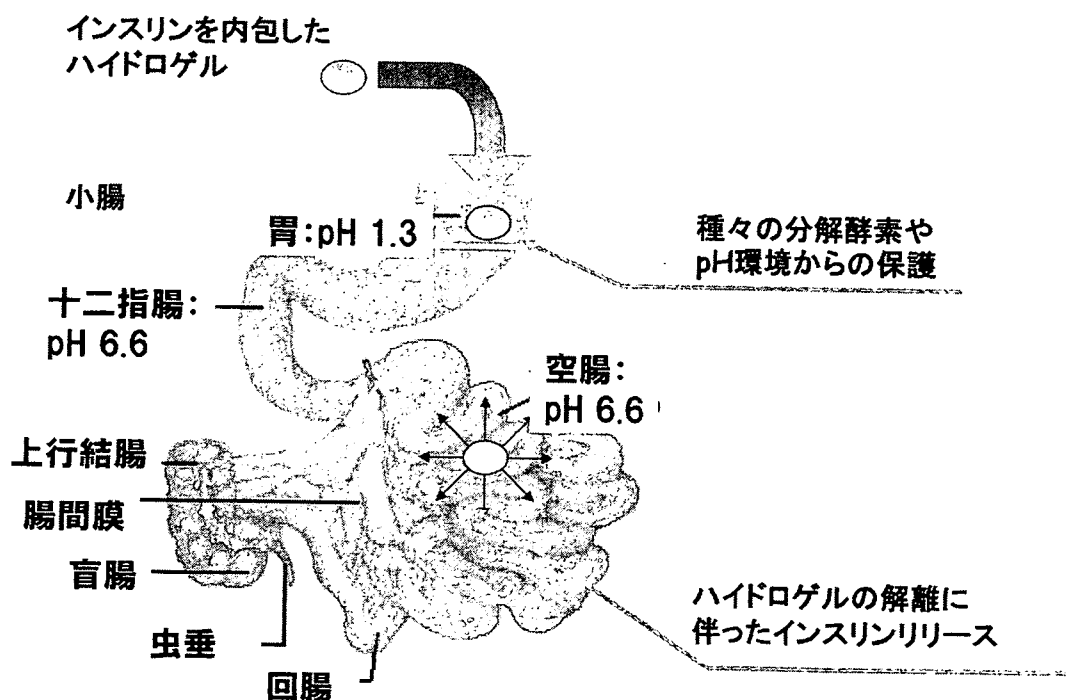


図1 消化器系内のpH変化

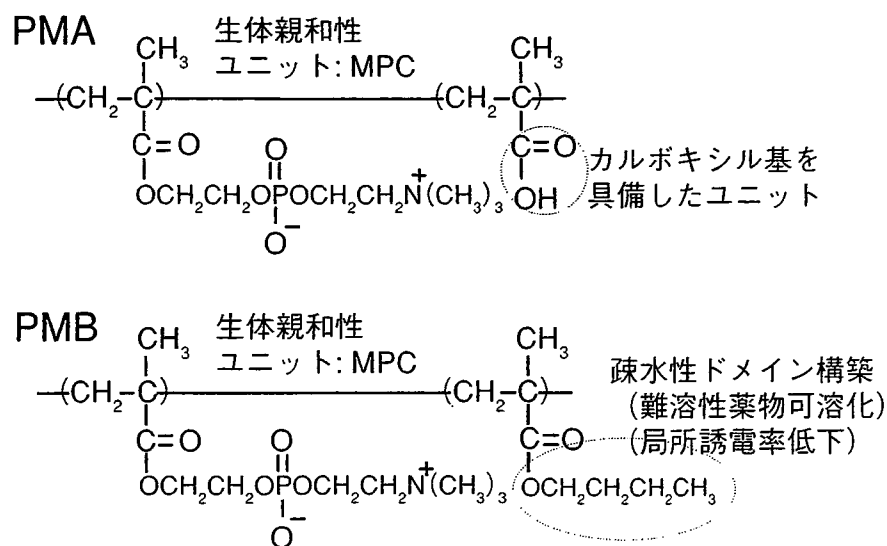


図2 水溶性リン脂質ポリマー PMA と PMB の構造式

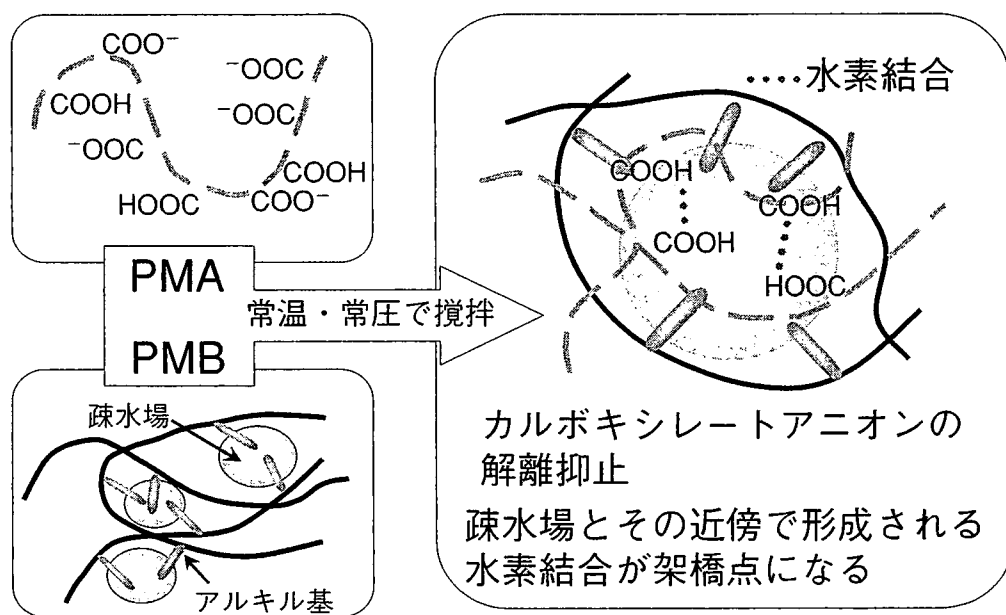


図3 ABゲルの形成機構

り自発的にゲルが生成する (図3)。

PMA と PMB の 5 wt% 水溶液をそれぞれ調製し、ダブルルーメン型のカテーテルから押し出すと先端に水ゲル (ABゲル) が得られた (図4)。これは水ゲル調製時の操作性が高いことを示す。

ABゲルについて分光学的に検討したところ、ゲル化の前後でカルボキシル基が二量体化しており、また pH が高く水素結合が形成しない場合は解離することがわかった⁷⁾。つまり、ABゲル

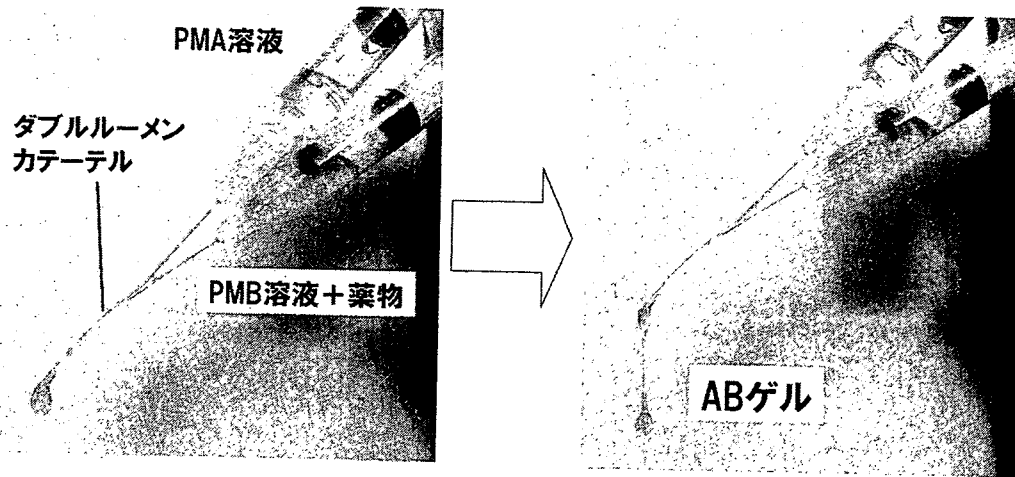


図4 ダブルルーメンカテーテルを用いたABゲル調製時の様子

は経口投与型の制御放出システムの基本戦略に合致していた。ABゲル内部にインスリンを溶解し、経口投与後の素過程のpH変化に対応した制御放出について評価した⁸⁾。図5左に各種濃度および混合比で形成したABゲルからのインスリン放出量の経時変化のpH依存性を示す。また図5右はABゲルの重量変化のpH依存性を示す。

これらの結果からpH 1.8の領域ではインスリン放出が水分子の吸収によるポリマー鎖の再配列に伴った拡散に依存しているのに対して、系内のpHが6.8に変化すると水分子の吸収に伴って放出量が急激に上昇していることがわかる。また、約5時間程度で完全な放出と解離が実現できることがわかる。このように水素結合型のABゲルは生体内

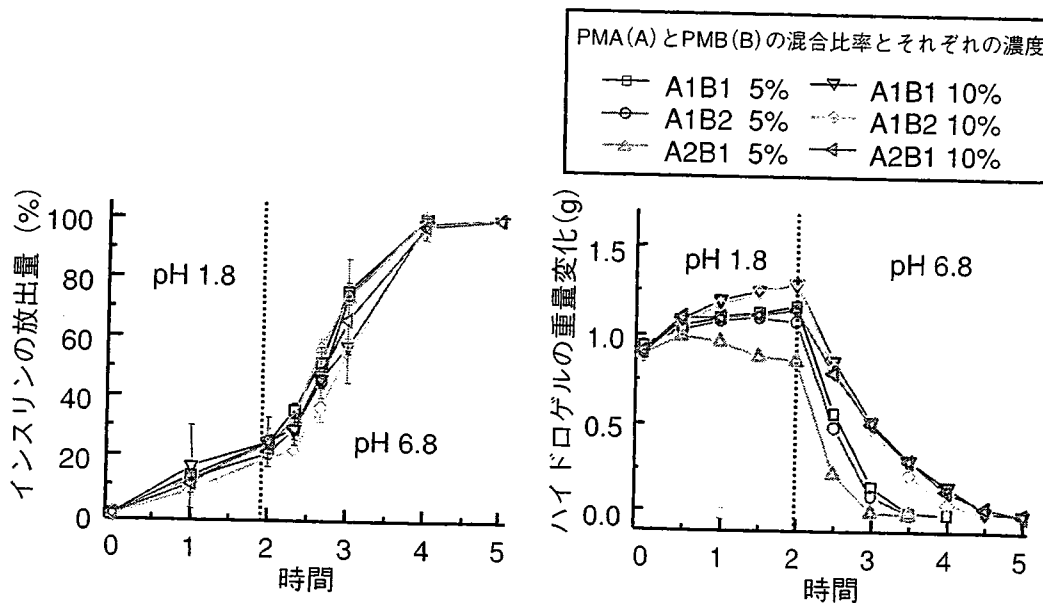


図5 種々の濃度および混合比で調製したABゲルのpH応答によるインスリン放出量の経時変化(左)と水分子の重量の経時変化(右)

の pH 変化に応じて解離する特性を有しており、各種薬物の経口投与に有用なソフトバイオデバイスとして利用できることが示された。

3 癒着防止ハイドロゲル

手術時の組織癒着は避けられない副作用である。癒着は再手術時に術者にとって大変な負担になるばかりか、なによりも患者の社会復帰を遅らせる要因になり得る。対象となる組織間の修復を阻害することなく周辺組織からの細胞接着や伸展に起因する癒着を防止する必要がある。これを一気に解決する革新的なソフトバイオデバイスについて紹介する。

水素結合型の AB ゲルは生体内 pH 環境でゲルが解離するように設計されているが、ここではその解離時間を調節することを検討した。AB ゲルに多価カチオンを導入すると、カルボキシレートアニオン間で新たにイオン架橋を形成し、生理環境下で長期間ゲル状態として存在させることができた⁹⁾。具体的には AB ゲルに Fe^{3+} を含ませると 100 倍量の緩衝溶液中でも短時間では解離せず、安定なゲルを得ることができた (図 6)。

整形外科分野における手術例として腱癒合がある。この腱癒合術の後に AB ゲルを患部で調製後に留置して患部と周囲の生体組織との癒着を防止するための癒着防止デバイスとしての *in*

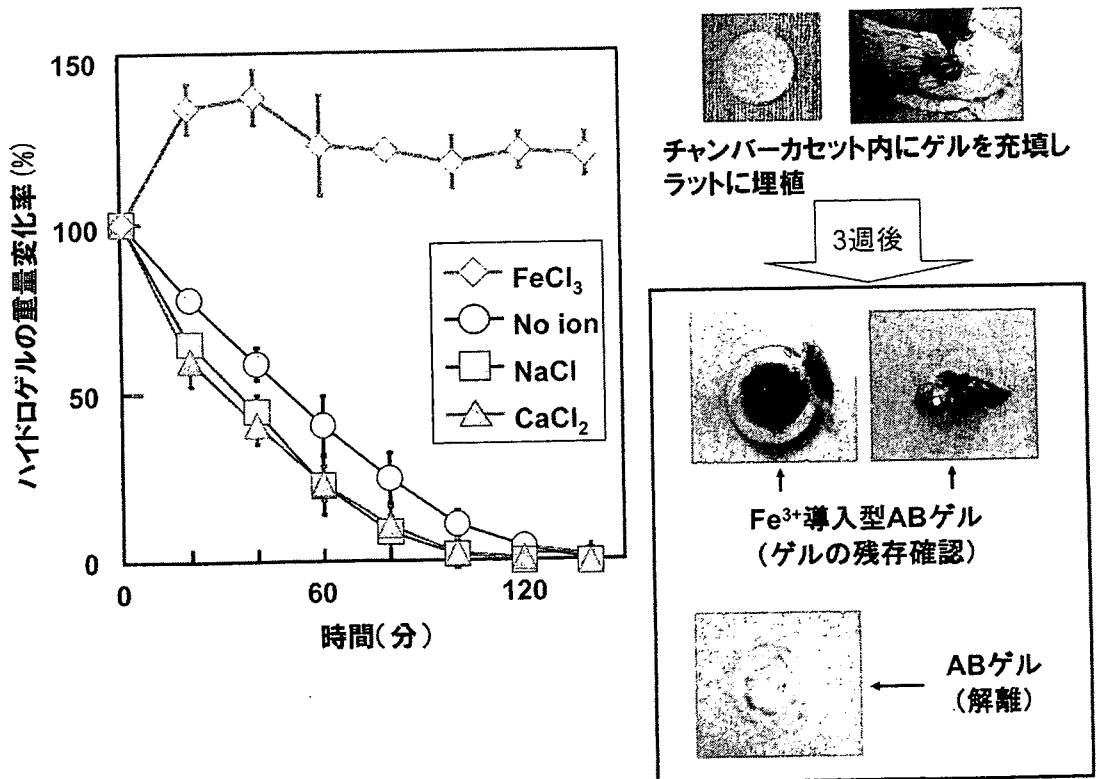


図 6 各種ハイドロゲルの重量の経時変化および *in vivo* における Fe^{3+} 導入型 AB ゲルの安定性