

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

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20年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 川口浩

平成21（2009）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	21
	— ポリマー分子構造の規格化 —	
	石原一彦・三浦俊樹	
2.	MPC ポリマーゲル合成の至適条件の決定	31
	— 細胞の移動性・生存性・移動性に及ぼす影響の検討 —	
	高取吉雄・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	41
	川口浩・茂呂徹	
4.	屈筋腱損傷モデルを用いた組織癒着防止効果の検討	55
	茂呂徹・金野智浩	
5.	マウス骨折モデルを用いた関節拘縮防止効果の検討	67
	石原一彦・高取吉雄	
6.	椎弓切除モデルを用いた硬膜周囲癒着防止効果の検討	79
	川口浩・三浦俊樹	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	93
IV.	研究成果の刊行物・別刷	97

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：我々は、生体適合性と潤滑性に優れた生体内解離性ハイドロゲルを創出した。本研究の目的は、このゲルを、高齢者の支援や介護（自立喪失）の主因となる変形性関節症、外傷・手術後の関節拘縮、組織癒着の治療方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。今年度は、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、④ マウス骨折モデルを用いた関節拘縮防止効果の検討、⑤ ラット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、を行った。

MPC ポリマーゲル合成の至適条件の決定では、埋植後の解離過程および代謝過程を考慮したポリマー構造の最適化を行った。とりわけ、ポリマーの低分子量化について集中して行い、体外排泄可能なポリマーの構造を規定した。また、解離過程についてはポリマー分子内に組み込んだ機能性モノマーと糖分子との可逆的な交換反応によって任意に解離可能であることを明らかにした。

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、マウス変形性関節症モデルでの検討を行い、ヒアルロン酸と MPC ポリマーの混合による、関節面の潤滑機構の改善、関節面の保護機構を確認した。

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、新たにウサギ趾腱損傷モデルを確立し、MPC ポリマーゲルが腱組織の修復を阻害することなく、癒着を有意に抑制することを、組織学的、生体力学的な検討等により確認した。

マウス骨折モデルを用いた関節拘縮防止効果の検討では、次年度の検討に向け、大腿骨骨幹部を骨折させ内固定を行った後に骨折の治癒・筋・骨間の癒着を観察する実験モデルを確立した。

ラット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では、次年度の検討に向け、顕微鏡視下に椎弓切除を行って癒着を誘発する実験系、およびその評価方法を確立し、MPC ポリマーゲルを用いた検討を開始した。

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、そ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

わが国における医療の進歩と生活環境基盤の整備により長寿社会が達成されつつある一方で、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。この傾向は全世界でみられ、2000年にWHOが「運動器の10年」の世界運動を充足させるなど、支援や介護の原因となる運動器疾患を克服し、終生健やかに身体を動かすことができる生活の質(QOL)が保証される社会の実現を目指す気運が高まっている。実際にわが国においては、高齢者の要支援・軽度の要介護の原因には運動器疾患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。そこで我々は、この原因となる変形性関節症、外傷・骨折後の関節拘縮と組織癒着の新規治療法として、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)を創出した。MPCポリマーは分担研究者の石原らが創出した高分子材料である。生体細胞膜と同様のリン脂質構造を有するため、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有する。また表面へのタンパク、細胞の接着抑制、血栓の形成抑制、潤滑性など、優れた特質を有している。これらの特質をいかし、ステント、コンタクトレンズ、人工血管、人工関節など様々な医療材料への応用研究が行われており、その一部は医療の現場において既に実用化されている。

これまでの基礎検討により、MPCポリマーゲルが生体適合性、潤滑特性と液性因子の透過性に優れ、表面への細胞接着を抑制すること、生体内の解離速度が制御可能であることを明らかにしている。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、関節潤滑機構改善効果、組織癒着防止効果、関節拘縮防止効果、神経・硬膜外癒着防止効果、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. ポリマー分子量の規定

(分担研究者 石原一彦・三浦俊樹)

1) 低分子量化MPCポリマーの合成

MPCポリマーの分子量として10000以下を獲得するためのポリマー合成、精製法の確立を行った。MPCポリマーの重合時に要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を選択した。重合開始剤の濃度、および仕込みモノマー濃度、組成を変化させて系統的にMPCポリマー合成を行った。

2) ゲル解離特性の検討

5 wt%のMPCポリマー水溶液と2.5 wt%のポリビニルアルコール(PVA)水溶液の等量混合によりPMBVハイドロゲルを調製した。これを種々の糖分子(D-グルコース、D-ガラクトース、D-フルクトース)を含むリン酸緩衝溶液に浸漬し、37°Cに静置した。経時的にハイドロゲルの重量を計測し、重量変化率を求めることでPMBVハイドロゲルの解離特性について検討した。

2. 細胞の移動性・生存性・移動性に及ぼす影響の検討

(分担研究者 高取吉・金野智浩)

1) 対象細胞種の選択・培養条件

組織癒着に働く主な細胞・線維芽細胞のマウス細胞株であるNIH3T3細胞を使用して検討を行った。培養条件は、37°Cおよび5% CO₂とし、培養液は、DMEM

に10% FBS および1%ペニシリン・ストレプトマイシンを混合したものを使用した。

2) MPC ポリマーゲルの細胞移動性への影響の検討

MPC ポリマーゲルがゲル内への細胞の移動を抑制することによって癒着の形成を防止している可能性を確認するため、細胞移動モデルを確立した。これは、2層性の細胞培養ディッシュを使用し、上層に前述の細胞培養液におけるFBSを10%から2%に変更した培養液の細胞懸濁液(5000 cells/well)を、下層には前述の細胞培養液をそのまま入れることで低栄養状態となった細胞を上層から下層へ誘導する細胞培養系である。

上層と下層を分離する細胞接着膜に多数開存している小孔は、細胞が通行できる8.0 μm 径のものを使用した。24 h培養後、細胞接着膜を採取し、上層側に接着している細胞を4%パラホルムアルデヒドにて固定し、ギムザ液にて染色した。小孔を通過して下層側に移動し、染色された細胞数を画像解析ソフトを用いてカウントする細胞移動性試験を行った。MPC群では下層を細胞接着膜上面までMPCポリマーゲルで被覆し、対象群ではMPCポリマーゲルを使用せず、それぞれ細胞を培養した。移動・染色された細胞数を統計学的に検定し、細胞の移動性を検討した。

3) MPC ポリマーゲルの細胞生存性への影響の検討

MPCポリマーゲルが細胞を障害することによって癒着の形成を防止している可能性を確認するため、新たな実験系である細胞生存モデルを確立した。これは、前述の2層性の細胞培養ディッシュを使用し、細胞培養液のFBS濃度は10%のままとし、上層に細胞懸濁液を、下層には培養液のみをそれぞれ入れ、24 h培

養後に試薬を加える実験系である。上層と下層を分離する細胞接着膜に多数開存している小孔は、細胞が通行しにくい3.0 μm 径のものを使用した。MPC群では下層を細胞接着膜下面までMPCポリマーゲルで被覆し、対象群ではMPCポリマーゲルを使用せず、それぞれ細胞を培養した。試薬を加えて1 h後に上層の培養液を採取して、これをサンプルとしたMTTアッセイ法による細胞生存性試験を行った。プレートリーダーにて測定された吸光度を統計学的に検定し、細胞の生存性を検討した。

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 川口浩、茂呂徹)

1. 摩擦試験

昨年度の検討において、MPCポリマー、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ところ、1) 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、改善傾向がみられること、2) 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%改善すること、が明らかとなった。そこで今年度は、MPCポリマー水溶液+ヒアルロン酸ナトリウム水溶液の混合比の条件をかえて摩擦係数を測定し、至適な混合比を検索した。また、新たにHA-MPC共重合体を創出し、これらについても摩擦係数を検討した。

2. マウス変形性関節症モデルにおける検討

昨年度確立したマウス変形性膝関節症モデルに、上記1.で検討した至適混合比のMPCポリマー水溶液+ヒアルロン酸ナトリウム水溶液を加え、その関節潤滑

機構改善効果を検討した。

マウスは C57Black/6J マウス (8 週齢・オス・18-22 g) を使用した。手術用顕微鏡視下に内側側副靭帯 (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。手術後マウスはケージ内を自由に運動できるようにした。手術後 6 週においてマウスを安楽死させた。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・ブロックはマイ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 茂呂徹、金野智浩)

1. ウサギ趾腱損傷モデルの確立

1) 麻酔・前処置・体位：

麻酔薬として塩酸ケタミン (50 mg/ml) とキシラジン (20 mg/ml) を 2:1 にて混合した薬物を準備し、これを筋注 (1 ml/kg) することで麻酔を行った。大腿部に巻いた空気止血帯に送気して止血した。

2) 屈筋腱鞘の切除：

手術用顕微鏡下に右足第 2 趾および第 4 趾の趾屈筋腱直上を皮膚切開後、腱鞘を切除した。

3) 趾屈筋腱の損傷・縫合：

ヒトの指において腱癒着が問題となりやすい Zone II に相当する部位において、趾屈筋腱を切断した。癒着評価用 (第 4 趾) は深趾屈筋腱の半切断のみ行ない、修復評価用 (第 2 趾) は全切断した。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。閉創後、左脚をギプス固定し、以後はケージ内で自由に運動させた。

5) 腱癒着と修復の評価：

腱の連続性が回復する術後 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

PMBV ポリマーと PVA ポリマーの溶液濃度を、昨年度の研究結果にて最も効果が高い組み合わせであった

PMBV:PVA[%]=5.0:2.5 として、組織癒着防止効果を検討した。

腱縫合後に、MPC 群では MPC ポリマーゲルを創内に滴下し、腱縫合部周囲を含む腱全体をゲルで被覆し、対象群では生理食塩水を創内に滴下した。

術後 3 週の時点で、第 4 趾の手術創を再切開し、まず創内を肉眼的に評価した。次に、癒着の程度を評価するため、腱周囲を全周性に鉗子先で鈍的に剥離した後、残存した繊維性癒着組織を剪刀で切離し、この回数を癒着の程度を表す指標として測定した。

また、組織標本は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、7 段階に分類する癒着グレード (癒着が最も弱い場合が 0、最も強い場合が 6) で評価した。さらに、生体力学的に評価するため、レオメーターシステムを用いて、趾屈曲仕事量を測定した。

3. MPC ポリマーゲルの組織修復への影響についての検討

第 2 趾の深趾屈筋腱を周囲組織から切離後に、腱縫合部より遠位に 15 mm 長、近位に 20 mm 長の範囲で採取し、レオメーターシステムを用いて縫合部より近位・遠位それぞれ 5 mm の部位をエアチャックで把持し、遠位方向へ 35 mm/min

の速度で腱が破断するまで牽引し、腱破断張力を測定した。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 骨折モデルを用いた関節拘縮防止効果の検討

(分担研究者 石原一彦・高取吉雄)

1. マウス大腿骨骨折モデルの確立

1) 麻酔・前処置・体位・皮切：

麻酔薬として Avatin を準備し、これを腹腔内注射 (0.02 ml/g) することで麻酔を行った。

2) 大腿骨の全周性剥離：

手術用顕微鏡下に右大腿骨骨幹部を全長に渡り全周性に剥離し、骨と筋肉を分離した。

3) 大腿骨の骨切り：

電動ボーンソーを使用して、骨幹部中央にて大腿骨を骨折させた。

4) 骨折部の内固定：

23G 普通針にて骨髓腔を拡大後、22G スパイナル針の内針を髓内釘として骨切り部を内固定した。

5) MPC ポリマーゲルの滴下・閉創：

創内を生理食塩水にて洗浄後、MPC ポリマーゲルを滴下し、大腿骨周囲を被覆した。

6) 覚醒・運動：

閉創後、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) 骨折部の癒着と骨癒合の評価：

術後 1・3 週で、術後の骨折部の癒着および癒合の状態を以下の 2、3 で評価した。

2. MPC ポリマーゲルの関節拘縮防止効果についての検討

PMBV ポリマーと PVA ポリマーの溶液濃度を、昨年度の研究結果にて最も効果が高い組み合わせであった PMBV:PVA[%]=5.0:2.5 として、関節拘縮防止効果を検討した。

骨切り部の内固定後に、MPC 群では MPC ポリマーゲルを創内に滴下し、骨折部周囲を含む骨幹部全体をゲルで被覆し、対照群では生理食塩水を創内に滴下した。術後 1 週および 3 週の時点で、右大腿の手術創を再切開し、創内を肉眼的に評価した。

3. MPC ポリマーゲルの骨癒合への影響についての検討

術後 1・3 週で、術後の骨折部の骨癒合の状態を単純レントゲン所見にて評価した。

⑤ 椎弓切除モデルを用いた硬膜周囲癒着防止効果の検討

(分担研究者 石原一彦・高取吉雄)

1. ラット脊椎硬膜外癒着モデルの確立

生後 7-8 週令 (体重 200-220 g) の Sprague-Dawley(SD)ラットを使用した。

1) 麻酔・体位：

ジエチルエーテルによる麻酔導入後、腹腔内麻酔 (4% 抱水クロラール 2m l) および 1% キシロカイン 5m l で局所麻酔を実施して、以下の処置を行った。

2) 腰椎椎弓切除：

背側正中切開をおき、第 1 腰椎 (L1) から第 4 腰椎 (L4) までの棘突起および椎弓を展開した。次に手術用顕微鏡下において電動式ドリル、リュエル、ケリソン鉗子を用いて L1~L4 の椎弓切除を行い、硬膜背側を展開した。筋層からの出血に対してはバイポーラメスで焼灼し止血した。

3) 硬膜周囲の処置：

剥離子を用いて硬膜側面および前面の剥離操作を実施し、硬膜表面の血管をバイポーラメスで焼灼した。

4) 閉創：

止血を確認した後、創内を生理食塩水にて洗浄、4-0 ナイロン糸にて皮膚を縫合し、閉創した。

5) 術後処置:

手術後はケージ内で自由に運動させた。

6) 硬膜周囲癒着の評価:

術後4週、6週、8週の時点で、術後の硬膜周囲組織の癒着の状態を以下の2~5.で評価した。

2. 硬膜周囲癒着の肉眼的評価

硬膜周囲の癒着の程度を肉眼所見で分類した。Grade0 (癒着なし)、1 (弱い引っ張り力ではがれる)、2 (中等度から強度の引っ張り力で剥離できる)、3 (鋭的な切除でのみ剥離できる) の4段階評価を行った。

3. 硬膜周囲の組織学的評価

摘出した脊椎および硬膜から組織切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン(HE)染色によって組織学的に観察した。硬膜表面から癒着組織までの距離・硬膜の厚み・癒着中の炎症細胞数・クモ膜下腔の面積について測定した。同時に癒着防止材料の残存の有無・量についても評価した。

4. 神経学的評価

癒着防止材が脊髄・硬膜の治癒を妨げず、神経機能に障害を与えないことを確認するため、神経学的評価を行った。評価基準には、ラット後肢の運動機能評価を行う Basso, Bresnahan, and Beattie (BBB) open field locomotor rating score (*Experimental Neurology* 139, 244, 1996) を使用した。

5. MPC ポリマーゲルの被覆による硬膜周囲の癒着防止効果についての検討

1. で確立したラット脊椎硬膜外癒着モデルを使用して、実験動物を2群に分け、1群はMPCゲル1mlを硬膜周囲に注入し、他群は生理食塩水を硬膜周囲に

注入した。液を注入後数分でゲル化し、体位を移動させても流出しないことを確認後閉創した。

(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. ポリマー分子量の規定

(分担研究者 石原一彦・三浦俊樹)

1) 低分子量化 MPC ポリマーの合成

ポリマー合成時における重合開始剤濃度と仕込みモノマー濃度の組成を変化させることで、得られるポリマーの分子量を制御することができる。本研究における MPC ポリマーの分子組成としては水溶性ポリマーである必要から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 (PMBV) を合成した。

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) を用いて合成した。得られたポリマーは水溶性であることを確認した。ポリマーの分子量解析をゲル浸透クロマトグラフィー法に基づき行った。また、¹H-NMR 測定に基づく構造解析の結果、重合時の仕込みモノマー組成に対応した組成であることを確認した。

体外排泄を考慮した MPC ポリマーの分子量としては PMBV-12, PMBV-13 ま

たは PMBV-14 は満足するものであった。PMBV 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 ポリマーゲルの形成を確認した。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 水溶液と 5 wt% の PVA 水溶液とを等量で混和した。その結果 PVA500、PVA1000 とともにゲル形成を確認した。一方で、PVA の平均重合度が 300 または 200 の PVA についてはゲル化に至らなかったが、ポリマー濃度を上げることで溶液の粘性は著しく増加した。

2) ゲル解離特性の検討

MPC ポリマー-ハイドロゲルの解離実験を試みた。溶媒には PBS または 0.2M の D-グルコース、D-ガラクトース、または D-フルクトースを含む PBS を用いた。この結果、MPC ポリマー-ハイドロゲルの解離特性に有意な差を認めた。特に D-フルクトースを用いた系では迅速に解離できることがわかった。その系列はフェニルボロン酸との結合定数の大きさ (Flu>Gal>Glu) に従った。

2. 細胞の移動性・生存性・移動性に及ぼす影響の検討

(分担研究者 高取吉・金野智浩)

1) MPC ポリマーゲルの細胞移動性への影響の検討

培養 24 h 後の細胞接着膜上の細胞をギムザ染色後に観察すると、対象群と比較し、移動した細胞数は MPC 群で有意に少なかった。

また、画像解析ソフトによる細胞数の定量評価でも、移動した細胞数は MPC 群で有意に少なかった。

以上の結果により、MPC ポリマーゲルがゲル内への細胞の移動性を抑制することが確認された。

2) MPC ポリマーゲルの細胞生存性への影響の検討

培養 24 h 後の細胞接着膜を顕微鏡にて観察すると、両群間に NIH3T3 細胞の形態・密度に明確な差異はみられなかった。

また、MTT アッセイ法による細胞培養液の吸光度の定量評価では、対象群と MPC 群で有意な差異はなかった。

以上の結果により、MPC ポリマーゲルが細胞の生存性に影響しないことが確認された。

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 (分担研究者 川口浩、茂呂徹)

1. 摩擦試験

1) MPC ポリマー水溶液+ヒアルロン酸ナトリウム水溶液の至適混合比の検討

ヒアルロン酸ナトリウム水溶液の濃度は、現在製品として市販されているものと同様にし、1%の濃度に固定した。1%ヒアルロン酸ナトリウム水溶液 (HA)、1%MPC ポリマー水溶液単剤 (MPC)、1%HA と 1%MPC の混合液 (HA: MPC=1:1)、1%HA と 2%MPC の混合液 (HA: MPC=1:2)、1%HA と 5%MPC の混合液 (HA: MPC=1:5) について、静摩擦係数および動摩擦係数を、10 サイクル、100 サイクルの時点で計測した。この結果、静摩擦係数、動摩擦係数とも、HA: MPC=1:2 の群で最も低値を示した。このため、下記 2 の実験では、この混合比の水溶液を使用することとした。

2) HA-MPC 共重合体水溶液の検討

平成 21 年度の検討のため、HA-MPC 共重合体を作製し、濃度の条件を振って、摩擦係数を測定した。HA-MPC 共重合体水溶液濃度を 0.5%、1%、2% とし、それぞれの静摩擦係数および動摩擦係数を、10 サイクル、100 サイクルの時点で計測

した。この結果、静摩擦係数、動摩擦係数とも、1%の水溶液の群で最も低値を示した。また、これらの数値を上記 HA: MPC=1:2 の群と比較すると、いずれも共重合体の群でより低値を示しており、より関節潤滑機能改善効果を期待できる結果となった。

2. マウス変形性関節症モデルにおける検討

Hematoxylin・Eosin (HE) 染色、Safranin O 染色を用いた組織学的な検討では、生理食塩水を加えたコントロール群では軟骨破壊等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のに対し、1%HA と 2%MPC の混合液 (HA: MPC=1:2) を加えた群では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ず、ほぼ正常膝関節軟骨のものと同様と考えられた。

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 茂呂徹、金野智浩)

1. ウサギ趾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、腱切断部の連続性は良好で、腱の再断裂・縫合部の離解や菲薄化・創部感染等は特にみられなかった。また、腱周囲の癒着は著明にみられ、鉗子による鈍的剥離のみでは腱を周囲組織から遊離させることは困難で、剪刀による鋭的切離を必要とした。

以上より、このウサギ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

趾屈筋腱を縫合後、縫合部を含めた腱全体を MPC ポリマーゲルで被覆した MPC 群では、ゲルを使用しなかったコン

トロール群と比較し、線維性癒着の切離回数が有意 ($p<0.05$) に低値であった。

また、腱縫合部の組織所見から癒着グレードを測定すると、MPC 群では、コントロール群と比較し、癒着グレードが有意 ($p<0.05$) に低値であった。

さらに、趾屈曲仕事量を検討すると、MPC 群では、コントロール群と比較し、癒着グレードが有意 ($p<0.05$) に低値であった。

3. MPC ポリマーゲルの組織修復への影響についての検討

腱破断張力測定のみ力学試験において、最大破断張力はコントロール群と MPC 群の間で、有意な差を認めなかった。

④ 骨折モデルを用いた関節拘縮防止効果の検討

(分担研究者 石原一彦・高取吉雄)

1. マウス大腿骨骨折モデルの確立

麻酔による術中・術後死例はなく、麻酔からの覚醒も安定していた。手術用顕微鏡を用いた慎重な操作により、出血のコントロールも良好であり、手術行程を妨げたり、生命の危険が心配されたりするような出血量はなかった。対照群の骨折部周囲の癒着は術後 1 週では軽微であった。しかし、術後 3 週では著明にみられ、鉗子による鈍的剥離のみでは骨を周囲組織から遊離させることは困難で、剪刀による鋭的切離を必要とした。

対照群の単純レントゲン所見による評価では、術後 1 週では骨折部に特に変化はみられなかったが、術後 3 週において骨折部の仮骨形成は良好で、再骨折・縫合部の離解や菲薄化・創部感染等は特にみられなかった。

以上より、このマウスの骨折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 ポリマーゲルの関節拘縮防止効果についての検討

術後1、3週の肉眼所見で検討を行うと、対照群と比較し、MPC群では骨折部周囲の癒着の形成が少なく、これによりMPCポリマーゲルによる関節拘縮防止効果が期待できた。

3. MPC ポリマーゲルの骨癒合への影響についての検討

術後1、3週の単純レントゲン所見を検討すると、いずれも対照群と比較し、骨の形成は両群で同程度であり、明確な差はみられなかった。

⑤ 椎弓切除モデルを用いた硬膜周囲癒着防止効果の検討

(分担研究者 石原一彦・高取吉雄)

1. ラット脊椎硬膜外癒着モデルの確立

麻酔による術中・術後死例はなく、麻酔からの覚醒も安定していた。また手術中の中途覚醒はなく十分な麻酔深度が得られていた。手術用顕微鏡を用いた慎重な操作により、出血のコントロールも良好であり、手術行程を妨げたり、生命の危険が心配されたりするような出血量はなかった。また椎弓切除や硬膜の剥離操作において硬膜および脊髄神経の肉眼的損傷はなかった。

2. 硬膜周囲癒着の肉眼的評価

肉眼での観察では、術後6週および8週の時点において、硬膜周囲の癒着がみられ、鈍的剥離のみでは硬膜を周囲組織から遊離させることは困難で、剪刀による鋭的切離を必要とした。

術後4週の時点では硬膜周囲に癒着の見られたものもあったが、癒着がほとんどないものもあり癒着モデルとしては適当でないと判断した。

3. 硬膜周囲の組織学的評価

術後6週および8週での組織学的評価を行ったところ、硬膜周囲の癒着および脊柱管の圧迫所見が見られた。椎弓切除を行った硬膜背側に肉芽組織が増生し脊柱管は圧排され扁平化していた。硬膜と肉芽組織との境界は不明瞭で高度に癒着している所見であった。強拡大では硬膜周囲に炎症細胞の浸潤および線維性組織の増生が見られた。

術後4週の時点では椎弓切除部位の硬膜に癒着が見られたものと癒着が見られなかったものが混在した。

硬膜の損傷・硬膜周囲組織の異常所見・創部感染等は特にみられなかった。また、術後4週、6週、8週いずれの時点においてもMPCポリマーゲルの残存はなかった。

4. 神経学的評価

術翌日および術後4週、6週、8週の時点においてBBB scoreはいずれも21点であり神経障害は見られなかった。

以上より、このラットの硬膜周囲癒着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、次年度以降の実験でも使用することとした。

D. 考察

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、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、④ マウス骨折モデルを用いた関節拘縮防止効果の検討、⑤ ラット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を行った。

MPCポリマーゲル調製の至適条件の決定では、埋植後の解離過程および代謝

過程を考慮したポリマー構造の最適化を、とりわけ、ポリマーの低分子量化について集中して行った。具体的には、ポリマー合成段階において重合開始剤の濃度およびモノマー濃度の割合を変化させることによって低分子量化について検討した。これらの検討の結果、ポリマー合成時の仕込み組成比によって、組成、分子量を制御することに成功し、その結果、体外排泄可能な分子量として推察できるポリマーを獲得することができた。ポリビニルアルコールとの混和によるゲル化現象、および解離過程も確認することができ、本年度の研究により、体外排泄可能な MPC ポリマーハイドロゲルの調製の最適化を行うことができた。また、MPC ポリマーゲルの組織癒着防止材としての効果発生メカニズムの一端を解明することができた。次年度の検討課題として、MPC ポリマーゲルの生体内からの排泄過程を追跡することができる系を計画している。蛍光性の MPC ポリマーを合成して、体外排泄過程を定量的に検討可能な MPC ポリマーハイドロゲルとすることが望ましいと考えられる。併せて、癒着防止効果について、より精査な *in vivo* 試験を行うことで MPC ポリマー構造の最適化と同時に本研究の目的である臨床応用に供するに必要な工学的パラメーターの制御基盤技術を確立することが必要と考えられる。

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 型摩擦試験機を用いてヒアルロン酸と MPC ポリマーの至適混合比を検索し、この水溶液をマウス変形性関節症モデルに用いて、関節面の潤滑機構の改善、関節面の保護機構を確認した。また、新たにヒアルロン酸-MPC 共重合体を創出し、摩擦試験機においては、ヒアルロン酸と MPC ポリマー混合液より摩擦係数を改善させることを明らかにした。次年度は、今年度の

試験結果の解析を継続することに加え、病期・重傷度の異なる OA モデルにこれらの水溶液を加え、関節潤滑機構改善効果を検討する予定である。

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、新たにウサギ趾腱損傷モデルを確立し、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、組織学的、生体力学的な検討等により確認した。次年度は、H・E 染色に van Gieson 染色による組織学的評価、残存ゲルの物性評価等も評価に加え、術後の評価時期も3週のみでなく、1週・6週も設定し、経時的な評価を行うことにより組織癒着防止材としての有効性をさらに検討する予定である。また、分担研究者の石原らが順次確立する至適合成条件の結果を応用するとともに、PMBV ポリマー濃度、PVA との混合比等についても検討を加え、効率的に効果を発揮する MPC ポリマーゲルを創製する予定である。

マウス骨折モデルを用いた関節拘縮防止効果の検討では、次年度の検討に向け、大腿骨骨幹部を骨折させ 22G スパイナル針の内針で固定を行った後に骨折の治癒・筋-骨間の癒着を観察する実験モデルを確立した。次年度は、今回おこなった術後1週および3週での評価に加え、さらに長期の術後6週での評価を予定している。評価方法は今年度の項目に加え、H・E 染色や免疫組織化学による評価や膝関節可動域測定などの評価を行う予定であり、MPC ポリマーゲルの関節拘縮防止材としての有効性をさらに検討する予定である。

ラット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では、次年度の検討に向け、顕微鏡視下に椎弓切除を行って癒着を誘発する実験系、およびその評価方法を確立し、MPC ポリマーゲルを用いた検討を開始した（本項目は平成 21 年度より開始の予定であったが、

迅速に開発を進めるため、前倒しで基礎検討を開始した)。次年度は本年度実施した評価に加えてこれらの評価を行い、組織癒着防止材としての有効性を検討する予定である。

本研究により変形性関節症、骨折後の関節拘縮、外傷・手術後の組織癒着に対する MPC ポリマーゲルを用いた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。

また、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、申請者らはこれまでの 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。

E. 結論

今年度の研究成果は、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、その臨床応用が期待できる内容であった。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kyomoto M, Moro T, Miyaji F, Konno T, Hashimoto M, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, and 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* 84: 320-327, 2008.
- 2) Kawasaki Y, Kugimiya F, Chikuda H, Kamekura S, Ikeda T, Kawamura N, Saito T, Shinoda Y, Higashikawa A, Yano F, Ogasawara T, Ogata N, Hoshi K, Hofmann F, Woodgett JR, Nakamura K, Chung UI, and Kawaguchi H: Phosphorylation of GSK-3 β by cGMP-dependent protein kinase II promotes hypertrophic differentiation of murine chondrocytes. *J Clin Invest* 118: 2506-2515, 2008.
- 3) Kyomoto M, Moro T, Miyaji F, Hashimoto M, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, and 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* 86: 439-47, 2008.
- 4) Sato S, Kimura A, Ozdemir J, Asou Y, Miyazaki M, Jinno T, Ae K, Liu X, Osaki M, Takeuchi Y, Fukumoto S, Kawaguchi H, Haro H, Shinomiya K, Karsenty G, and Takeda S: The Distinct role of the Runx proteins in chondrocyte differentiation and intervertebral disc degeneration: Findings in murine models and in human disease. *Arthritis Rheum* 58:

- 2764-2775, 2008.
- 5) Shinoda Y, Ogata N, Higashikawa A, Manabe I, Shindo T, Yamada T, Kugimiya F, Ikeda T, Kawamura N, Kawasaki Y, Tsushima K, Takeda N, Nagai R, Hoshi K, Nakamura K, Chung UI, and Kawaguchi H: Krüppel-like factor 5 causes cartilage degradation through transactivation of matrix metalloproteinase 9. *J Biol Chem* 283: 24682-24689, 2008.
 - 6) Oka H, Muraki S, Akune T, Mabuchi A, Suzuki T, Yoshida H, Yamamoto S, Nakamura K, Yoshimura N, and Kawaguchi H: Fully automatic quantification of knee osteoarthritis severity on plain radiographs. *Osteoarthritis Cartilage* 16: 1300-1306, 2008.
 - 7) Kawaguchi H: Endochondral ossification signals in cartilage degradation during osteoarthritis progression in experimental mouse models. *Mol Cells* 25: 1-6, 2008.
 - 8) Koyama Y, Miyashita M, Irie S, Yamamoto M, Karita T, Moro T, Takatori Y, Kazuma K: A study of disease management activities of hip osteoarthritis patients under conservative treatment. *J Orthop Nurs* 12: 75-83, 2008.
 - 9) Seo JH, Matsuno R, Konno T, Takai M, Ishihara K: Surface Tethering of Phosphorylcholine Groups onto Poly(dimethylsiloxane) through Swelling-deswelling Methods with Phospholipids Moiety Containing ABA-type Block Copolymers. *Biomaterials* 29(10): 1367-1376, 2008.
 - 10) Fujii K, Matsumoto H, Koyama Y, Iwasaki Y, Ishihara K, Takakuda K: Prevention of Biofilm Formation with a Coating of 2-Methacryloyloxyethyl Phosphorylcholine Polymer. *J Vet Med Sci* 70(2): 167-173, 2008.
 - 11) Watanabe J, Ishihara K: Multiple Protein Immobilized Phospholipid Polymer Nanoparticles: Effect of Spacer Length on Residual Enzymatic Activity and Molecular Diagnosis. *Nanobiotechnology* 3(2): 76-82, 2008.
 - 12) Ishihara K, Ando B, Takai M: Phosphorylcholine Group-immobilized Surface Prepared on Poly(dimethylsiloxane) Membrane by in situ Reaction for Its Reduced Biofouling. *Nanobiotechnology* 3(2): 83-88, 2008.
 - 13) Kihara T, Yoshida N, Mieda S, Fukazawa K, Nakamura C, Ishihara K, Miyake J: Nanoneedle Surface Modification with 2-Methacryloyloxyethyl Phosphorylcholine Polymer to Reduce Nonspecific Protein Adsorption in a Living Cell. *Nanobiotechnology* 3(2): 127-134, 2008.
 - 14) Futamura K, Matsuno R, Konno T, Takai M, Ishihara K: Rapid Development of Hydrophilicity and Protein Adsorption Resistance by Polymer Surfaces Bearing Phosphorylcholine and Naphthalene Groups. *Langmuir* 24(18): 10340-10344, 2008.
 - 15) Morisaku T, Watanabe J, Konno T, Takai M, Ishihara K: Hydration of Phosphorylcholine Groups Attached to Highly Swollen Polymer Hydrogels Studied by Thermal Analysis. *Polymer* 49(21): 4652-4657, 2008.

- 16) Kitano K, Matsuno R, Konno T, Takai M, Ishihara K: Nanoscale Structured Phospholipid Polymer Brush for Biointerface. *Tans Mater Res Soc Jpn* 33(3): 771-774, 2008.
- 17) Hoshi T, Matsuno R, Sawaguchi T, Konno T, Takai M, Ishihara K: Protein adsorption resistant surface on polymer composite based on 2D/3D controlled grafting of phospholipid polymers. *Appl Surf Sci* 255(2): 379-383, 2008.
- 18) Choi J, Konno T, Matsuno R, Takai M, Ishihara K: Surface Immobilization of Biocompatible Phospholipid Polymer Multilayered Hydrogel on Titanium Alloy. *Colloid and Surfaces B : Biointerfaces* 67(2): 216-223, 2008.
- 19) Kawaguchi H: Regulation of osteoarthritis development by Wnt- β -catenin signaling through the endochondral ossification process. *J Bone Miner Res* 24: 8-11, 2009.
- 20) Higashikawa A, Saito T, Ikeda T, Kamekura S, Kawamura N, Kan A, Oshima Y, Ohba S, Ogata N, Takeshita K, Nakamura K, Chung UI, and Kawaguchi H: Identification of the core element responsive to runt-related transcription factor 2 in the promoter of human type x collagen gene. *Arthritis Rheum* 60: 166-178, 2009.
- 21) Chikuda H, Seichi A, Takeshita K, Shoda N, Ono T, Matsudaira K, Kawaguchi H, and Nakamura K: Radiographic analysis of the cervical spine in patients with retro-odontoid pseudotumors. *Spine* 34: E110-114, 2009.
- 22) Kyomoto M, Moro T, Miyaji F, Hashimoto M, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, and 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 press).
- 23) Liu G, Iwata K, Ogasawara T, Watanabe J, Fukazawa K, Ishihara K, Asawa Y, Fujihara Y, Chung UI, Moro T, Takatori Y, Takato T, Nakamura K, Kawaguchi H, and 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 press).
- 24) Kyomoto M, Moro T, Iwasaki Y, Miyaji F, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Ishihara K. Superlubricious surface mimicking articular cartilage by grafting poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) on orthopaedic metal bearings. *J Biomed Mater Res A* (in press).
- 25) Hirata M, Kugimiya F, Fukai A, Ohba S, Kawamura N, Ogasawara T, Kawasaki Y, Saito T, Yano F, Ikeda T, Nakamura K, Chung UI, and Kawaguchi H: C/EBP β promotes transition from proliferation to hypertrophic differentiation of chondrocytes through transactivation of p57^{Kip2}. *PLoS ONE* (in press).
- 26) Muraki S, Oka H, Akune T, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, Nakamura K, Kawaguchi H, and Yoshimura N: Prevalence of

- radiographic knee osteoarthritis and its association with knee pain in the elderly of Japanese population-based cohorts: The ROAD study. *Osteoarthritis Cartilage* (in press).
- 27) Muraki S, Akune T, Oka H, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Nakamura K, Kawaguchi H, and Yoshimura N: Association of occupational activity with radiographic knee osteoarthritis and lumbar spondylosis in the elderly of population-based cohorts: The ROAD study. *Arthritis Rheum* (in press).
- 28) Ushita M, Saito T, Ikeda T, Yano F, Higashikawa A, Ogata N, Chung UI, Nakamura K, and Kawaguchi H: Transcriptional induction of SOX9 by NF- κ B family member RelA in chondrogenic cells. *Osteoarthritis Cartilage* (in press).
- 29) Moro T, Kawaguchi H, Ishihara K, Kyomoto M, Karita T, Ito H, Nakamura K, and Takatori Y: Wear resistance of artificial hip joints with poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) grafted polyethylene: Comparisons with the effect of polyethylene cross-linking and ceramic femoral heads. *Biomaterials* (in press).
- 30) Kyomoto M, Ishihara K: Self-initiated surface graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on poly(ether-ether-ketone) by photo-irradiation. *ACS Applied Materials & Interfaces* (in press).
- 31) Xu Y, Takai M, Ishihara K: Charged Coating with High Protein-adsorption Resistance Prepared Using Anionic Polymer Bearing Phosphorylcholine Groups. *Biomacromolecules* (in press).
- 32) Kitano K, Matsuno R, Inoue Y, Konno T, Takai M, Ishihara K: Nanoscale Evaluation of Lubricity and Biocompatibility on Well-defined Polymer Brush Surfaces using QCM-D and AFM. *Langmuir* (in contribution).
- 33) 高取吉雄: 股関節痛の診断. 特集 成人における股関節痛の診療. *Monthly Book Orthopaedics* 21: 1-8, 2008.
- 34) 高井まどか, Yan Xu, James Sibarani, 石原一彦: リン脂質ポリマーを用いたマイクロ流体デバイスのバイオインターフェイス制御. *高分子論文集* 65(3): 228-234, 2008.
- 35) 高本康史, 三浦俊樹, 大数加光治, 田中栄, 中村耕三: 上腕骨滑車中央部に生じた無症候性離断性骨軟骨炎の1例. *関東整災誌* 39(4): 143-147, 2008.
- 36) 大数加光治, 三浦俊樹, 石山典幸, 大江隆史, 中村耕三: 橈骨遠位端骨折手術における術中CアームCTの有用性について. *日本手の外科学会雑誌* 24(5): 593-596, 2008.
2. 学会発表
- ① 国内学会
- 1) 石山典幸, 茂呂徹, 三浦俊樹, 大江隆史, 川口浩: 生体適合性ポリマーハイドロゲルによる癒着防止効果の検討. 第51回日本手の外科学会学術集会. 2008. 4. 17-18 (つくば)
- 2) 三浦俊樹, 石山典幸, 大数加光治, 伊藤祥三, 中村耕三: 母指CM関節障害に対するLRTI法術後の早期回復過程. 第51回日本手の外科学会学術集会.

2008. 4. 17-18. (つくば)
- 3) 伊藤祥三、三浦俊樹、岡敬之、中村耕三：母指外転測定法の信頼性. 第51回日本手の外科学会学術集会. 2008. 4. 17-18. (つくば)
- 4) 大数加光治、三浦俊樹：橈骨遠位端骨折手術における遠位スクリュー位置と術後矯正損失. 第51回日本手の外科学会学術集会. 2008. 4. 17-18. (つくば)
- 5) 石原一彦：分子インテグレーションを基盤としたナノバイオデバイス創製. 日本表面科学会中部支部総会. 2008. 5. 17. (名古屋)
- 6) 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、山本基、苅田達郎、伊藤英也、金野智浩、京本政之、山脇昇、中村耕三、川口浩：人工股関節のポリエチレンライナーにMPC処理を加える範囲が摩耗抑制効果に与える影響. 第81回日本整形外科学会学術総会. 2008. 5. 22-25 (札幌)
- 7) 川口浩、村木重之、岡敬之、阿久根徹、馬淵昭彦、中村耕三、吉村典子：変形性関節症の大規模臨床統合データベースの構築と、これを用いた観察疫学・ゲノム疫学研究. 第81回日本整形外科学会学術総会. 2008. 5. 22-25 (札幌).
- 8) 延與良夫、吉田宗人、吉村典子、村木重之、岡敬之、馬淵昭彦、中村耕三、川口浩：頸椎症における高位別有病率と頸部痛との関係 - Research on Osteoarthritis against Disability (ROAD) プロジェクト -. 第81回日本整形外科学会学術総会. 2008. 5. 22-25 (札幌).
- 9) 川口浩：変形性関節症：その病態解明・診断・治療の最前線. 福岡県臨床整形外科医会. 2008. 6. 7 (博多).
- 10) 石原一彦：ナノバイオ分野に向けたマテリアルデバイス創製. 第5回東レ先端融合研究シンポジウム. 2008. 6. 18. (神奈川)
- 11) 川口浩：変形性関節症：研究・診療の現状と問題点 (シンポジウム：骨粗鬆症と変形性関節症：研究と診療の最前線). 第50回日本老年医学会学術集会・総会. 2008. 6. 19-21 (千葉).
- 12) 川口浩：変形性関節症研究の現状と問題点 (シンポジウム：プロテオーム解析技術の新展開：創薬ターゲット/臨床マーカー発見を目指して). 日本ヒトプロテオーム機構第6回大会. 2008. 7. 29-30 (大阪).
- 13) 川口浩：変形性関節症 up-to-date：診断と治療の最前線. 第1回TCOA(東京都臨床整形外科医会) up-to-date セミナー. 2008. 8. 30 (東京).
- 14) 川口浩：変形性関節症 - その病態解明・診断・治療の最前線 (ランチョンセミナー). 第36回九州リウマチ学会. 2008. 9. 6-7 (佐賀).
- 15) 苅田達郎、高取吉雄、伊藤英也、齊藤貴志、中村耕三：実物大骨モデルを用いた手術シミュレーション-高度形態異常に対する人工股関節全置換術. 第57回東日本整形災害外科学会. 2008. 9. 12-13. (東京)
- 16) 京本政之、茂呂徹、金野智浩、川口浩、高取吉雄、中村耕三、石原一彦：MPCポリマーによる高潤滑インターフェイスが長寿命型人工関節を実現する. 東京大学生命科学研究ネットワークシンポジウム. 2008. 9. 23 (東京)
- 17) 雑賀健一、京本政之、茂呂徹、金野智浩、川口浩、高取吉雄、中村耕三、石原一彦：高潤滑性ポリマーを用いた光開始グラフト重合による長寿命型人工関節の開発. 東京大学生命科学研究ネットワークシンポジウム. 2008. 9. 23 (東京)
- 18) 石山典幸、茂呂徹、三浦俊樹、大江隆史、伊藤祥三、森崎裕、金野智浩、吉河美都奈、大山但、石原一彦、中村耕三、川口浩：組織癒着防止効果を有す

- る生体適合性 MPC ゲルの開発. 東京大学生命科学研究ネットワークシンポジウム, 2008. 9. 23 (東京)
- 19) 豊本泰央, 石原一彦: リン脂質ポリマー-ハイドロゲルを用いた有機無機複合型骨再生用マトリックスの創製. 第57回高分子討論会, 2008. 9. 24-26. (大阪)
- 20) 金野智浩, 石原一彦: 細胞親和性リン脂質ポリマー-ハイドロゲルの可逆形成制御. 第57回高分子討論会, 2008. 9. 24-26. (大阪)
- 21) 田島宜幸, 石原一彦: 配向制御されたProtein Aを用いた高感度ナノバイオインターフェイスの創製. 第57回高分子討論会, 2008. 9. 24-26. (大阪)
- 22) 川口浩: 変形性関節症: その病態解明・診断・治療の最前線. 平成20年度 堺市医師会整形外科医会講演会, 2008. 10. 4 (大阪).
- 23) 村木重之, 岡敬之, 阿久根徹, 馬淵昭彦, 中村耕三, 川口浩, 吉村典子: 高齢者では腰椎椎間狭小化と腰痛との関連は女性の方が男性よりも強い - ROAD プロジェクト -. 第23回日本整形外科学会基礎学術集会, 2008. 10. 23-24 (京都).
- 24) 村木重之, 岡敬之, 阿久根徹, 馬淵昭彦, 中村耕三, 川口浩, 吉村典子: 変形性膝関節症における骨棘形成および関節裂隙狭小化の膝痛への影響 - ROAD プロジェクト -. 第23回日本整形外科学会基礎学術集会, 2008. 10. 23-24 (京都).
- 25) 石山典幸, 茂呂徹, 三浦俊樹, 大江隆史, 中村耕三, 川口浩: 腱癒着防止効果を有する生体内解離性 MPC ゲルの開発. 第23回日本整形外科学会基礎学術集会, 2008. 10. 23-24 (京都).
- 26) 茂呂徹, 川口浩, 石原一彦, 京本政之, 山本基, 荻田達郎, 伊藤英也, 齊藤貴志, 中村耕三, 高取吉雄: 人工股関節ライナー表面の MPC グラフト処理による摩耗抑制効果: ライナーの架橋の有無および骨頭の材質による比較. 第23回日本整形外科学会基礎学術集会, 2008. 10. 23-24 (京都).
- 27) 石原一彦: 人工細胞膜による高潤滑表面創製と超低摩耗人工関節. 第23回日本整形外科学会基礎学術集会, 2008. 10. 23-24 (京都).
- 28) 深井厚, 河村直洋, 東川晶朗, 斎藤琢, 菅哲徳, 平田真, 川崎洋介, 大島寧, 鄭雄一, 中村耕三, 川口浩: Akt1 は軟骨内骨化における軟骨細胞の石灰化を維持して骨格成長を制御する. 第23回日本整形外科学会基礎学術集会, 2008. 10. 23-24 (京都).
- 29) 岡敬之, 阿久根徹, 村木重之, 吉村典子, 中村耕三, 川口浩: 変形性膝関節症におけるレントゲン上の外側関節裂隙狭小は膝痛増悪予測因子である - 重症度自動計測システム KOACAD を用いた縦断研究 -. 第26回日本骨代謝学会, 2008. 10. 29-31 (大阪).
- 30) 阿久根徹, 村木重之, 岡敬之, 中村耕三, 川口浩, 吉村典子: 変形性膝関節症の X 線学的重症度と膝症状および下肢機能との関連 - ROAD (Research on Osteoarthritis against Disability) プロジェクト -. 2008. 10. 29-31 (大阪).
- 31) 吉村典子, 村木重之, 岡敬之, 中村耕三, 川口浩, 阿久根徹: 変形性膝関節症および変形性脊椎症とメタボリック症候群との関連; ROAD (Research on Osteoarthritis against Disability) プロジェクト. 第26回日本骨代謝学会, 2008. 10. 29-31 (大阪).
- 32) 吉村典子, 阿久根徹, 村木重之, 岡敬之, 川口浩, 中村耕三, Lau Edith, Kwok Anthony, Leung Ping-chung: アジア諸国における脊椎椎体骨折有病率の比較: The Asian Vertebral Osteoporosis Study (AVOS). 第10

- 回日本骨粗鬆症学会. 2008. 10. 31-11.2 (大阪).
- 33) 石山典幸, 茂呂徹, 三浦俊樹, 大江隆史, 伊藤祥三, 森崎裕, 大山但, 吉河美都奈, 金野智浩, 中村耕三, 川口浩, 石原一彦: 生体内解離性ポリマーハイドロゲルの癒着防止効果の組織学的・分子生物学的検討. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008. 2008. 11. 17-18. (東京)
- 34) 京本政之, 茂呂徹, 岩崎泰彦, 宮路光明, 金野智浩, 川口浩, 高取吉雄, 中村耕三, 石原一彦: リン脂質グラフトポリマーによる超潤滑性 Co-Cr-Mo 合金表面の創製. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008. 2008. 11. 17-18. (東京)
- 35) 川合弘崇, 石原一彦: ハイブリッド型人工臓器のためのヘテロ細胞接着ポリマー膜. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008. 2008. 11. 17-18. (東京)
- 36) 清水堯紀, 石原一彦: IPN 構造により実現される超親水性シリコンハイドロゲル. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008. 2008. 11. 17-18. (東京)
- 37) 磯江晋輔, 石原一彦: ポリマー末端官能基を利用した生体分子固定化表面の創製. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008. 2008. 11. 17-18. (東京)
- 38) 斉藤あや, 石原一彦: 糖タンパク質の特異的結合を促すフェニルボロン酸基を有するリン脂質ポリマー. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008. 2008. 11. 17-18. (東京)
- 39) 金野智浩, 石原一彦: 高い組織再生効率を実現する細胞親和型ソフトマテリアルデバイス. 第 46 回日本人工臓器学会. 2008. 11. 27-29. (東京)
- 40) 伊藤英也, 苅田達郎, 高取吉雄, 茂呂徹, 齊藤貴志, 中村耕三: セメントレス臼蓋コンポーネントによる人工股関節再置換術の長期成績. 第 35 回日本股関節学会. 2008. 12. 5-6. (大阪)
- 41) 高取吉雄, 苅田達郎, 茂呂徹, 馬淵昭彦, 伊藤英也, 齊藤貴志: 寛骨臼回転骨切り術後に回転寛骨臼が圧潰した症例の再検討. 第 35 回日本股関節学会. 2008. 12. 5-6. (大阪)
- 42) 高橋寛, 赤坂嘉之, 伊藤英也, 茂呂徹, 門野夕峰, 河野博隆, 苅田達郎, 高取吉雄, 中村耕三: 非典型的な画像所見を示した滑膜骨軟骨腫症に対する人工股関節全置換術の経験. 第 49 回関東整形外科災害外科学会. 2009. 3. 20-21. (東京)
- ② 国際学会
- 1) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, Konno T, Kyomoto M, Yamamoto M, Karita T, Ito H, Nakamura K, Kawaguchi H: Grafting of biocompatible polymer on the liner surface for extending longevity of artificial hip joints. 8th World Biomaterials Congress (WBC) 2008. 5. 28-6. 1 (Amsterdam, The Netherlands)
- 2) Kyomoto M, Moro T, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Ishihara K: Nanometer-scale high lubricious surface modification extends the durability of artificial joint. 8th World Biomaterials Congress (WBC) 2008. 5. 28-6. 1 (Amsterdam, The Netherlands)
- 3) Ishiyama N, Moro T, Miura T, Ohe T, Ito S, Konno T, Yoshikawa M, Ohyama T, Ishihara K, Nakamura K, Kawaguchi H: Investigation of biodissociated phospholipid polymer hydrogel that prevents tissue adhesion without impairing

- healing. 8th World Biomaterials Congress (WBC) 2008. 5. 28-6. 1 (Amsterdam, The Netherlands)
- 4) utamura K, Ishihara K: Quick Providing of Hydrophilic and Protein Adsorption Resistant Surface by Phospholipid Polymers. 8th World Biomaterials Congress (WBC) 2008. 5. 28-6. 1 (Amsterdam, The Netherlands)
 - 5) Ishiyama N, Moro T, Miura T, Ohe T, Ito S, Konno T, Yoshikawa M, Ohyama T, Ishihara K, Nakamura K, Kawaguchi H: Investigation of biodissociated phospholipid polymer hydrogel that prevents tissue adhesion without impairing healing. 8th World Biomaterials Congress (WBC) 2008. 5. 28-6. 1 (Amsterdam, The Netherlands)
 - 6) Asanuma Y, Ishihara K: Multi-Biofunctional Phospholipid Block Polymer Alloys with Segmented Polyurethane. 8th World Biomaterials Congress (WBC) 2008. 5. 28-6. 1 (Amsterdam, The Netherlands)
 - 7) Matsuno R, Ishihara K: Well Defined Phospholipid Polymer Grafting over Quantum Dot using RAFT Polymerization. 8th World Biomaterials Congress (WBC) 2008. 5. 28-6. 1 (Amsterdam, The Netherlands)
 - 8) Goda T, Ishihara K: Protein Resistance on Polymer-grafted PDMS using Photoinitiation Performance of Ketones. 8th World Biomaterials Congress (WBC) 2008. 5. 28-6. 1 (Amsterdam, The Netherlands)
 - 9) Ishihara K: Cytocompatible Phospholipid Polymer Hydrogel Scaffold with Tunable Cell Capturing Ligand Density. 8th World Biomaterials Congress (WBC) 2008. 5. 28-6. 1 (Amsterdam, The Netherlands)
 - 10) Choi J, Ishihara K: Multilayered phospholipid polymer hydrogel for regulating cell functions by self-tuning bioactive agent. 8th World Biomaterials Congress (WBC) 2008. 5. 28-6. 1 (Amsterdam, The Netherlands)
 - 11) Konno T, Ishihara K: Non-fluidic Cell Culture Medium for Maintaining Cell Functions; Cell-Container Based on Reversible Phospholipid Polymer Hydrogel with Highly Cytocompatibility. 8th World Biomaterials Congress (WBC) 2008. 5. 28-6. 1 (Amsterdam, The Netherlands)
 - 12) Moro T, Takatori Y, Kyomoto M, Ishihara K, Nakamura K, Kawaguchi H: Biocompatible phospholipid polymer grafting on liner surface of artificial hip joints enhances the wear resistance independently of liner cross-linking of femoral head material. 2008 World Congress on Osteoarthritis (OARSI). 2008. 9.18-21 (Rome, Italy).
 - 13) Akune T, Muraki S, Oka H, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N: Association of radiographic severity of knee osteoarthritis with symptomatic parameters: The ROAD study. 2008 World Congress on Osteoarthritis (OARSI). 2008. 9.18-21 (Rome, Italy).
 - 14) Oka H, Akune T, Muraki S, Nakamura K, Yoshimura N, Kawaguchi H: Lateral joint space narrowing on radiographs predicts pain progression in knee osteoarthritis