

2. 実用新案登録

なし

なし

3.その他

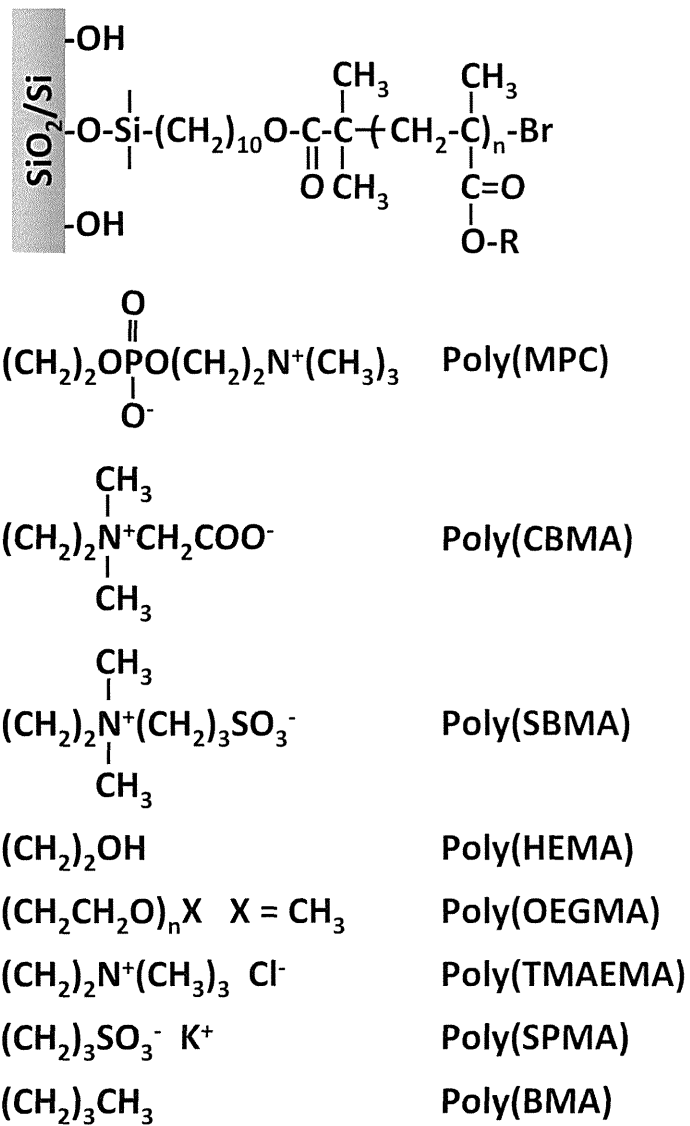


図1. ポリマーブラシ層の化学構造.

表1. ポリマーブラシ層の構造と特性.

Polymer	Graft density (chains/nm ²)	Surface coverage	DCA (°)			ζ-potential (mV)
			θ _{adv}	θ _{rec}	θ _{hys}	
Poly(MPC)	0.26	39%	21	17	4	-3.6
Poly(CBMA)	0.67	74%	22	16	6	-1.8
Poly(SBMA)	0.48	69%	23	17	6	-7.8
Poly(HEMA)	0.79	59%	65	24	41	-4.4
Poly(mOEGMA)	0.36	65%	50	37	13	-3.5
Poly(TMAEMA)	0.31	37%	62	19	43	45
Poly(SPMA)	0.47	70%	30	28	2	-74
Poly(BMA)	0.75	62%	90	70	20	-37

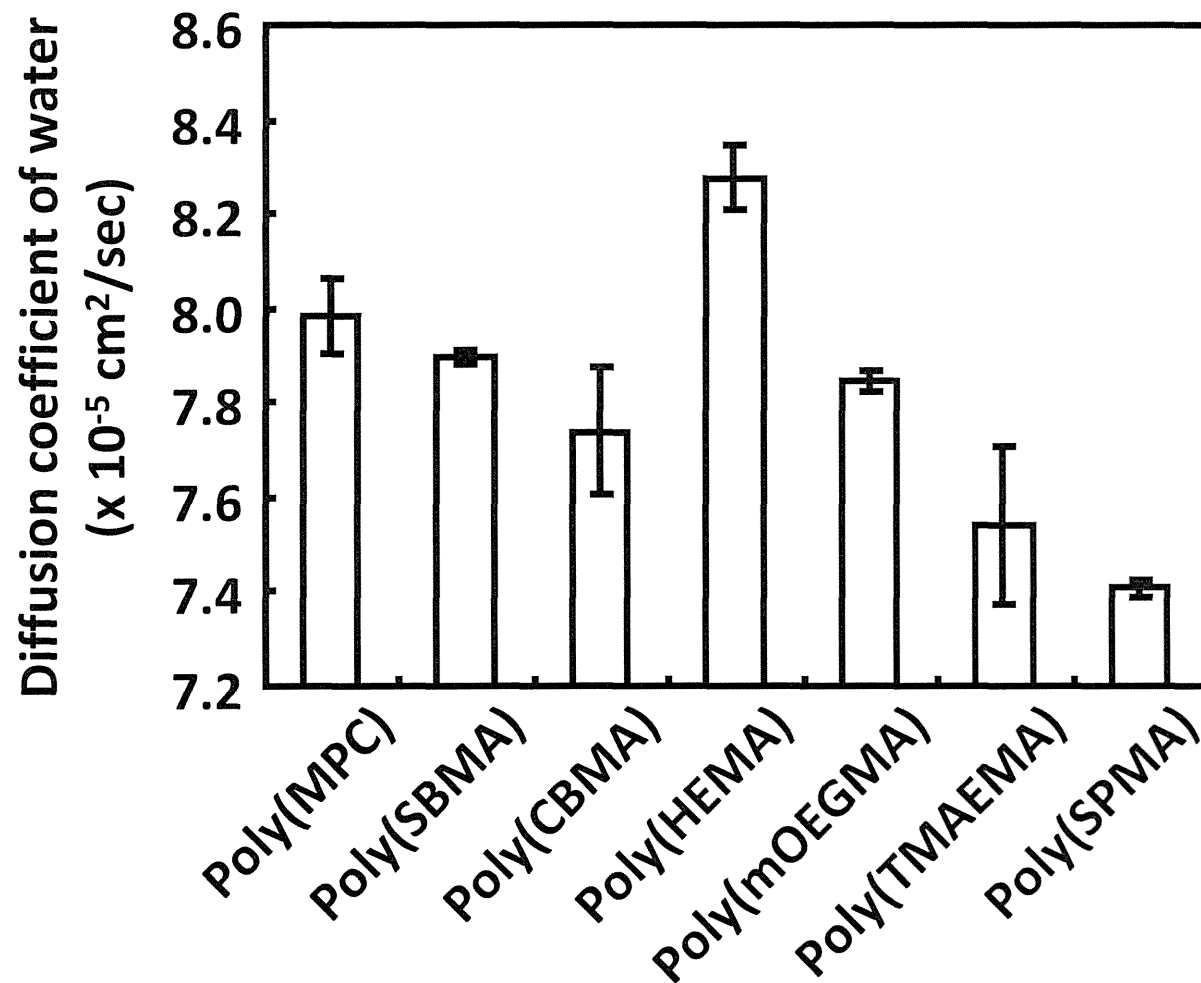


図2. ポリマーブラシ表面における水分子の自己拡散係数.

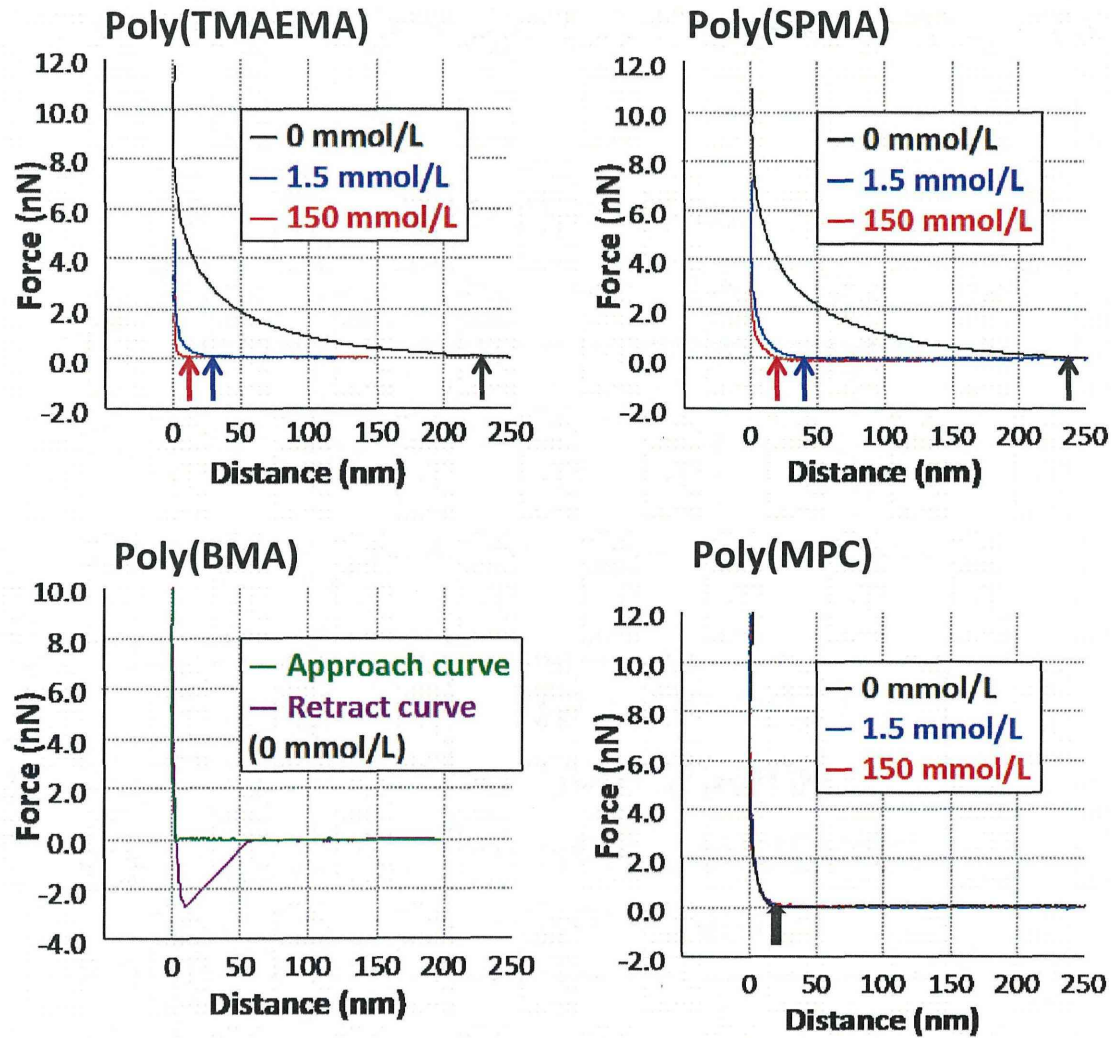


図3. 同種ポリマーブラシ表面同士の接近時のフォースカーブ。ただし、poly(BMA)においては、接近および離脱の際のフォースカーブを示す。

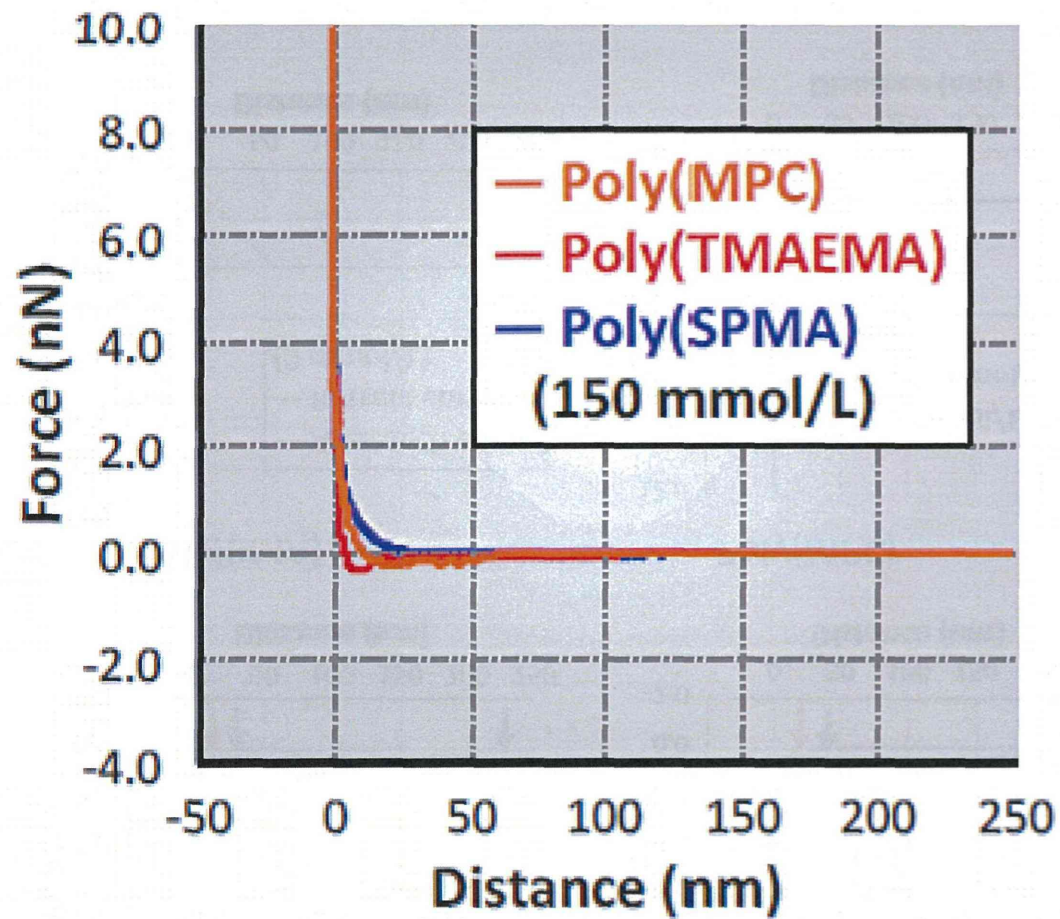


図4. 同種ポリマーブラシ表面同士の離脱時のフォースカーブ.

タンパク質吸着量

双性イオン性 | 非イオン性 | イオン性

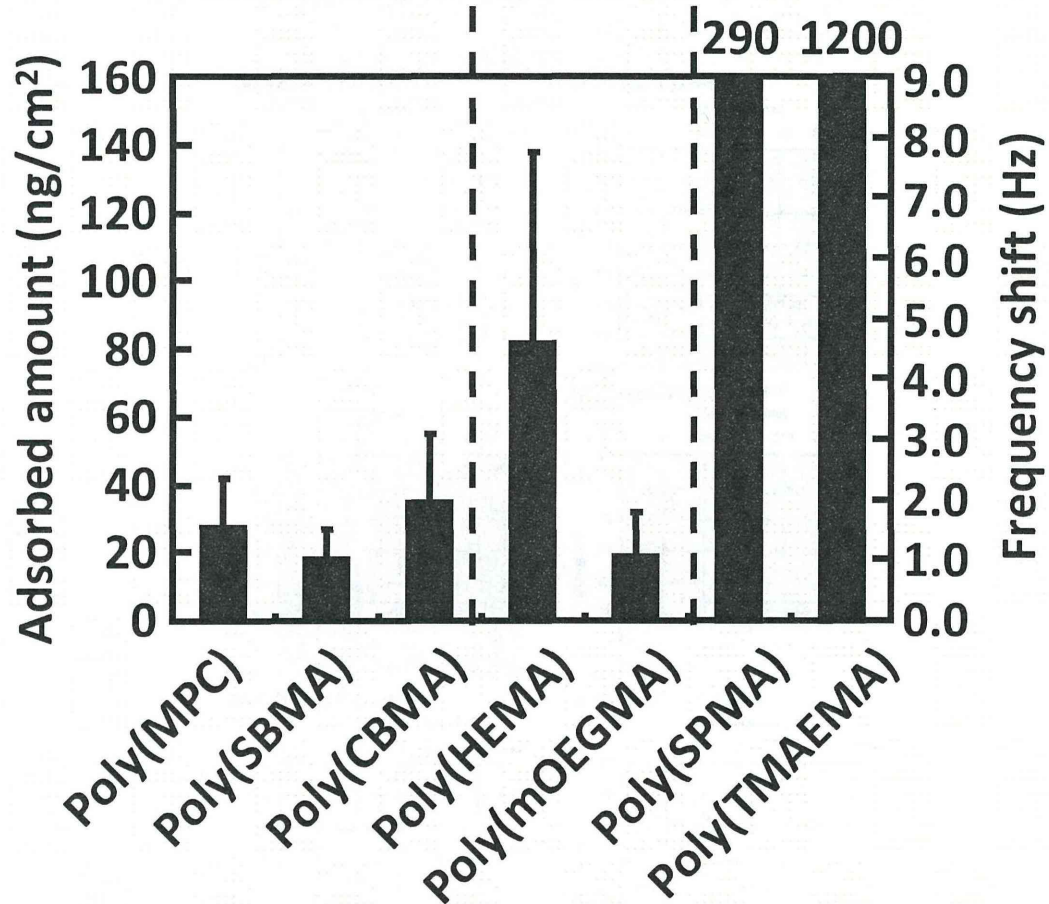


図5. 種々のポリマーブラシ表面へタンパク質吸着量.

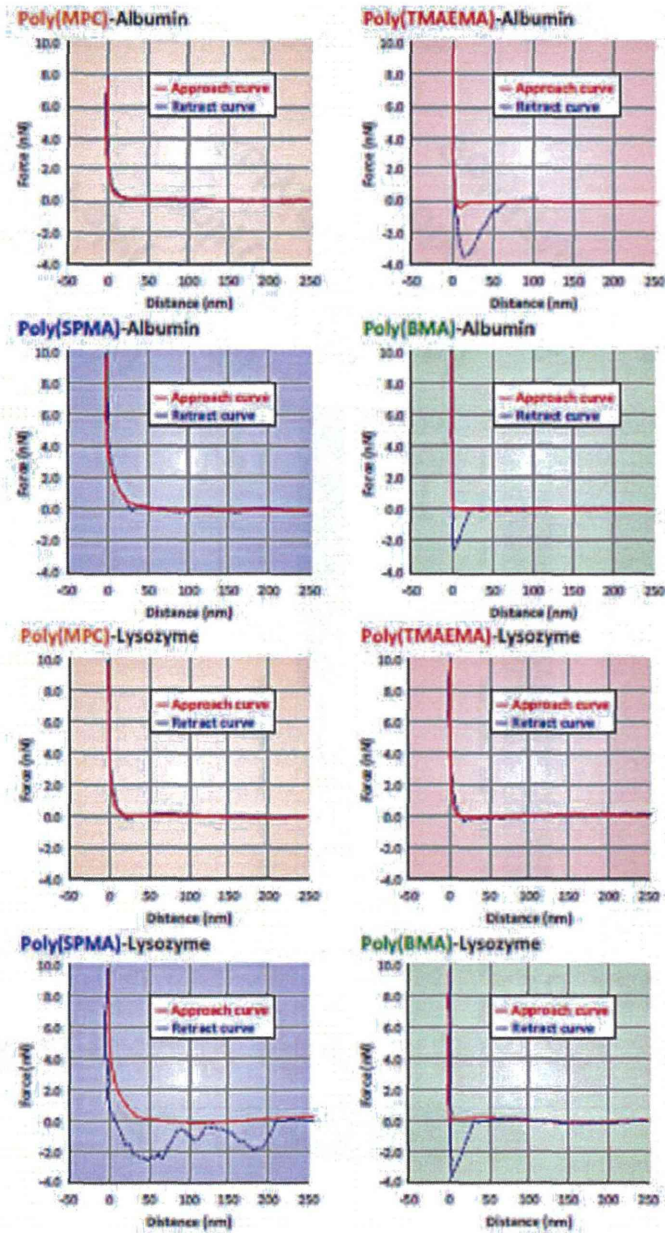


図6. 各ポリマーブラシ層とタンパク質との間のフォースカーブ.

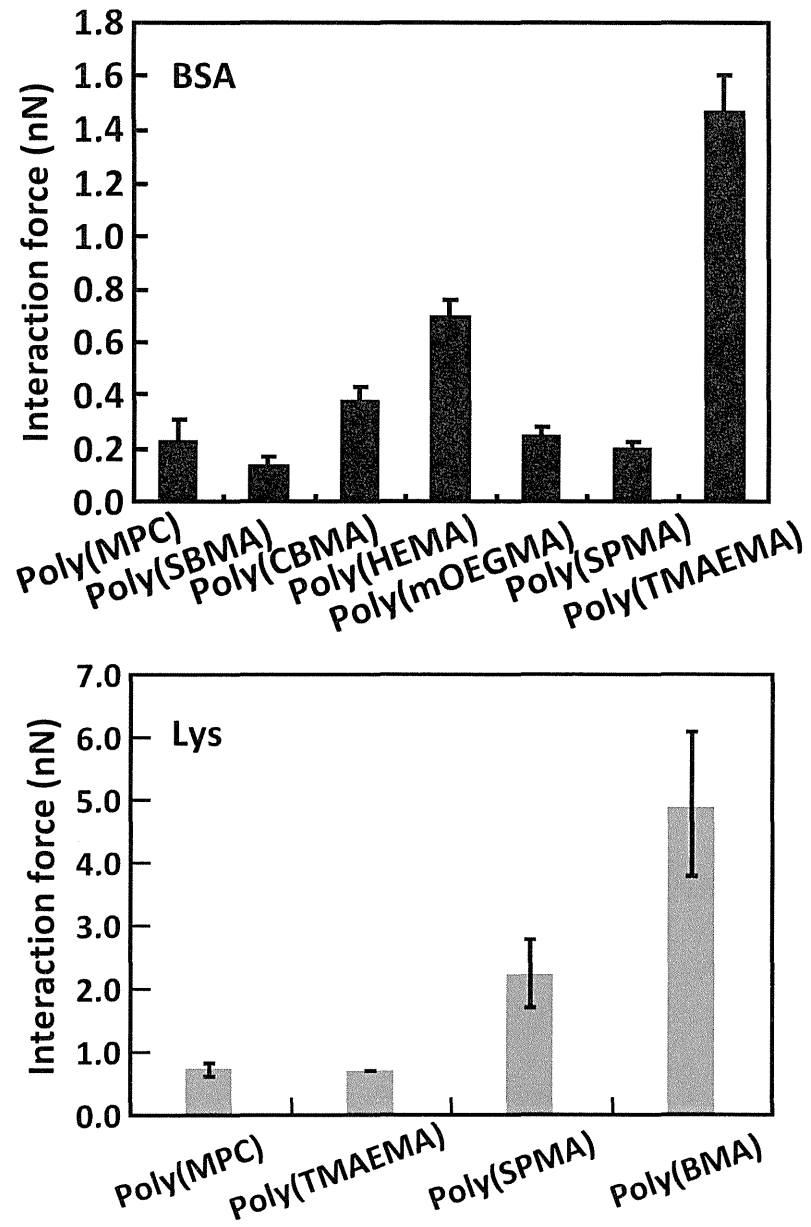


図7. 各ポリマーブラシ層とタンパク質との間のフォースカーブ.

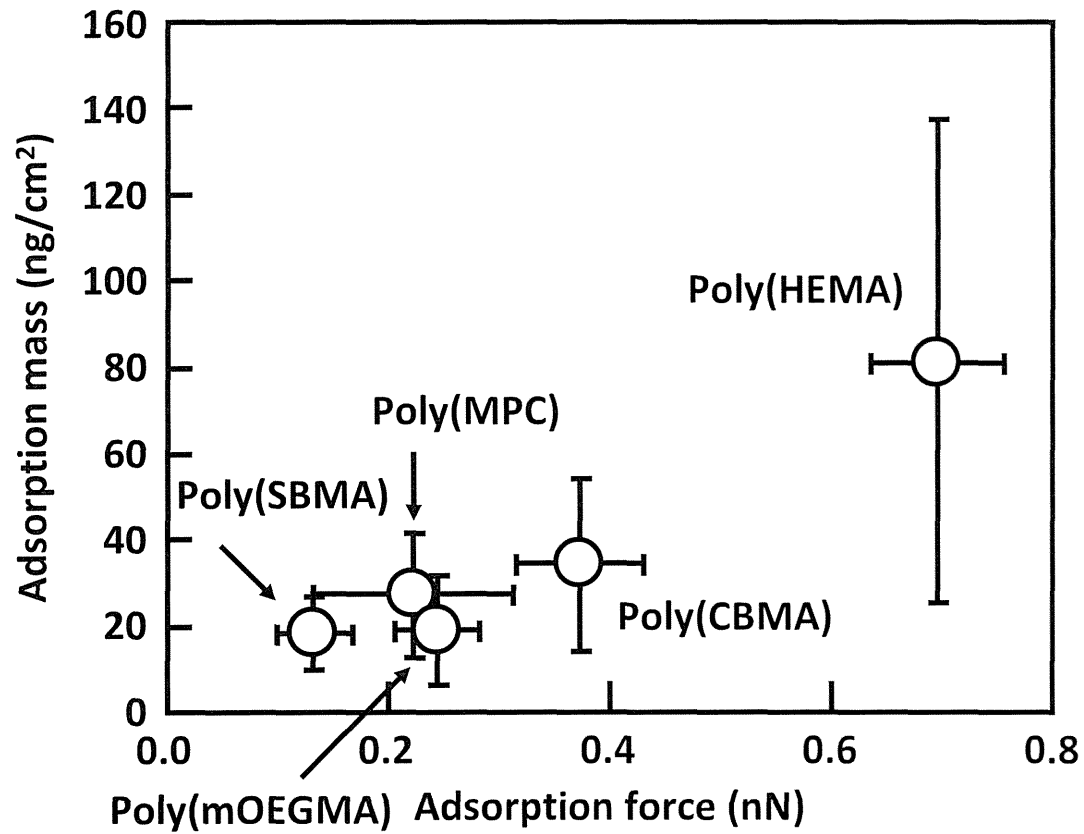


図8. 双性イオン性および非イオン性ポリマーブラシ表面におけるタンパク質吸着量とタンパク質吸着力との関係.

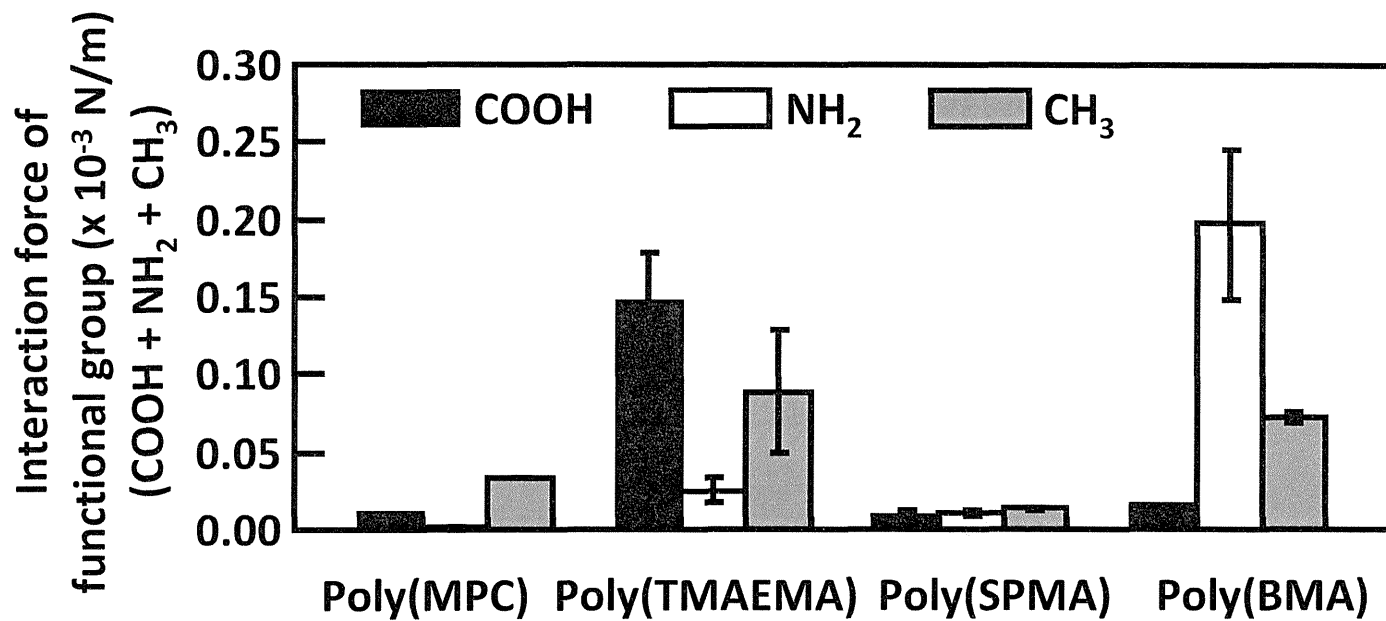


図9. ポリマーブラシ表面に対する官能基の相互作用.

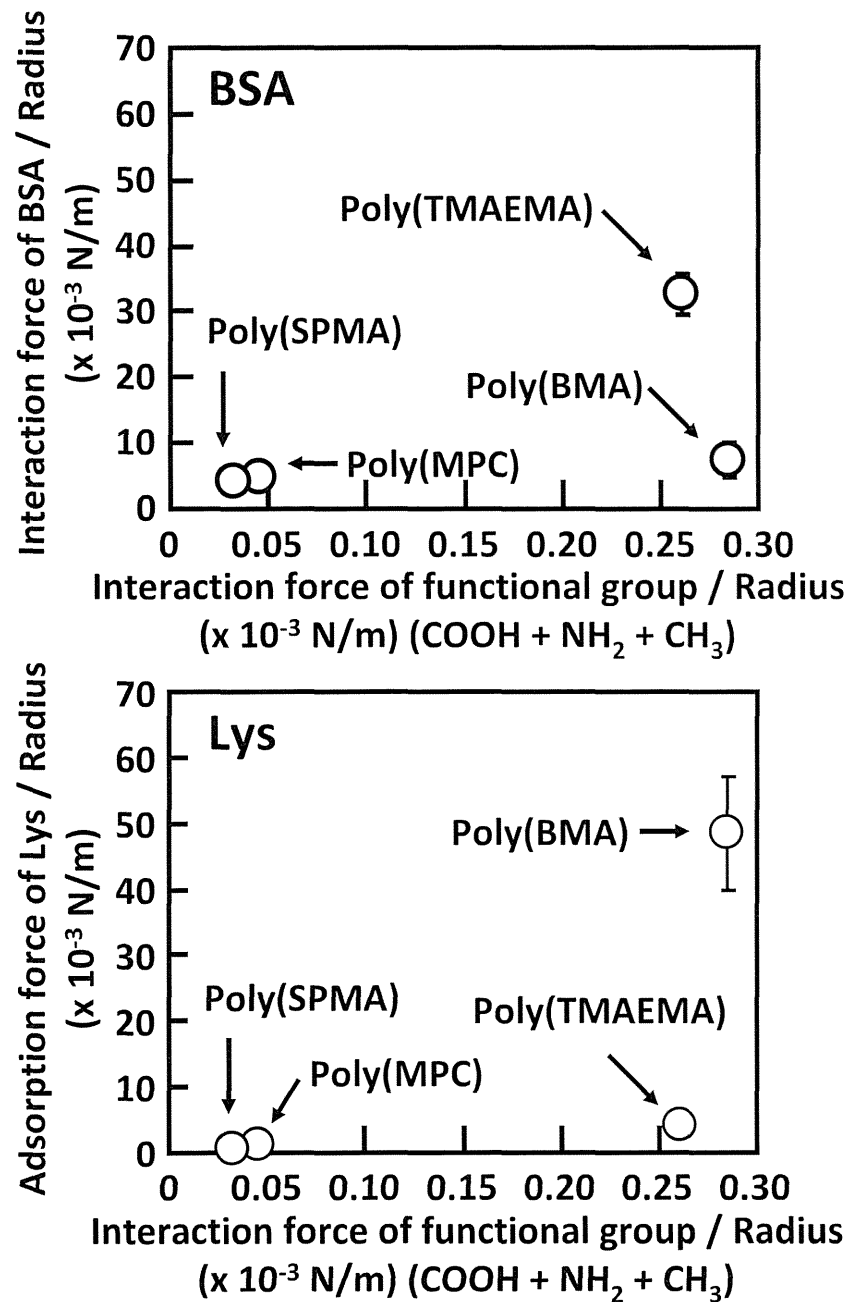


図10. 各ポリマーブラシ表面におけるタンパク質との相互作用と官能基との相互作用の関係.

分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

「革新的医療機器開発を加速する規制環境整備に関する研究」

分担研究課題名

中間水コンセプトによる新規生体適合性高分子の合成

研究分担者 田中 賢 山形大学大学院理工学研究科バイオ化学工学専攻

研究要旨：本研究では、ポリマー-水界面に形成される特殊な水和構造（中間水）の発現に関係していると推察されるエーテル結合に注目し、エチレングリコール構造を主鎖または側鎖に導入した新規ポリマーを regio 選択的な開環メタセシス重合法（ROMP）を用いて合成し、得られたポリマーが発現する水和構造と抗血栓性の相関性について検討した。エチレングリコール側鎖長を変更したポリマーでは、エチレングリコールユニット数の増加に伴う中間水量の増加が確認され、ポリマーの一次構造の制御によって中間水量の制御に成功した。

A. 研究目的

ポリマー材料を用いた血液接触型医療デバイスには、デバイス表面での血栓形成を防止する抗血栓性が求められている。しかし、ポリマー材料が抗血栓性を発現するメカニズムは解明されていない。我々は、ポリマー-水界面に形成される特殊な水和構造（中間水）が抗血栓性の発現に寄与しているとの仮説に基づき、ポリマーの一次構造の制御による、水和構造と抗血栓性の制御、およびこれを通じた抗血栓性の発現メカニズムの解明を試みてきた。

本研究では、中間水の発現に関係していると推察されるエーテル結合に注目し、エチレングリコール（EG）構造を主鎖または側鎖に導入した新規ポリマーを regio 選択的な開環メタセシス重合法（ROMP）を用いて合成し（Scheme. 1）、得られたポリマーが発現する水和構造と抗血栓性の相関性について検討を行った。

B. 研究方法

モノマーとしてアリル位に3つのEGユニットを有する cyclooctene (COE) 誘導体と2つのメトキシ基をトランス型もしくはシス形で導入した COE 誘導体を合成した。ROMPにより得られたポリマーの主鎖中の二重結合に対して水素添加反応を行い、定序的に側鎖が並んだethyleneとのモデル共重合体を合成した。ポリマーと相互作用する中間水を定量化するために、得られたポリマーを含水させてDSC測定を行なった。また、血小板粘着試験により抗血栓性を確認した。

C. 研究結果

モノマーの ROMP によりポリマーを合成した後に、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、2次元 NMR を用いた構造解析を行なった。側鎖が一定の間隔で導入されたポリマーの生成を確認した (Fig.1)。

EG側鎖長を変更したポリマーでは、EGユニット数の増加に伴う中間水量の増加が見られ、ポリマーの一次構造の制御によっ

て中間水量を制御することができた (Fig.2)。また、多置換体のDSC測定結果から、相互作用する中間水量は立体異性体でおおよそ変わらないことが明らかになった。*t*PMMは1つのEGユニットを側鎖に有する $m=1$ よりもポリマー鎖の分子運動性が低下する可能性があるため、*t*PMMの中間水量は $m=1$ よりも減少すると推測していた。*t*PMMの中間水量を調べたところ、実際に $m=1$ よりも少ない値を示しており、推測通りの結果が得られた。ポリマーの抗血栓性を評価するために、ヒト血小板粘着試験を行なった。EG側鎖長を変更したポリマーでは、EGユニット数の増加に伴った血小板粘着数の減少が見られた。さらに、2つ以上のEGユニットを有するポリマーはPMEAと同程度の血小板粘着数を示していた。また多置換体は $m=0$ と $m=1$ の間の血小板粘着数を示した (Fig.3)。

D. 考察

抗血栓性の発現に最も寄与しているポリマー特性を調べるために、血小板粘着数とポリマー特性の相関性について検討した。

ガラス転移温度や液滴法によって得られた接触角の値と血小板粘着数の関係を調べたが、高い相関は得られなかった。ポリマーの主鎖の分子運動性や材料表面の親水性だけでは抗血栓性の発現について説明できないことがわかった。次に、血小板粘着数と自由水、不凍水、中間水の関係について検討を行った。不凍水量や自由水量に対する血小板粘着数の関係を調べたところ、同じ不凍水量、自由水量を有するポリマーでも血小板粘着数に差が見られた。次に、中間水量と血小板粘着数の相関性について検討した (Fig. 4)。血小板粘着数と中間水量の相関性は他のポリマー特性よりも高く、中間水量の増加に伴った血小板粘着数の減少が見られた。またトランス体は、発現した中間水量から予測されたとおり、目的としていた $m=0$ と $m=1$ の間の血小板粘着数

を示した。さらに、 $m=2$ の場合でも血小板粘着を PMEA と同程度に抑制していたことから、ポリマー中に中間水量が 0.01 g/g 存在すれば抗血栓性を発現する可能性があることが明らかになった。以上の結果から、中間水量が抗血栓性に与える影響について考察した。中間水が存在しない材料表面では、最表面の不凍水によって吸着タンパク質の構造変化が多く生じ、血小板が多く粘着したと考えられる。しかし、ポリマー中に中間水量が少なくとも 0.01 g/g 存在すれば、タンパク質と不凍水の接触を中間水が防ぐため、吸着タンパク質の構造変化と血小板粘着を抑制したと考えられる (Fig. 5)。

E. 結論

本研究ではポリマーの一次構造の制御による、水和構造と抗血栓性の制御に成功し、抗血栓性の発現メカニズムを解明するための新たな知見を得ることができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1) T. Hoshiba, M. Nikaido, M. Tanaka, Characterization of the mechanisms of attachment of tissue-derived cell lines to blood-compatible polymers, *Adv. Healthcare Mater.*, 3, 775-784 (2014).
- (2) M.Tanaka, K. Sato, E. Kitakami, S. Kobayashi, T. Hoshiba, K. Fukushima, Design of biocompatible and biodegradable polymers based on intermediate water concept, *Polym. J.*, doi:10.1038/pj.2014.129

2. 学会発表

大澤康平,小林慎吾,田中賢,側鎖間隔を制御した新規アミド基導入ポリマーの合成,第63回高分子学会年次大会 (2014/5/28-30,名古屋)

戸来奎介,福田考作,小林慎吾,田中賢,側鎖-側鎖間の炭素数を制御した新規 PMEA 類似体の合成とその抗血栓性評価,第 63 回高分子学会年次大会 (2014/5/28-30,名古屋)

福田考作,戸来奎介,小林慎吾,田中賢,regio 選択的な開環メタセシス重合による定序性ポリ(3,4-ジメトキシシクロオクテン)の合成とその抗血栓性評価,第63回高分子学会年次大会(2014/5/28-30,名古屋)

片岡真依子,岩田幸久,小林慎吾,田中賢,Regio 選択的な開環メタセシス重合を用いた新規 PTHFA 類似体の合成とその血液適合性評価,第63回高分子学会年次大会(2014/5/28-30,名古屋)

Meng-Yu TSAI, Yuto INOUE, Takayuki OTA, Kazuki FUKUSHIMA, Masaru TANAKA, DSC Study of Hydrated Aliphatic Carbonyl Polymers, 第63回高分子学会年次大会(2014/5/28-30,名古屋)

井上裕人,佐藤千香子,佐々木彩乃,福島和樹,田中賢,抗血栓性脂肪族ポリカーボネートの細胞接着性と生分解性,第63回高分子学会年次大会(2014/5/28-30,名古屋)

太田貴之,蔡孟諭,福島和樹,田中賢,エーテル置換基を有する環状カルボニル化合物の合成と開環重合,化学系学協会東北大会(2014/9/20-21,米沢)

片岡真依子,岩田幸久,小林慎吾,田中賢,テトラヒドロフラン環を側鎖に有する定序性ポリマーの合成,化学系学協会東北大会(2014/9/20-21,米沢)

大澤康平,小林慎吾,田中賢,側鎖間隔を制御した新規アミド基導入ポリマーの合成とその水和構造解析,化学系学協会東北大会(2014/9/20-21,米沢)

泉井美幸,岩田幸久,小林慎吾,田中賢,Poly(ω -methoxyalkyl acrylate)類の合成と抗血栓性評価,化学系学協会東北大会(2014/9/20-21,米沢)

甘三奇,小林慎吾,田中賢,水酸基を有するポリ(メタ)アクリレート誘導体の合成とその血液適合性評価,化学系学協会東北大会(2014/9/20-21,米沢)

福島和樹,太田貴之,高岡駿矢,佐藤駿介,松崎

広大,岸昂平,有機分子触媒を用いた機能性バイオマテリアルの精密合成,第63回高分子討論会(2014/9/24-26,長崎)

福島和樹,蔡孟諭,太田貴之,井上裕人,岸昂平,田中賢,脂肪族エステル系ポリマーの抗血栓性と水和に及ぼす構造因子の解析,第63回高分子討論会(2014/9/24-26,長崎)

干場隆志,佐藤一博,大類寿彦,丸山寛花,遠藤千穂,田中賢,中間水が異なる高分子による細胞接着の制御とその応用,第63回高分子討論会(2014/9/24-26,長崎)

小林慎吾,福田考作,戸来奎介,北上恵理香,片岡真依子,大澤康平,regioselective ROMP法を用いた定序性高分子の合成とバイオマテリアルへの応用,第63回高分子討論会(2014/9/24-26,長崎)

大澤康平,小林慎吾,田中賢,Regio 選択的な開環メタセシス重合による側鎖間隔を制御した新規アミド基導入ポリマーの合成とその水和構造解析,第63回高分子討論会(2014/9/24-26,長崎)

Shenyao Xue, Shingo Kobayashi, Masaru TANAKA, Hiroyuki Furusawa, Measurements of Hydration Amount and Viscoelasticity of Biocompatible Polymers using Quartz-Crystal Microbalance with Dissipation Technique, SmsSys2014(2014/10/15-17,米沢)

大澤康平,小林慎吾,田中賢,Synthesis of Polymers Having Amide Side-chains and Analysis of Hydration Structure, SmsSys2014(2014/10/15-17,米沢)

岸 昂平,井上裕人,佐々木彩乃,佐藤千香子,田中賢,福島和樹, Polymeric Degradable Antimicrobials with Enhanced Blood Compatibility, SmsSys2014(2014/10/15-17,米沢)

田中賢,佐藤一博,北上恵理香,小林慎吾,干場隆志,福島和樹,中間水コンセプトによる生体親和性高分子の設計と診断・治療デバイスへの応用,第23回ポリマー材料フォーラム(2014/11/6-7,奈良)

泉井美幸,岩田幸久,小林慎吾,田中賢,Poly(ω -methoxyalkyl acrylate)類の合成と抗血栓性評価,第25回バイオマテリアル若手研究会 (2014/11/6-7,八王子)

片岡真依子,小林慎吾,田中賢,テトラヒドロフラン環を側鎖に有する定序性高分子の合成と抗血栓性評価,2014 高分子学会東北支部会 (2014/11/13-14,郡山)

福島和樹,機能性脂肪族ポリカーボネートを用いたバイオメディカル材料の新展開,2014 高分子学会東北支部会 (2014/11/13-14,郡山)

佐藤一博,小林慎吾,綿引省吾,及川昌彦,干場隆志,田中賢,エチレングリコール鎖に注目した Poly(2-methoxyethyl acrylate)類似体の高分子-水相互作用の解析と抗血栓性評価,第36回日本バイオマテリアル学会大会 (2014/11/17-18,東京)

片岡真依子,小林慎吾,田中賢,テトラヒドロフラン環を側鎖に有する定序性高分子の合成と抗血栓性評価,第36回日本バイオマテリアル学会大会 (2014/11/17-18,東京)

福田考作,戸来奎介,小林慎吾,田中賢,ポリ(3,4-ジメトキシクロオクテン)の合成とその抗血栓性評価,第36回日本バイオマテリアル学会大会 (2014/11/17-18,東京)

泉井美幸,岩田幸久,小林慎吾,田中賢,Poly(ω -methoxyalkyl acrylate)類の合成と抗血栓性評価,第36回日本バイオマテリアル学会大会 (2014/11/17-18,東京)

井上裕人,佐藤千香子,佐々木彩乃,福島和樹,田中賢,,抗血栓性を示す生分解性ポリカーボネートを含むポリウレタンの合成と特性評価,第36回日本バイオマテリアル学会大会 (2014/11/17-18,東京)

太田貴之,蔡孟諭,井上裕人,福島和樹,田中賢,生分解性ポリマーの水和に関する構造因子の解析と抗血栓性への効果,第36回日本バイオマテリアル学会大会 (2014/11/17-18,東京)

甘三奇,小林慎吾,田中賢,Water structure of blood compatible poly[hydroxyalkyl(meth)acrylate]s,第36回日本バイオマテリアル学会大会 (2014/11/17-18,東京)

戸来奎介,福田考作,小林慎吾,田中賢,Synthesis and blood-compatibility evaluation of novel PMEA analogs having precisely placed side-chain branches.,第10回 IPC2014 (2014/12/2-5,つくば)

片岡真依子,小林慎吾,田中賢,Synthesis of novel polymers having precisely placed tetrahydrofurfuryl side-chain branches via regioselective ring-opening metathesis polymerization and their blood compatibility evaluation,第10回 IPC2014 (2014/12/2-5,つくば)

福田考作,小林慎吾,田中賢,Synthesis of sequence- and geometry-specific poly(3,4-dimethoxycyclooctene)s and their antithrombotic evaluation,第10回 IPC2014 (2014/12/2-5,つくば)

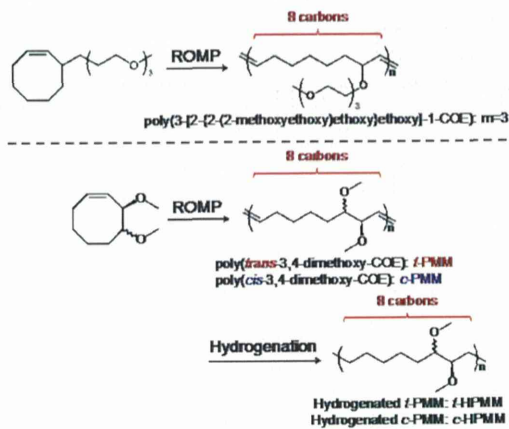
佐藤一博,小林慎吾,綿引省吾,及川昌彦,干場隆志,田中賢,The relationship between water structure and blood compatibility in poly(2poly(2-methoxyethyl acrylate) (PMEA) analogues,第10回 IPC2014 (2014/12/2-5,つくば)

福島和樹,井上裕人,岸昂平,太田貴之,Meng-Yu TSAI,佐藤駿祐,松崎広大,Functional Degradable Biomaterials Based on Organocatalysis and Substituted Cyclic Carbonates,第10回 IPC2014 (2014/12/2-5,つくば)

小林慎吾,福田考作,戸来奎介,片岡真依子,大澤康平,田中賢,Synthesis of Sequence-specific Polymers via Regioselective ROMP and Biomaterial Applications,第10回 IPC2014 (2014/12/2-5,つくば)

甘三奇,小林慎吾,田中賢,Synthesis and anti-thrombotic evaluation of novel PHEMA analogs having different side-chain structures,第10回 IPC2014 (2014/12/2-5,つくば)

大澤康平,小林慎吾,田中賢,Synthesis of novel
regioregular polymers having amide
side-chains via regioselective ring-opening
metathesis polymerization and their
biocompatibility evaluation,第10回 IPC2014
(2014/12/2-5,つくば)



Scheme. 1 ROMPと水素添加反応によるポリマー合成

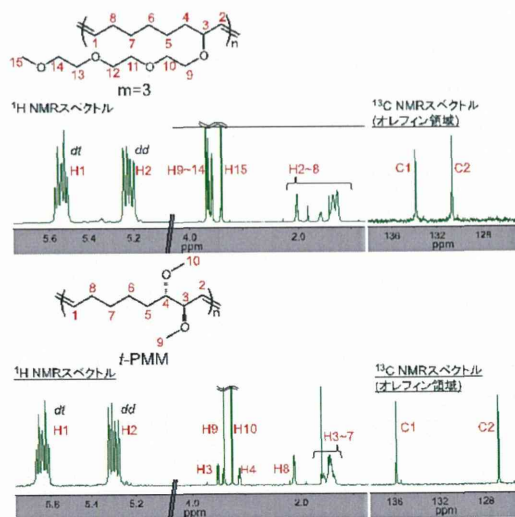


Fig. 1 m=3とt-PMMのNMRの測定結果

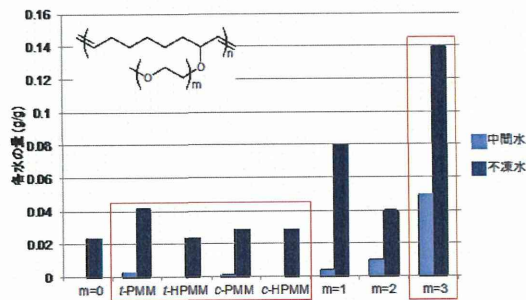


Fig. 2 中間水と不凍水の定量結果

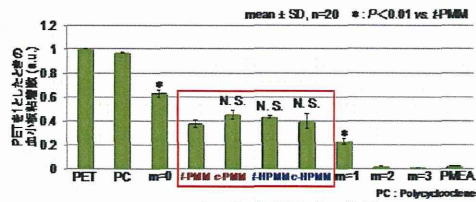


Fig. 3 ヒト血小板粘着試験の結果

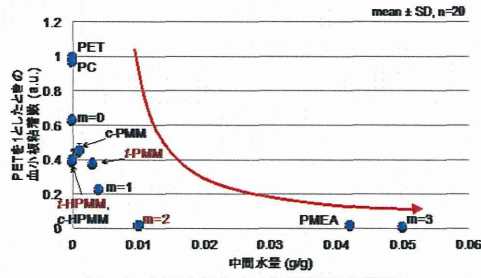


Fig. 4 中間水量と血小板粘着数の関係

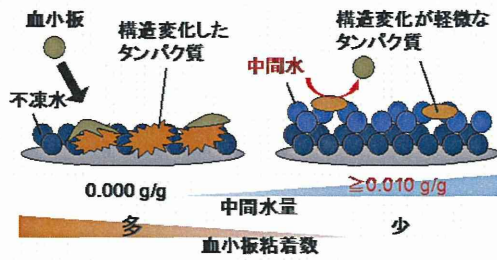


Fig. 5 中間水量が抗血栓性に及ぼす影響

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
分担研究報告書

「革新的医療機器開発を加速する規制環境整備に関する研究」

国際標準歯科インプラント材料の有効性及び安全性評価に関する研究

研究分担者 佐々木 啓一 東北大学大学院歯学研究科長

研究要旨

本研究では、アカデミア、独立行政法人医薬品医療機器総合機構、日本歯科材料工業協同組合の3者が連携し、歯科用インプラントの承認審査で行うべき疲労試験のワーストケース設定やインプラント表面処理方法などに関する考え方を、科学的エビデンスに基づき学術的に検討、整理し、歯科インプラントが真に具備すべき要件を再考し、「課題解決に向けた提言」の取り纏めワーストケース”選定のためのフローチャート案（ISO 14801 準拠）の提案を行った。

本研究をベースとして、我が国での審査基準など審査の考え方を再構築することで、申請資料作成の効率化及び審査の迅速化を図り、さらには、新たな国際標準設定に資するものとして、世界に情報発信することにより、国内歯科医療機器産業への波及効果も期待できる。

A. 研究目的

歯科分野の各種医療機器の承認審査において、審査期間の長期化をはじめとするいくつかの課題が指摘されている。殊に、近年、国内外で数多くの新製品が創出されている歯科インプラント分野では、これら課題が顕在化しつつあり、新規製品の上市の遅延が本邦における国際標準の歯科インプラント治療の拡大を妨げる一因となっているとの指摘がある。さらに国産プロダクトの上市遅延が国内企業の競争力を低下させているとの指摘もある。

その解決へ向けて、厚生労働省から平成21年5月に「歯科用インプラント承認基準の制定について」、平成24年7年に「歯科用インプラントの承認申請に関する取扱いについて（Q&A集）」が通知され、具体的な審査の取扱いが示されたところである。しかし、現時点においてもなお、関連団体から申請時に必要な疲労試験における機械的強度の評価項目の明確化や簡素化が求められるなど、未だ課題を残している。

また厚生労働省は、平成21年12月にとりまとめた「医療機器の審査迅速化アクションプログラム」に基づき、審査迅速化に取り組んでいるところであり、全体としては審査期間の改善がみられている。しかし歯科分野の審査については依然、長期化している品目も多く、業界団体からも更なる改善が求められている。これら背景から、承認申請が多い歯科インプラントの審査の改善は急務となっている。

そこで本研究では、アカデミア、独立行政法人医薬品医療機器総合機構、日本歯科材料工業協同組合の3者が連携し、承認審査で特に課題となっている歯科用インプラントの疲労試験におけるワーストケース設定の根拠や、インプラント表面処理方法などに関する考え方を、科学的エビデンスに基づき検討、整理し、歯科インプラントが具備すべき要件を再考することを目的とした。

本研究の成果を基盤とし、本邦での審査基準等、審査の考え方を再構築することで、申請資料作成の効率化および審査の迅速化を図るとともに、新たな国際標準の設定に資するものとして世界に情報発信することにより、国内歯科医療機器産業への波及効果も期待できる。

B. 研究方法

本研究では、現在の歯科インプラント承認審査の課題を抽出、科学的な根拠に基づき、その解決策を検討することを目的とするため、歯科インプラントに関連する学会や大学等からの研究者（アカデミア）、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）、日本歯科材料工業協同組合の3者が密に連携し、研究を遂行した。具体的には、下記の班会議の構成メンバーにより、特に歯科インプラントの疲労試験のワーストケース設定などの考え方について審査側と申請者側で問題と考えている事項を把握し、明確な科学的エビデンスに基づき検討することで、我が国での審査基準など審査の考え方を再構築することを目的とし、平成25年度および26年度で計6回の班会議を行った。

なお、追加エビデンスの必要性が生じたため、疲労試験におけるワーストケース設定に関し、FEMにおける簡略モデルの可能性を検討する目的で、JFEテクノロジー（株）に委託し、有限要素解析法（FEM）を用いた実験を行った。

【班会議構成メンバー】

研究分担者	
佐々木 啓一	（東北大学大学院歯学研究科 研究科長・教授、日本補綴歯科学会 理事・元理事長）
研究協力者	
新家 光雄	（東北大学金属材料研究所・前所長、日本金属学会理事長）
埴 隆夫	（東京医科歯科大学生体材料工学研究所・前所長、前日本歯科理工学会 会長）
渡邊 文彦	（日本歯科大学新潟生命歯学部 教授、日本口腔インプラント学会 理事長）
古谷野 潔	（九州大学歯学研究院 教授、日本口腔インプラント学会 理事・学術委員長、日本補綴歯科学会 理事・前理事長）
矢谷 博文	（大阪大学大学院歯学研究科 教授、日本補綴歯科学会 理事長）