氏名	棚橋　一裕

（論文内容の要旨）

本論文は、生体組織の再生誘導を目的として、細胞を効率よく接着、増殖させるための細胞の足場およびプラスミド DNA の徐放性キャリアとなる生体吸収性ハイドロゲルの設計と調製、およびハイドロゲルからのプラスミド DNA の徐放性および生物活性の発現に関する研究をまとめたものであって、緒言、本論２編７章、および総括からなっている。

緒言では、生体組織の再生誘導に必要な細胞足場材料および生理物質の徐放性キャリア材料の設計の考え方と、これまで研究されてきた足場材料およびキャリア材料について概説し、本研究の目的とその背景、および本論文の概要が述べられている。

第１編では、細胞接着性をもつ足場材料としてのポリ（プロピレンフマレート-*co*-エチレングリコール）ハイドロゲルの設計と調製、およびこれらの生体吸収性と細胞接着性について検討した結果をまとめている。

第１章では、ポリ（プロピレンフマレート-*co*-エチレングリコール）共重合体（以下、P(PF-*co*-EG)）からなるハイドロゲルを調製した。まず、フマル酸ジエチルとプロピレングリコールを塩化亜鉛触媒存在下で脱水縮合し、ポリプロピレンフマレート（以下、PPF）を得た。次に PPF とポリエチレングリコール（以下、PEG）のエステル交換反応により、P(PF-*co*-EG)を合成した。様々な分子量をもつ PEG を用いて EG/PF 比率の異なる P(PF-*co*-EG)を合成した後、酸化還元開始剤を用いたラジカル反応により P(PF-*co*-EG)ハイドロゲルを得た。

第２章では、P(PF-*co*-EG)の親水性が、ハイドロゲルの親水性および細胞接着性に与える影響について調べた。P(PF-*co*-EG)の EG/PF 比率の増加とともに親水性は増加した。これとともに、P(PF-*co*-EG)ハイドロゲルの含水率、表面接触角が増加すること、EG/PF 比率がある値を越えると、ハイドロゲルの親水性が P(PF-*co*-EG)の親水性に依存しなくなることを見出した。このように、P(PF-*co*-EG)の性質がハイドロゲルの親水性に影響することを明らかにした。平滑筋細胞と血小板の接着は P(PF-*co*-EG)の親水性とは逆相関であり、ハイドロゲルの細胞接着性を向上させるためには接着を促す官能基を導入する必要があることがわかった。

第３章では、フマル酸の２つのカルボキシル基のそれぞれに PEG を結合したジエステル化合物の両末端の水酸基に生体物質であるアグマチンを結合した化合物（以下、Agm-PEGF）を合成した。フマル酸の二重結合を利用して、架橋反応により Agm-PEGF を P(PF-*co*-EG)ハイドロゲルに導入し、アグマチン修飾ハイドロゲルを調製した。P(PF-*co*-EG)ハイドロゲルのアグマチン修飾は、ハイドロゲルの吸水速度には影響を与えなかったが、含水率、PEG の結晶化度、平滑筋細胞の接着性に影響を与えることがわかった。

第４章では、P(PF-*co*-EG)ハイドロゲルの生体吸収性について検討した。ハイドロゲルの生体吸収性は P(PF-*co*-EG)の組成およびアグマチン修飾に大きく影響されなかったが、EG 比率が高く親水性の高い P(PF-*co*-EG)からなるハイドロゲルの生体吸収速度は大きかった。また、アグマチン修飾したハイドロゲルは、修飾していないハイドロゲルと比較して速く生体内で吸収されることを明らかにした。

氏名	棚橋　一裕

（論文内容の要旨）

第５章では、アグマチン修飾したP(PF-*co*-EG)ハイドロゲルに対する平滑筋細胞の接着および伸展が培養血清の有無に依存することを見出した。細胞接着性タンパクに着目して研究した結果、フィブロネクチンの吸着はアグマチン修飾の影響をうけず、ビトロネクチンの吸着が影響をうけることがわかった。以上のことより、平滑筋細胞はビトロネクチンを介してアグマチン修飾したハイドロゲルに接着していると考えられた。

第２編では、プラスミドDNA徐放キャリア材料としての徐放性制御を向上させるための（(ポリエチレングリコール）フマレート）オリゴマー（以下、OPF）ハイドロゲルとカチオン性ゼラチン微粒子とのコンポジットの設計と調製、およびプラスミドDNAの徐放性について検討した結果をまとめている。加えて、骨形成因子プラスミドDNAを用いてコンポジットを作製、それらの骨再生誘導性を調べた。

第６章では、OPFハイドロゲルとゼラチン微粒子とのコンポジットからのプラスミドDNA徐放性について調べた。その結果、プラスミドDNAの徐放パターンが、ハイドロゲルの組成、ゼラチン微粒子の有無やプラスミドDNAの担持方法の影響を受けることがわかった。コンポジットからのプラスミドDNA徐放はOPFの加水分解に支配されており、OPFの分子量等を制御することでDNA徐放速度を制御できることを明らかにした。また、徐放されたプラスミドDNAは二重らせんの環状構造を保持しており、OPFハイドロゲルとゼラチン微粒子とのコンポジットがDNAデリバリーの担体として有効であることを示した。

第７章では、ヒト骨形成因子（hBMP-2）をコードしたプラスミドDNAを担持したOPFハイドロゲルとゼラチン微粒子とのコンポジットを作製し、それをラットの頭蓋骨欠損部分に埋植し、DNA徐放に対する骨形成反応を調べた。その結果、プラスミドDNAを担持したOPFハイドロゲルとゼラチン微粒子とのコンポジットサンプルを埋植した場合にのみ欠損部位の中央部分に骨形成が認められた。しかしながら、骨形成を著しく促進する効果は見られず、骨形成能を更に向上させるためには、徐放するプラスミドDNAの量またはその徐放速度をよりよく制御する必要があると考えられた。

このように、本研究においては、生体組織の再生誘導を目的とし、細胞を効率よく接着、増殖させるための新しい生体吸収性ハイドロゲルの合成と、その物理化学的、生物学的性質の評価を行った。具体的には、アグマチンを導入したP(PF-*co*-EG)ハイドロゲルを細胞の足場材料として、また、OPFハイドロゲルとゼラチン微粒子とのコンポジットをhBMP-2プラスミドDNAの徐放性キャリアとして応用展開するために必要な基礎的な知見が得られた。これらの知見は、生体組織の再生誘導治療を実現するための材料設計における重要な指針となると考えられる。

氏名	棚橋　一裕

（論文審査の結果の要旨）

本論文は、生体組織の再生誘導を目的として、細胞を効率よく接着、増殖させるための細胞の足場およびプラスミド DNA の徐放性キャリアとなる生体吸収性ハイドロゲルの設計と調製、ハイドロゲルからのプラスミド DNA の徐放性および生物活性の発現に関する研究をまとめたものであり、２編７章から成る。得られた主な成果は次のとおりである。

１．　ポリ（プロピレンフマレート-*co*-エチレングリコール)(P(PF-*co*-EG))の親水性がハイドロゲルの親水性、および平滑筋細胞と血小板の接着に影響し、細胞接着性向上のためには接着を促す官能基を導入する必要があることを明らかにした。

２．　フマル酸の両末端にアグマチンを導入したモノマー（Agm-PEGF）を新規に合成し、P(PF-*co*-EG)ハイドロゲルに導入した。アグマチン修飾は、P(PF-*co*-EG)ハイドロゲルの含水率、PEG の結晶化度、平滑筋細胞の接着性に影響を与えることを明らかにした。

３．　アグマチン修飾 P(PF-*co*-EG)ハイドロゲルに対する平滑筋細胞の接着および伸展が培養血清の有無に依存することを見出し、ビトロネクチンの吸着がアグマチン修飾の影響をうけることを明らかにした。

４．　P(PF-*co*-EG)ハイドロゲルの生体吸収性は P(PF-*co*-EG)の組成およびアグマチン修飾に大きく影響されないことを示した。

５．　オリゴ（ポリエチレングリコールフマレート）(OPF)ハイドロゲルとゼラチン微粒子とのコンポジットからのプラスミド DNA の徐放期間を、ゼラチン微粒子にプラスミドDNA を担持させることによって延長できることを明らかにした。また、徐放されたプラスミド DNA は生理活性のある構造を保持し、当該コンポジットの DNA デリバリー担体としての有効性を示した。

６．　ヒト骨形成因子（hBMP-2）をコードしたプラスミド DNA を担持した OPF ハイドロゲルとゼラチン微粒子とのコンポジットの *in vivo* の骨形成能向上のために、プラスミド DNA の徐放量または徐放速度をよりよく制御する必要があることを明らかにした。

以上、本論文は、生体組織の再生誘導を目的とし、細胞を効率よく接着、増殖させるための新しい生体吸収性ハイドロゲルの合成と、その水膨潤度、細胞接着と増殖性や、プラスミド DNA からの徐放性などを調べた。得られた研究成果は、生体組織の再生誘導治療を実現するための材料設計における重要な指針となると考えられ、学術上、実際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成２０年１２月２２日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。