

生体内環境を再現するポリホスフェートヒドロゲルの調製と機能

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所有機材料分野

岩 崎 泰 彦

Hydrogels are insoluble, cross-linked polymer networks that can absorb significant amounts of water. From a biological viewpoint, hydrogels are as flexible as soft tissues, which minimize their potential irritation to surrounding tissue. More recent trends in hydrogel research are macromolecular drug delivery and cell entrapment for tissue engineering. For these applications, biodegradability and biocompatibility of hydrogels are important.

There has been a great deal of interest in polyphosphates, which are biodegradable through hydrolysis, and possibly enzymatic digestion of phosphate linkages under physiological conditions. These biodegradable polyphosphates appear interesting for biological and pharmaceutical applications because of their biocompatibility and structural similarities to the naturally occurring nucleic and teichoic acid.

To obtain a novel biodegradable cross-linker, polymerizable polyphosphate (PIOP) was synthesized by ring-opening polymerization of 2-*i*-propyl-2-oxo-1,3,2-dioxaphospholane with 2-(2-oxo-1,3,2-dioxaphosphoroyloxyethyl methacrylate) (OPEMA). The number averaged molecular weight of the PIOP was 1.2×10^4 and the number of OPEMA units in one PIOP molecules was 2.2. Nonenzymatic degradation of the PIOP was evaluated in various pH aqueous media. The degree of hydrolysis was dependent on the pH, that is, it increased with an increase in the pH of the medium. At pH 11.0, the PIOP completely degraded only 6 days. The poly[2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)] cross-linked with the PIOP was prepared by radical polymerization. This polymer could form hydrogel and the free water fraction in the hydrogel was high. The enzymatic activity of trypsin in contact with the hydrogel was similar to that in buffer solution. There is no adverse effect caused by the hydrogel to reduce the function of the trypsin. The cytotoxicity of poly(MPC) and degraded PIOP was evaluated using v79 cells and it was not observed in either case.

In conclusion, PIOP is a hydrolyzable polymer, which can be used as a cross-linker, and novel hydrogels having biodegradability and biocompatibility were prepared from poly(MPC) cross-linked with the PIOP.

1. はじめに

軟組織を対象とした医療において、柔らかく、ある程度の体積をもち、ひずみをかけると変形し、可逆的に元に戻るポリマーゲルは非常に効果的である。

ゲルを定義すると“三次元の網目構造をもった分子量が無限大の物質”、“あらゆる溶媒に不溶の三次元の網目構造をもつポリマーおよびその膨潤体”あるいは“液相と固相とが同時に存在している状態”などがあげられる。ゲル化は架橋によってもたらされるが、架橋構造の生成は必ずしも化学反応による必要はない。

近年、ヒドロゲルの分子設計は多岐にわたり、その機能も単に高吸水を目的とするだけでなく、物理的または化学的刺激に応じて物性を変化させるインテリジェントゲル^{1,2)}、分子の選択的に認識できる分子インプリントゲル³⁾、生体内で一定期間存在した後、分解吸収されるバイオデグラダブルゲル（生分解性ゲル）⁴⁾が調製されている。これらの

ゲルは、物質透過性を周囲の環境に応じて変化させることができるため、薬物徐放担体としての利用が検討されている。特にタンパク質などの生体高分子の徐放担体や細胞を天然の状態で内包することができる人工細胞外マトリックスとしての利用が、ヒドロゲルの新たな展開として注目されている。

生体内での安定性と適度な強度を考慮すると化学結合型のゲルが有効であるが、架橋剤には毒性を示すものもあるため、分解生成物と同様に生体に悪影響を及ぼさない分子を選択する必要がある。一方、物理架橋型ゲルは、架橋剤を必要としないため、安全性、分解性の面で有利であるが、生体分子やイオン強度によってゲルの性質変化しやすいため、生理的条件下で安定に存在し、ある特定の刺激に応じて解離もしくは分解するゲルを調製することが課題である。

生体内におけるポリマーの分解機構は、酵素的、非酵素的分解の二つに分けられる。前者は、生体内に存在する酵素による特異的な分解であるのに対し、後者は、水との接触にともなう加水分解である。このような機構により分解され得る官能基をポリマーの主鎖に導入することにより、生分解性を有するポリマーを得ることができる。その多くは、天然の代謝物であるアミノ酸、糖、 α -ヒドロキシ酸、あるいは脂肪酸をポリマーの主鎖に含むポリマーが合成される。



A novel biodegradable polyphosphate cross-linker for making biomimetic hydrogel

Yasuhiko IWASAKI

Tokyo Medical and Dental University

天然ポリマーであるゼラチンのヒドロゲルやコラーゲンスポンジは、組織工学に用いられている分解性ゲルの代表例である。特にコラーゲンは天然の細胞外マトリックスに含まれ、細胞の接着、増殖には非常に適したマテリアルである。これらのゲルに様々な細胞増殖因子を含ませ徐放することにより、心臓冠動脈の再建や脂肪組織の再生が可能なることが報告されている⁵⁾。一方、天然ポリマーを原料とした場合、ポリマーの構造安定性や生物学的安全性がしばしば問題となるため、これらの点を十分に注意しなければならない。

本研究では、生体に優しいヒドロゲルの創製を目的とし、生体の構造に注目して新たに分子設計された分解性ゲルを合成し、その特性を詳細に評価した。

2. 生分解性ゲル

生体内で分解するポリマーは、縫合糸、硬組織の修復材、癒着防止膜、徐放性医薬等、医療に関係した様々な用途に用いられている。これまで透水性に分解性を制御するためポリ乳酸やポリグリコール酸など、比較的疎水性の高い脂肪族ポリエステルが用いられる。これら脂肪族ポリエステルは酵素的、非酵素的に加水分解し、分解生成物が生体の代謝経路に取り込まれるため、生体適合性に優れていると考えられ、旧来の生分解性ポリマーの用途に加え、組織を再生するための細胞の足場となる多孔質体（スキャホールド）にも利用されている。しかしながら、ポリマー自身の生体適合性に関する検討は十分でなく、分解速度が小さいことや高い結晶性と乏しい溶解性によるポリマーの生体内での残留⁶⁾、分解による極度なpH低下が細胞、組織にあたる影響⁷⁾など危惧される点も多い。また、タンパク質やペプチドを医薬として連続的に徐放するための担体や、細胞を患部に注入し一定期間留めておく担体として分解性ポリマーが有効と考えられるが、疎水性の高い旧来の分解性ポリマーでは、タンパク質や細胞を失活させずに内包することは不可能であり、生体と同様な高い含水特性を有するハイドロゲルタイプの分解性ポリマーが必要となる。

表-1に分解性ゲルの架橋の方法とその例をまとめた³⁾。この表に示すようにゲルの分子設計は様々であり、化学架橋、物理架橋それぞれ多くのゲルが設計されて

いる。化学架橋のゲルはデキストラン等の多糖を縮合や付加反応により架橋したものや酵素でペプチド結合を形成させたゲルも報告されている。一方、物理的に架橋したゲルは、様々な分子間相互作用を巧みに利用しゲル化を誘導している。すなわち、ポリマー自身の分解が起らなくとも、何らかの外的要因にともない分子間相互作用が阻害されることにより、ゲルは崩壊する。物理架橋の現象は天然ポリマーに多く見られる。天然ポリマーのゲル化は調理法を含む食品関係と共に、薬剤にも広く用いられており、アルギン酸とカルシウムイオンを混ぜることにより得られるゲルはその代表例である⁸⁾。また、温度に応答してゲル化するポリマーには、ゼラチン、アガロース、アミロース、アミロペクチン、セルロース類縁体、カラギナン、Gellan[®]に代表される多糖などがあげられる。ここにあげた全ての天然ポリマーは有機溶媒中にくらべ水中でゲルを形成しやすい。その機構はポリマーが3重螺旋構造（ゼラチン）や2重螺旋構造（多糖）を形成することによって結晶化がすすみ、この結晶の成長に伴いゲル化がおこる⁹⁾。高い温度では、これらのポリマーはランダムコイル状態をとっている。温度を下げることにより、螺旋構造が形成される。

一方、温度に応答してゾルゲル相転移を示すポリマーも分子間力を巧みに利用して形成されるヒドロゲルとして興味深い。親水性ユニット（HPL）と疎水性ユニット（HPB）を交互に結合したトリブロックコポリマー（HPL-HPB-HPL）水溶液が温度変化に伴いゾルゲル相転移を示すことが報告されている^{10,11)}。HPLにポリエチレングリコ

表-1 分解性ゲルの設計

	橋架け形成機構	例
化学架橋	重合と同時に橋架け	グリシジルメタクリレートとデキストランポリホスフェートゲル
	高分子鎖を後橋架け	水酸基、アミン、ヒドラジド基をもつポリマーとアルデヒド
	付加反応	ジイソシアネートとデキストラン
	縮合反応	縮合剤によるゼラチンの架橋
	γ線	PVA, PEG, PA
	酵素反応	アミド結合生成
物理架橋	イオン結合	アルギン酸とカルシウムイオン
	結晶性	PVA
	ステレオコンプレックス	PLLA-PEG-PLLAとPDLA-PEG-PDLA
	疎水結合	両親媒性ポリマー
	水素結合	ポリメタクリル酸とPEG
	タンパク質相互作用	人工タンパク質 抗原抗体反応

ール (PEG) に HPB にポリプロピレンオキシド (PPO) を有する PEG-PPO-PEG はその代表例である。PEG-PPO-PEG は Pluronic[®] または Poloxamer[®] と称され、非イオン性界面活性剤として一般に使用されている。Alexandridis らは PEG-PPO-PEG 水溶液の物理化学的性質やその応用を明確に報告している¹²⁾。一方、Kim らは HPB に分解性ポリマーであるポリ-L-ラクチド (PLLA) を有する PEG-PLLA-PEG を合成し、このブロックポリマーも温度に依存したゾル-ゲル転移を示すことを見出した¹³⁾。この他にも HPB にポリ-L-ラクチドとポリグリコリドのコポリマー (PLGA) を有する PEG-PLGA-PEG¹⁴⁾、PEG とポリ(ε-カプロラクトン) (PCL) のマルチブロックコポリマー¹⁵⁾、PLGA に PEG をグラフトしたコポリマー¹⁶⁾ や PEG に PLGA をグラフトしたコポリマー¹⁷⁾ がゾル-ゲル転移を示すことが明らかとなっている。

一方、ポリマーの立体構造を制御することによりゲルを調製することも可能である。ポリラクチドの L 体、D 体を PEG 両端にもつトリブロックポリマーを水中で混ぜることによりポリラクチドがステレオコンプレックスを形成し、これが架橋点となりゲル化する¹⁸⁾。ステレオコンプレックスの形成により物理架橋型ゲルの中でも比較的強固なゲルが調製できる。Hennik らは、デキストランに L 体と D 体のラクチドオリゴマーを導入し、ラクチドオリゴマー間のステレオコンプレックス形成を介したヒドロゲルの調製に成功した¹⁹⁾。このように2種類のポリマーを混ぜることにより得られるゲルは、温度などの外的な環境を変化させることなくゲルを調製できるため非常に有効である。

3. 生体に倣って設計された分解性ヒドロゲル

筆者らは、これまでに生体膜の構造に着目し、図-1 に示した MPC を一成分とする種々のポリマーを合成し、これらのポリマーが優れた生体適合性を示すことを明らかにした²⁰⁻²²⁾。MPC および MPC ホモポリマーは水溶性であり、疎水性のアルキルメタクリレートと共重合することにより、その溶解性を制御できる。例えば、MPC とブチルメタクリレート (BMA) とのランダムコポリマーでは分子量により多少の変動はあるものの、MPC 組成が30%を境に水に対するポリマーの溶解性が変化する。このように MPC ユニットは非常に高い親水性を示すが、旧来の親水性ポリマーとは異なり、水との相互作用が極めて小さいことが MPC ポリマーの特徴である。MPC ポリマーに含水した、もしくは、MPC ポリマーを溶解した水の構造を調べてみると、自由水の割合が非常に多い²⁰⁾。全ての生体反応の媒体として働く水の構造がポリマーとタンパク質との相互作用に影響をあたえることが近年報告されている²³⁾。すなわち、水の構造を壊すことにより、ポリマー表面へのタンパク質吸着や吸着タンパク質の変性が誘導される。タンパク質吸着は生体とポリマーが接触した際に最も短時間に見られる現象

であり、非特異的なタンパク質吸着はポリマーに対する生体の異物認識反応の原因となる。高い親水性を示しながら水の構造を破壊しない MPC ポリマーは、タンパク質と非特異的に相互作用せず、生体と伴に用いられるヒドロゲルを調製するための最適なポリマーであると言える。

Nam らは MPC と BMA のコポリマーと MPC とメタクリル酸のコポリマーの水溶液を混合することにより、容易にヒドロゲルが形成されることを見出した²⁴⁾。両者のポリマーは水溶液中で疎水性相互作用と水素結合を駆動力としゲル化することが、ラマン分光分析法から明らかとなっている (図-2)。すなわちこれらの相互作用を利用することにより、ゲルの形成、崩壊を自由にコントロールすることが可能になる。彼等は、この物理ゲルをタンパク質の担体とし用いることを考えた。MPC ポリマーはタンパク質等の生体ポリマーとの相互作用が極めて弱く、MPC ポリマーがタンパク質の構造変化や機能低下を惹起しないため、このような目的には最適な材料と言える。インスリン等のポリペプチドを体内に投与する場合、消化器官を利用することが得策である。しかしながら、消化器官にはタンパク質分解酵素が存在するため、ポリペプチドを保護し、消化器官に吸収されやすくするために水溶性ポリマーで覆うことにより効率の良い送達が期待できる。

筆者らは脂肪族ポリエステルに代わる分解性結合を主鎖にもつポリマーとしてポリホスフェートを採用し、新しいヒドロゲルを調製した²⁵⁾。ホスフェート結合は核酸をはじめ

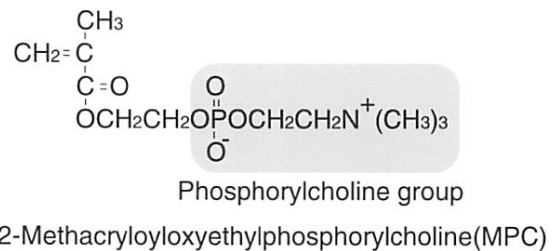


図-1 MPCの構造

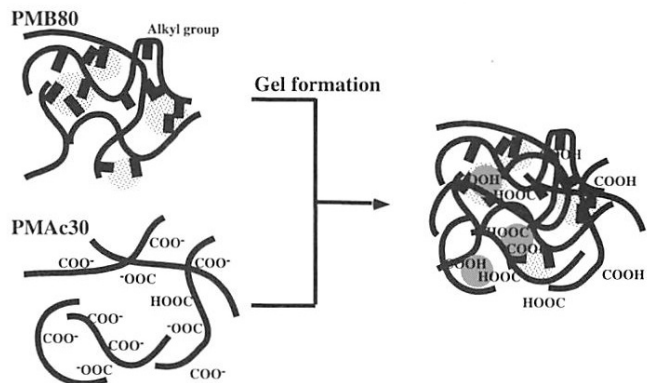


図-2 水溶性MPCポリマーのゲル化機構

め生体内に存在し、この結合を主鎖にもつポリホスフェートは非酵素的な加水分解および酵素的に分解される。ポリホスフェートの合成の検討は比較的古くから行われ、環状リン酸化合物の開環重合、塩化リン化合物の重縮合によりものが一般的である。最近では、リパーゼを用いた酵素重合でもポリホスフェートが得られることが明らかとなっている。ポリホスフェートの溶解性は側鎖の構造によって制御可能であり、イソプロピル基や*t*-ブチル基等のアルキル鎖を有するポリマーは、水に不溶であるが、加水分解に伴い脱アルコール化されることにより、水に可溶となる。

近年、このホスフェート結合を主鎖にもつポリマーのバイオマテリアルとしての有効性が認められはじめている。Wangらは、エチルジクロロホスフェートを鎖延長剤としてポリエチレンテレフタレートにホスフェート結合でつないだポリホスホエステルの中空糸を調製し、神経再生のガイドチューブとしての有効性を見出した²⁶⁾。Leongらは、側鎖にスベルミジン等のカチオン性基を有する水溶性ポリホスフェートはポリエチレンジイミンに比べ細胞毒性がほとんど認められず、DNAと安定なコンプレックスを形成することから、カチオン性ポリホスフェートが遺伝子キャリアとして有効に働くことを明らかにした²⁷⁾。

ポリホスフェートは溶解性や分解性が典型的な脂肪族ポリエステルに比べ優れており、化学修飾も容易なため新規な生分解性バイオマテリアルとしてとても興味深い。ホス

フェート結合をもつ新しい分解性ゲルの検討もすすめられている。Wangらはポリ(2-ヒドロキシエチルメタクリレート)(PHEMA)とポリエチレンオキシドをホスフェート結合でつなぎ含水ゲルを得た²⁸⁾。この含水ゲルは細胞を生存させたまま内包することが示されている。しかしながら、分解生成物の中に水に不溶なPHEMAが含まれるため、更なる分子設計が望まれる。

筆者は、重合性をもつポリホスフェートを得るために2種類の環状リン酸化合物、2-*i*-プロピル-2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン(IPP)と2-(2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホロイルオキシ)エチルメタクリレート(OPEMA)は既報に従い合成した²⁹⁾。トリイソブチルアルミニウム(TIBA)を開始剤として用い、開環重合によりIPPとOPEMAのコポリマー(PIOP)を合成した。PIOPの構造を図-3に示す。ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)および¹H-NMRによりPIOPを解析したところ、トリイソブチルアルミニウム(TIBA)とOPEMAの濃度を0.3 mol%、2.0 mol%とした時、分子量(Mw)11000、分子量分布1.3と単分散に近いポリホスフェートが得られ、PIOPの単分子当たりのOPEMAのユニット組成が2.2となった(表-2)。PIOPはエタノール、THF、DMSO、クロロホルムに溶解し、水、ジエチルエーテル、ヘキサンに不溶であった。

pHを変化させてPIOPの加水分解を調べたところ、pH4.0でPIOPの分解は極めて遅く、40日後も95%残存

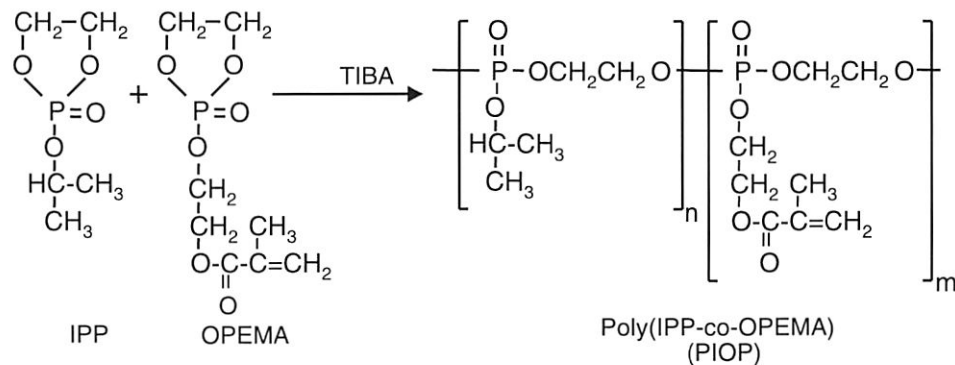


図-3 重合性基を有するポリホスフェートの合成

表-2 PIOPの合成結果

重合時間 (h)	重合温度 (°C)	[開始剤] (mol%)	[OPEMA]		収率 (%)	分子量 (x10 ³)	Mw/Mn	PIOP一本鎖当りに含まれる PIOPのユニット数
			仕込み (mol%)	ポリマー中				
2	0	0.30	2.0	3.0	17	12.0	1.3	2.2

a) ゲル浸透クロマトグラフィーを用い解析

b) ¹H-NMR解析より算出

していたのに対し、pH11.0では6日でほぼ完全に分解した。PIOPの加水分解はpH環境に大きく影響を受けることが分かった。Penczeckらは、ポリホスフェートの加水分解とpHの関係について詳細に検討しており、PIOPの加水分解とpHの関係は彼等の見解に一致していた。また、彼等は塩基性条件下では側鎖と主鎖の分解がほぼ同時に、酸性条件では主鎖より側鎖の方が早く分解することも明らかにしている [30]。

続いて所定濃度のPIOPとMPC、および重合開始剤である2,2'-アゾビスイソブチロニトリルをエタノールに溶解し、溶液を十分脱気した後、ポリエチレン製の型の中で重合することによりPIOPで架橋した無色透明のPMPCゲル(PCPG)を得た。図-4にPCPGの写真を示す。このゲルは水中で膨潤し、PIOPの仕込み濃度により膨潤度が変化した(表-3)。PCPG中に含まれた水の構造を示す差走査熱量計(DSC)により解析し、自由水と束縛水の割合を求めた。MPCとPIOPによるヒドロゲル(PCPG)に含まれる自由水含率は高く、平衡膨潤時にPCPGに含まれた水の77%が自由水であったのに対し、MPCの代わりにポリエチレングリコール鎖を有するメタクリレートを用い調製したゲル(PEPG)に含まれる自由水の割合は56%であった。すなわちPCPGは含水した水の構造からも生体との相互作用を惹起し難いこと理解できる。PCPGおよびPEPGに所定時間接触させたトリプシンの活性を図-5に示す。トリプシンは自己消化により、水溶液の状態を経時的にその活性が低下する。PCPGに接触したトリプシンの活性は緩衝液に溶解したトリプシンと同様な活性を維持していることがわかった。一方、PEPGに接触したトリプシンの活性は有意に低下した。PCPGはトリプシンの活性に全く影響を与えず、生体分子に対し不活性なゲルであることが明らかとなった。

図-6にPCPGゲルの加水分解特性を示す。pH4.0およびpH7.4では分解速度が極めて小さく、40日後でも重量が初期値の80%以上であるのに対し、pH11.0では40日間でPCPGは消失した。すなわち塩基性環境下でPCPGの加水分解は著しく、架橋剤であるPIOPの分解性と一致していた。分解生成物の化学構造を¹H-NMR、分子量をGPCで確認すると、pH4.0およびpH7.4で分解した物質には、主に低分子量のリン酸系化合物が確認されたのに対し、pH11.0の分解生成物には、リン酸化合物に加え、分子量10万程度のMPCのホモポリマーが存在することを確認した。

分解生成物の毒性をハムスター繊維芽細胞(v79細胞)のコロニー形成能に与える影響により調べた。PIOPの分解生成物およびMPCホモポリマーがv79細胞のコロニー形成におよぼす結果を図-7に示す。コントロール試薬として用いた亜鉛化合物は細胞毒性を示し、濃度の増加に伴

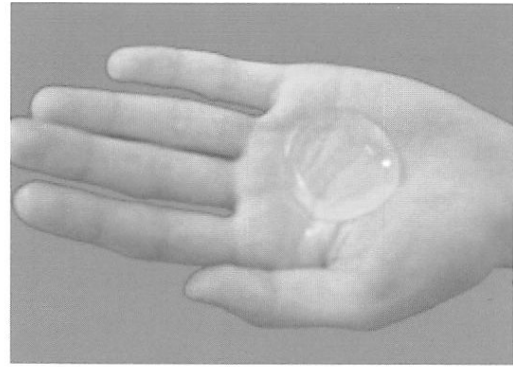


図-4 PIOPで架橋したPMPCゲル(PCPG)

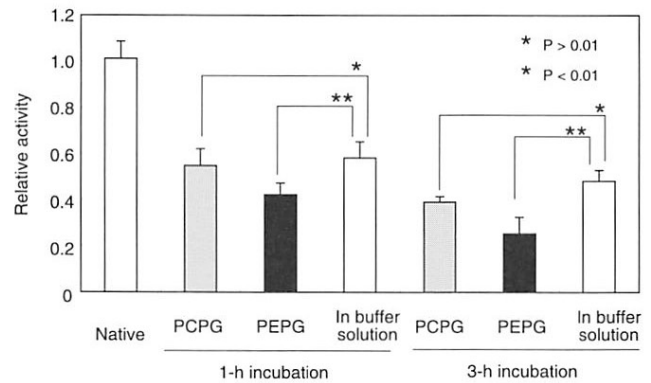


図-5 ポリマーゲルに所定時間接触したトリプシンの活性

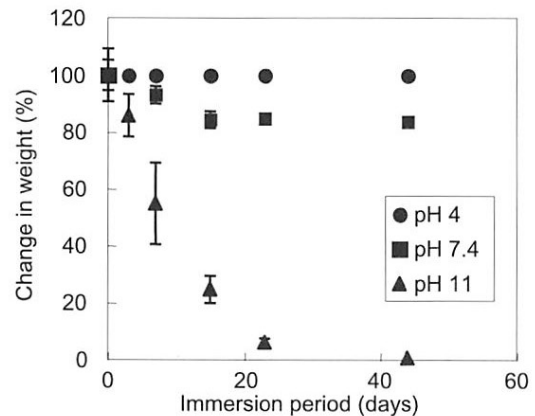


図-6 様々なpHにおけるPCPGの加水分解速度

表-3 ゲルの含水率

Abb.	モノマーの仕込み比 ^{a)} MPCとPIOP内のOPEMA ユニットとの割合 (mol%)	含水率 ^{b)} (wt%)	自由水含率 ^{c)}
PCPG 1.0	99.0/1.0	90.2	0.77 (0.02)
PCPG 0.2	99.8/0.2	92.8	—
PCPG 0.1	99.9/0.1	97.8	—
PEPG 1.0 ^{d)}	99.0/1.0	83.3	0.56 (0.03)

^{a)} [モノマー] = 1.0 mol/L, [AIBN] = 5 mmol/L

^{b)} 含水率 = (ゲルに含まれる水の重さ / 含水ゲルの重さ) × 100

^{c)} 示差走査熱量計により算出: 平均 (標準偏差)

^{d)} ジエチレンオキシド鎖を有するモノマーをMPCの代わりに使用

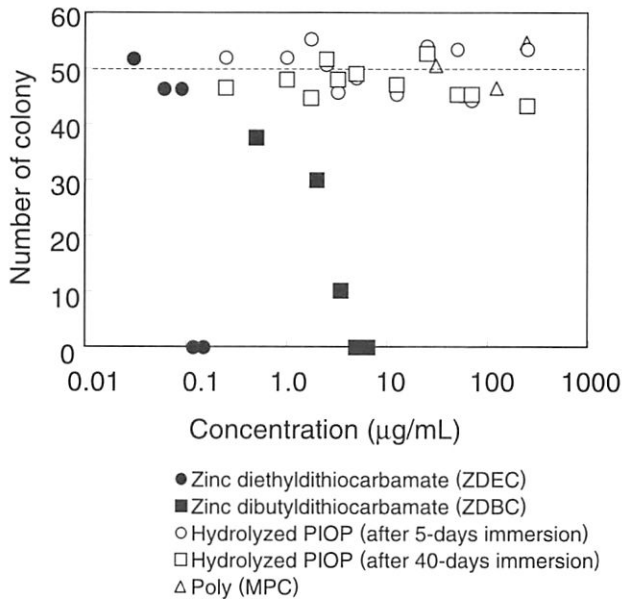


図-7 分解生成物の細胞毒性評価

い、コロニー形成は阻害された。一方、PIOPの分解生成物およびMPCホモポリマーが共存してもコロニー形成に全く影響なかった。

4. まとめ

本研究では、生体の構造に倣った分子設計手法に基づき、新しい生分解性ヒドロゲルを調製した。ヒドロゲルは生体と同様な高含水特性を有することから、生体に適したポリマー材料と考えられているが、生体適合性に優れ生体内環境に応じて分解する架橋材や、分子間相互作用を巧みに利用した架橋形態を利用することにより、より高度な生分解性ヒドロゲルを得ることができる。ポリホスフェートで架橋したMPCポリマーヒドロゲルは、分子設計により分解の制御が可能であり、生体適合性にも優れていることから、コスメトロジーへの利用はもちろんのこと、医療や薬学でも非常に有効なヒドロゲルとして期待できる。

貴財団にご支援頂きましたこの一年間、生体に優しい新たなポリマーの開発を遂行しすることが出来ました。謹んで感謝いたします。

(参考文献)

- 1) Qiu Y, Park K, :Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 53, 321-339, 2001.
- 2) Kikuchi A, Okano T, :Pulsatile drug release control using hydrogels, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54, 53-77 2002.
- 3) 浦上忠, 宮田隆志, :選択的分子認識インテリジェント高分子ゲルの開発, *バイオインダストリー*, 20, 23-35 2003.
- 4) Hennink WE, van Nostrum CF, :Novel crosslinking

methods to design hydrogels, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54, 13-36, 2002.

- 5) Yamamoto M, Ikada Y, Tabata Y, :Controlled release of growth factors based on biodegradation of gelatin hydrogel, *J. Biomater. Sci. Polym. Edn*, 12, 77-88, 2001.
- 6) Kimura T, :Biodegradable polymers, In :Tsuruta T, Hayashi T, Kataoka K, Ishihara K, Kimura Y (eds) :*Biomedical applications of polymeric materials*, p.163, CRC press, Boca Raton, FL,1993, 163-189.
- 7) Li SM, Garreau H, Vert M, :Structure-property relationships in the case of the degradation of massive poly(a-hydroxy acids) in aqueous media. part 1: poly(DL-lactic acid), *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 1, 123-130 1990.
- 8) P. Gacesa et al., :Alginates, *Carbohydr. Polym.*, 8, 161-182, 1988.
- 9) Park K, Shalaby W, Park H (eds), :*Biodegradable Hydrogels for Drug Delivery*, Technomic, Lancaster,1993.
- 10) Jeong B, Kim SW, Bae YH, :Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54, 37-51, 2002.
- 11) Kissel T, Li Y, Unger F, :ABA-triblock copolymers from biodegradable polyester A-blocks and hydrophilic poly(ethylene oxide) B-blocks as a candidate for in situ forming hydrogel delivery systems for proteins, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54, 99-134, 2002.
- 12) Alexandridis P, Hatton TA, :Poly(ethylene oxide)-block-poly(propylene oxide)-block-poly(ethylene oxide) copolymer surfactants in aqueous solutions and at interfaces: thermodynamics, structure, dynamics, and modelling *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 96, 1-46, 1995.
- 13) Jeong B, Bae YH, Lee DS, Kim SW, :Biodegradable block copolymers as injectable drug-delivery systems, *Nature*, 388, 860-862, 1997.
- 14) Jeong B, Choi YK, Bae YH, Zentner G et al., :New biodegradable polymers for injectable drug delivery systems, *J. Controlled Release*, 62, 109-114, 1999.
- 15) Lee JW, Hua F, Lee DS, :Thermoreversible gelation of biodegradable poly(epsilon-caprolactone) and poly(ethylene glycol) multiblock copolymers in aqueous solutions *J. Controlled Release*, 73, 315-327, 2001.
- 16) Jeong B, Wang LQ, Gutowska A, :Biodegradable thermoreversible gelling PLGA-g-PEG copolymers, *Chem. Commun.*, 16, 1516-1517, 2001.
- 17) Jeong B, Kibbey MR, Birnbaum JC, Won YY et

- al., :Thermogelling biodegradable polymers with hydrophilic backbones: PEG-g-PLGA, *Macromolecules* 33, 8317-8322, 2000.
- 18) Willem M. Stevels MW, Ankone MJK, Dijkstra PJ, Feij_n J, :Stereocomplex formation in ABA triblock copolymers of poly(lactide) (A) and poly(ethylene glycol) (B), *Macromol. Chem. Phys.*, 11, 3687-3694, 1995.
- 19) de Jong SJ, De Smedt SC, Wahls MWC, Hennink WE et al., :Novel self-assembled hydrogels by stereocomplex formation in aqueous solution of enantiomeric lactic acid oligomers grafted to dextran, *Macromolecules*, 33, 3680, 2000.
- 20) Ishihara K, Nomura H, Mihara T, Kurita K et al., :Why do phospholipid polymers reduce protein adsorption?, *J. Biomed. Mater. Res.*, 39, 323-330, 1998.
- 21) Iwasaki Y, Nakabayashi N, Ishihara K, :Preservation of platelet function on 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine-graft polymer as compared to various water-soluble graft polymers, *J. Biomed. Mater. Res.*, 57, 72-78, 2001.
- 22) Iwasaki Y, Sawada S, Ishihara K, Khang G et al., :Reduction of surface-induced inflammatory reaction on PLGA/MPC polymer blend, *Biomaterials*, 23, 3897-3903, 2002.
- 23) Tsuruta T, :Contemporary topics in polymeric materials for biomedical applications, *Adv. Polym. Sci.*, 126, 1-51, 1996.
- 24) Nam KW, Watanabe J, Ishihara K, :Characterization of the spontaneously forming hydrogels composed of water-soluble phospholipid polymers, *Biomacromolecules*, 3, 100-105, 2002.
- 25) Iwasaki Y, Komatsu S, Narita T, Akiyoshi K et al., :Biodegradable phosphorylcholine polymer hydrogels cross-linked with vinyl-functionalized polyphosphate, *Macromol. Biosci.*, 3, 238-242, 2003.
- 26) Wang S, Wan AC, Xu X, Gao S et al., :A new nerve guide conduit material composed of a biodegradable poly(phosphoester), *Biomaterials*, 22, 1157-1169, 2001.
- 27) Zhao Z, Wang J, Mao HQ et al., Polyphosphoesters in drug and gene delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 55, 483-499, 2003.
- 28) Wang DA, Williams CG, Li Q, Sharma B et al., : Synthesis and characterization of a novel degradable phosphate-containing hydrogel, *Biomaterials*, 24, 3969-3980, 2003.
- 29) Ishihara K, Ueda T, Nakabayashi N, :Preparation of phospholipids polymers and their properties as polymer hydrogel membrane, *Polym. J.*, 22, 355-360, 1990.
- 30) Baran J, Pencze S, :Hydrolysis of Polyesters of Phosphoric Acid. I. Kinetics and the pH Profile, *Macromolecules*, 28, 5167-5176, 1995.