

厚生科学研究費補助金（医薬安全研究事業）
総括研究報告書

医療用具・医療材料の有効性・安全性・品質評価に関する研究

主任研究者 土屋 利江 国立医薬品食品衛生研究所療品部第三室長

研究要旨 医療用具・医療材料の有効性・安全性・品質評価に関して、多面的な研究が必要である。緊急性の特に高いサブテーマを三つ取り上げ研究を行った。

（第一サブテーマ）ソフトセグメントが水素添加ポリブタジエン基からなり、ハードセグメントの分率が異なるセグメント化ポリウレタン2種および4級アミノ基で鎖延長したカチオン性のセグメント化ポリウレタン1種は、V79 代謝協同連絡阻害活性がない事を明らかにした。プロパンスルホン酸置換率が9, 19 および47%の硫酸化ポリウレタンの合成に成功した。

（第二サブテーマ）ヒトおよび動物の組織・細胞を利用した医療技術全般に共通する原則とその有効性、安全性、品質保持のための課題を整理し、提言を行った。

（第三サブテーマ）ラテックス製医療用具の使用により惹起される発熱の要因とメカニズムの解明を行い、ラテックス製品により惹起される発熱は、汚染したエンドトキシンに由来することを明らかにした。

分担研究者 土屋 利江 国立医薬品食品衛生研究所 療品部第三室 室長
中村 晃忠 国立医薬品食品衛生研究所 療品部 部長
配島 由二 国立医薬品食品衛生研究所 療品部第一室 室長

A. 研究目的

第1の目的は、ポリウレタンのソフトセグメントを耐生分解性のアルキレン基を使用したもの、およびカチオン性基で置換したポリウレタン材料を調製し、発癌性に関する *in vitro* 評価を行い、新しいタイプの低発癌性で生体適合性の良いポリウレタン材料の候補を見出す事である。（第一章）

第2の目的は、これまでの研究から、発癌プロモーター活性がないと期待される硫酸化ポリウレタンの発癌性を動物実験で検証するために、硫酸化の置換率の異なるポリウレタンの合成法を検討することである。（第一章）

第3の目的は、ヒトおよび動物の組織・細胞を利用した医療技術全般に共通する原則とその有効性、安全性、品質保持のための課題を整理し、提言を行うことである。（第二章）

第4の目的は、近年急速に進展してきた組織工学を利用した医療技術の発展に寄与することを目的とし、各種天然医用材料の生体影響、特に、発熱を惹起する要因とそのメカニズムの解明を試みることである。平成10年度は、ラテックス製医療用具により惹起される発熱と代表的な発熱性物質であるエンドトキシンとの相関性について、化学的・生物学的方法により検討することである。（第三章）

B. 研究方法

第1の方法は、ポリエーテル型ポリウレタンであるペレセン、ポリアルキレン型ポリウレタン2種、およびカチオン性ポリエーテル型ポリウレタンについて、V79代謝協同阻害試験を用いて、ギャップ結合細胞間連絡阻害活性すなわち発癌プロモーター活性の有無について試験した。

第2の方法は、ポリエーテル型ポリウレタンのウレタン結合のプロトンにプロパンスルホン基を置換する方法で、置換率の異なる硫酸化ポリウレタンを合成する方法を用いた。

第3の方法は、WG1、WG2、WG3の3つのワーキンググループをつくり、課題についてまとめる方法を採用した。WG1:ヒト組織の採取、管理、利用の原則と Good Tissue Practice (GTP) について、WG2:人工皮膚ガイドラインについて、WG3:異種動物組織利用原則についてである。3月、4月に全体会議を開きまとめを行う。当班ホームページ (<http://hayato.med.osaka-u.ac.jp/index/societies-j/tissue.html>) に議事録を適宜掲載して情報の流通をはかる。

第4の方法は、ラテックス製手術用手袋およびカテーテルについて、ウサギによる発熱性試験、化学分析(脂肪酸分析、2-ケト-3-デオキシオクタン酸分析) エンドトキシン、 β -グルカンおよびペプチドグルカンの定量、炎症性サイトカイン産生誘導活性を測定し、発熱と化学分析、生物活性との関係を明らかにした。また、エンドトキシンインヒビターおよび炎症性サイトカイン産生阻害剤を用いて、その抑制効果を確認した。

C. 研究結果

第1の結果は、ポリエーテル型ポリウレタンは、ギャップ結合細胞間連絡阻害活性陽性を示し、ポリアルキレン型ポリウレタンは、疑陽性であった。カチオン性ポリエーテル型ポリウレタンは、陰性であった。細胞毒性は、ポリエーテル型ポリウレタンが最も弱く、ポリアルキレン型ポリウレタンおよびカチオン性ポリウレタンは強い細胞毒性があることを明らかにした。

第2の結果は、ポリエーテル型ポリウレタンのウレタン結合部位のNに、47%、19%および9%の置換率でプロパンスルホン酸基を置換する事ができた。

第3の結果は、WG1では、ヒト組織細胞利用に関する規制枠組みとその原則についてまとめた。WG2では、基本要件を踏まえて、人工皮膚に関する個別ガイドラインを検討した。現在は、項目出しを終了した段階で、詳細は今後の検討に委ねることとした。

WG3では、異種動物由来細胞組織または臓器を利用した医療用具の安全性確保のガイドラインを検討した。今後、移植学会異種移植WGと早川班から提出されるガイドラインとの整合性をとりつつ、本ガイドライン案の改良を進めていく必要がある。

第4の結果は、エンドトキシンに普遍的に存在する成分である2-ケト-3-デオキシオクタン酸と3-ヒドロキシ脂肪酸が、ラテックス手袋およびカテーテル試料中に存在する事をGC-MSで確認した。ラテックス製品抽出液は、ウサギでの発熱性物質試験陽性であり、2.34ng/mlから72.7ng/mlのエンドトキシンに相当する発熱性物質が含まれている事が明らかになった。

発熱陽性のラテックス製品抽出液では、炎症性サイトカインであるIL-1、IL-6およびTNFのマクロファージからの産生が誘導された。また、同抽出液をエンドトキシン吸着

除去カラムで処理すると、サイトカイン産生誘導活性および発熱活性が消失する事も確認した。

D. 考察

第1の考察は、ポリエーテル型ポリウレタンは、エーテル結合を含むポリオール部分で酸化による分子鎖の切断による生体内劣化がおきる。エーテル結合を含まないポリウレタン2種は、細胞間連絡阻害活性は、擬陽性であり、ポリエーテル型ポリウレタンに比べ、発癌プロモーター活性は低いと考えられる。4級窒素陽イオン基が架橋剤として使用されたカチオン化ポリエーテルポリウレタンでは、細胞間連絡阻害活性が陰性であった。細胞の形態から判断すると、培地に含まれる血清由来の細胞接着性蛋白が、カチオン性ポリマー上に効率良く吸着し、その結果、細胞間連絡機能が抑制されなかった可能性が考えられる。しかし、カチオン性ポリマー濃度をあげると細胞毒性が現れる事から、強い陽荷電は、陰性に荷電した細胞膜との強い相互作用の結果、細胞膜の破壊等による細胞毒性がでてくるものと考えられる。従って、適度に調製されたカチオン化ポリウレタンは細胞間連絡機能の維持には、効果があることが明らかになった。

ポリアルキレン型ポリウレタンは耐久性の高いポリウレタンとしての使用、例えば、リード線の被覆材料として使用できる可能性がある。カチオン化ポリウレタンは、薄いコーティング材料として使用する方法もあるが、生体内での劣化に関しては、エーテル結合型であることから、長期の耐久性は望めない。

第2の考察は、ポリウレタンのウレタン結合の水素部位に、予測した置換率でプロパンスルホン酸を導入することができた。ポリウレタンはポリエーテル型であるが、ウレタン結合に隣接したメチレン基が最も酸化されやすいと考えられているが、陰イオン性の置換基をウレタン結合部位に導入することにより、そのような酸化分解も抑制されると考えられる。また、ポリウレタンの硫酸化率と血小板の粘着量とは、逆相関し、硫酸化率が高い程、抗血栓性も優れていることが報告されている。合成した硫酸化ポリウレタンでの低発癌性を動物実験で検証できれば、生体適合性に優れたポリウレタンの開発および市場化を促進すると考えられる。

第3の考察は、先端的分野の専門家および細胞バンク事業関係者、倫理問題に関心を持ち続けてきた専門家、感染症に関する専門家などによる熱心な討議の結果、一定の枠組み(案)を提出することができた。

第4の考察は、ラテックス製品中に存在する発熱性物質がエンドトキシンである事を明確に示した。発熱陽性のラテックス製手袋の場合、マクロファージに対する IL-6 産生誘導活性は各種エンドトキシンインヒビターにより、完全には抑制されなかったので、インヒビターの効果が手袋中に混在する物質により抑制された可能性とエンドトキシン以外の発熱性物質も存在している可能性がある。また、ラテックス製手袋に含まれるエンドトキシンが、直接、接触皮膚炎を惹起するという報告、ラテックスアレルギーによる即時型アレルギーおよび化学物質による遅延型アレルギー反応の増強に関与している事を示唆する報告もあり、医療用具の発熱性物質汚染による不具合は、発熱のみならず、ラテックスアレルギーの発症や、症状の進展などに関与していることが考えられた。

E. 結論

典型的なポリウレタンであるポリエーテル型ポリウレタンのソフトセグメントや架橋剤をポリアルキレンや、陽イオンで置換することにより、細胞間連絡阻害活性が消失することが明らかになった。しかし、これらの新置換材料は、原材料に比べ細胞毒性は強くなることを明らかにした。

低発癌性と抗血栓性が優れていると期待される硫酸化ポリウレタンについて、合成法を検討した結果、種々の置換率でプロパンスルホン酸基をウレタン結合窒素に導入する事に成功した。

ヒトおよび動物の組織・細胞を利用した医療技術全般に共通する原則とその有効性、安全性、品質保持のための課題を整理し、提案を行った。

天然由来医用材料の安全性を調査する第1アプローチとして、ラテックス製医療用具の使用により惹起される発熱の要因とメカニズムの解明をおこない、製品により惹起される発熱は、汚染したエンドトキシンに由来することを明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

土屋利江(1998)高分子材料の *in vitro* 発癌プロモーター活性 高分子論文集 55
314-322

T.Tsuchiya and A.Nakamura (1999) Effect of material difference on inhibition of gap-junctional intercellular communication (GJIC) as an index of tumor promotion. IARC monograph on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol.74 Foreign bodies, surgical implants and prosthetic devices. 82M-91M Draft.

2. 学会発表

T.Tsuchiya, Md.Abu Sayed and A.Nakamura (1999) Role of connexins in tumors induced by biomaterials. International Symposium "Cell adhesion and Communication in growth control and cancer". IARC, Lyon, France 19-21, January.

第一章

材料の長期埋植による異物発癌 の評価に関する研究

国立医薬品食品衛生研究所 療品部

土屋利江

1. はじめに

ポリウレタンはジイソシアナートとジオールの重付加反応から合成される。セグメント化ポリウレタンはポリオールとジイソシアナートからなるソフトセグメントブロック、および、ジイソシアナートとジオールからなるハードセグメントブロックの繰り返しから構成される。両ブロックは非相溶なマイクロ相分離構造を示すため、優れた抗血栓性と力学的特性を示すと考えられている。

また、ハードセグメントはウレタン基の水素結合により凝集し、その分率が 50%以下の場合力学的強度を高めていると考えられている。ソフトセグメントは通常、室温ではゴム状態であり、従って、ハードセグメントの分率あるいは、ポリオールの分子量により、コンプライアンスや弾性率を変化させ、必要とされる生体内力学特性と対応させる事ができる。

そこで、本年度は、ポリウレタンのハードおよびソフトセグメント部分の構造を変化させた材料を調製し、発癌性に関する *in vitro* 評価を行なった。

次に、これまでの研究からギャップ結合細胞間連絡阻害作用のない、即ち、発癌プロモーター活性がないと期待されている硫酸化ポリウレタンの発癌性を動物実験で検証するために、硫酸化の置換率の異なるポリウレタンの合成法を検討した。

2. 研究方法

(1)材料

Pellethane [PTMO/MDI/BD: 50% hard segment], HPBD-PU(47) [hydroxyterminated hydrogenated polybutadiene polyurethane: 47% hard segment], HPBD-PU(32) [hydroxyterminated hydrogenated polybutadiene polyurethane: 32% hard segment], Aminated polyurethane cationomer [quaternization of 3-diethylamino-1,2-propanediol extended polyurethane: 50% hard segment] を入手し、使用した。

(2)V79 代謝協同阻害試験法 :

Yotti らが、約 20 年前にこの方法を発表し、化学物質について試験している。彼らの方法では、多くの培地と材料が必要なので、我々は、12 穴のプレートおよび 22mm のシャーレを用いて試験できる方法に改変した。本試験系は、細胞毒性と、代謝協同に及ぼす影響、すなわち細胞間連絡阻害活性の 2 種の試験を行って判定する。細胞毒性の影響がない条件下でのみ、細胞間の連絡機能の有無を判定できるからである。V79 代謝協同阻害試験は、V79 細胞 (野生株) 80000 個と TG1 細胞 (変異株) 100 個の細胞をプレート内に 5 時間程度接着させ、6-thioguanine(6-TG) 10 μ g/ml の濃度下、37℃炭酸ガス培養器で 7 日間培養する。この培養過程で、野生株は 6-TG を代謝して細胞毒性のある化合物に変換し、自分自身の細胞死を招くが、接触し、細胞間連絡をしている変異株にも毒性物質をギャップ結合を介して渡すため、渡された細胞も死ぬ運命となる。しかし、ここで、ギャップ結合が阻害され、変異株に毒性物質が到達しなかったとき、変異株自身には、6-TG を毒性物質に変換する酵素が欠損しているため、そのまま生き続け、コロニーとなる。

従って、変異株のコロニーが増加すればするほど、細胞間連絡機能の阻害作用は強いことになる。本法の培養期間は 7 日間である。培養終了後、コロニーを染色し、カウント後、

統計処理を行う。コントロール群に比べて有意に変異株が増加した場合を代謝協同阻害活性陽性と判定している。

(3)分析

FT-IR 分析：原料ポリウレタンおよび合成した硫酸化ポリウレタン材料の表面解析は、顕微透過法により FT-IR を測定した。機種は、日本電子製 JIR-5500 を使用し、分解能 4cm^{-1} 、積算回数 100～200 回で測定した。

ESCA 測定：原料ポリウレタンおよび合成した硫酸化ポリウレタン材料表面の ESCA 測定は、ヤナコ製 CHN MT-5 型および平沼製 XS COMTIT-7 型を使用した。

3. 研究結果

PU の構造と細胞間連絡機能および細胞毒性強度結果

Pellethane を 0.5、1 および 2mg を各々直径 22mm のガラスシャーレにコートし、コート材料表面で、V79 代謝協同阻害試験を行った (図 1)。その結果、試験した 0.5mg/dish から有意に高い変異株(TG1)細胞のコロニー数が増加した。従って、コート量 0.5mg/dish 以上でギャップ結合細胞間連絡阻害作用があることが判明した。

次に、ソフトセグメントがポリオールでなく、ポリアルキレン型のソフトセグメントで置換した PU[HPBD-PU(47)]について同様にコートし、V79 代謝協同阻害試験を行った。図 2 は、代謝協同阻害試験を行った時のシャーレ内のコロニーの様子である。コントロールであるガラスシャーレ単独に比べ、PU (pellethane) および HPBD-PU はコロニー数が増加していた。HPBD-PU を 0.1、0.2 および 0.4mg/dish コートした結果を図 3 に示した。コート量が 0.4mg で有意な代謝協同阻害活性を認めた。しかし、これ以上、コート量を増加させると、細胞毒性も強くなるため、本法では試験できなかった。

図 4 は、HPBD-PU でハードセグメントの分率が 32 % の材料での細胞毒性試験を行った時のコロニーの形態を示した。HPBD-PU(32)が 0.0125、0.025 および 0.05mg/dish と増加するにつれ、細胞が凝集しやすくなった。この材料上で V79 代謝協同阻害試験を行った結果が図 5 である。TG1 単独での細胞毒性試験では、いずれも 100 % 以上のコロニー形成率を示した。また、代謝協同もコート量が 2 段階以上で有意な阻害活性を示さなかったため、本材料の細胞間連絡阻害活性は擬陽性と判定した (図 5)。

図 6 は、カチオン化 PU を 0.025、0.05 および 0.1mg/dish コートした材料上で細胞毒性試験を行った時のコロニーの形態である。いずれも比較的控制と同様なコロニー形態を示していた。図 7 はカチオン化 PU 材料上で V79 代謝協同阻害試験を行った結果である。TG1 単独による細胞毒性試験では、試験したいずれのコート量でも 100 % 以上のコロニー形成率を示した。また、代謝協同阻害活性も全く検出されなかった。

図 8 (a) は 0.1mg/dish コートした時の 3 種の PU の細胞毒性試験でのコロニーの形態を示した。HPBD-PU では、ハードセグメントの分率の低い材料が、高い材料に比べ細胞が材料に接着しにくい形状を示した。カチオン化 PU は、個々の細胞の形状が丸く、材料に細胞が接着し易い事が考えられた。カチオン化 PU では同じコート量でもプレート内の個々のコロニーにより形状が異なった (図 6, 8(a))。

図 8 (b) は、pellethane および HPBD-PU(47) の細胞毒性試験で生育したコロニーの形態

である。コート量が増加したとき、HPBD-PU(32)に比べ細胞毒性強度が弱い HPBD-PU(47)でも、細胞毒性を示唆するコロニーの形状を示し、その程度は、pellethane よりも強かった。従って、pellethane 以外の材料では、試験したコート量では、ギャップ結合細胞間連絡阻害活性が擬陽性か陰性の材料であったが、pellethane に比べいずれも細胞毒性が強い事が判明した。

硫酸化ポリウレタンの合成

窒素含量が 3.5%の PU について、ウレタン結合のプロトンプロパンスルホンで置換するために、NaH でウレタン結合のプロトンを目的の硫酸化置換率と同じ Na 置換率になるように、NaH を添加し、それに対応するプロパンスルホン量を加え反応させ、Na 部位をプロパンスルホンで置換することとした。

すなわち、PU を DMF に溶解後、0 °C に冷却し、所定量の NaH を加えた。次に、50 °C に加温し、プロパンスルホンを所定量加えて反応させた。室温でアセトン中に滴下し、ポリマーを沈殿させ、数回洗浄した。減圧乾燥し、硫酸化 PU を得た。

合成された物質について FT-IR (図 9) および元素分析 (表 1) を行った。ウレタン結合の水素に由来する 3300cm^{-1} が、原料 PU に比べてプロパンスルホンの仕込量の多い Lot1 および Lot2 では吸収が減少していた (図 9)。従って、ウレタン結合の水素部位にプロパンスルホン酸が導入できた。元素分析において S はすべてプロパンスルホン酸基に由来する。N はすべてポリウレタンのウレタン結合部位に由来する。モル比から、N の置換率を求めた結果、Lot1 は 47%、Lot2 は 19%、Lot3 は 9% 置換している材料であることが判明した。

4. 考察

PU の構造と細胞間連絡機能および細胞毒性強度

pellethane は、以前我々が報告したポリウレタン (PTMO/MDI/BD) と同様の構造から、ギャップ結合細胞間連絡阻害作用を示す事が予測されたが、やはり試験に使用した最低コート量 0.5g から有意な阻害作用を認めた。以前、我々が試験した 3 種の PU の中で最も発癌率も高く、ギャップ結合細胞間連絡を阻害した PU4 の場合、0.5mg では阻害活性を示さず、0.8mg が最小有効コート量であった。従って、pellethane も PU4 と同等以上の発癌プロモーター活性があることが示唆された。pellethane は、製品として使用されており、現在は製造メーカーの事情で、供給がストップしているため、異なるタイプのポリウレタンの使用が検討されている。より安全性の高いポリウレタンを選別するためには、ギャップ結合細胞間連絡機能を一つの指標として、生体適合性評価系に加える事が望ましいと考える。

pellethane は、ポリエーテル型ポリウレタンであることから、エーテル結合を含むポリオール部分で酸化による分子鎖の切断による生体内劣化がおきる。そこで、エーテル結合を含まないポリオールを用いた PU 2 種について細胞間連絡機能に及ぼす影響を調べた。即ち、水素添加ポリブタジエンをソフトセグメントとして含む PU で、ハードセグメントの分率が 47% および 32% の材料について V79 代謝協同阻害試験を行った結果、いずれも擬陽性であった。従って、細胞毒性を示さないコート量では、細胞間連絡機能を阻害しないことが明らかになった。しかし、これらの材料はいずれも pellethane に比べて、細胞毒

性が強く、また、ソフトセグメントの分率が高い HPBD-PU(32)の方が HPBD-PU(47)に比べて強い細胞毒性を示す事が明らかになった。

HPBD-PU は、細胞毒性が pellethane に比べて強いが、エーテル結合が無いいため、酸化劣化がおきにくいいため、ペースメーカーのリード線被覆剤として pellethane よりも耐久性の優れた PU として使用可能である。また、ハードセグメントの分率の高い HPBD-PU(47)の方が、細胞毒性も弱く、HPBD-PU(32)に比べ、生体適合性が優れているものと推察される。ソフトセグメントがポリエチレンと 1,2 ポリブタジエンが水素添加されたポリマーの 2 種のアルキレン基とからなる HPBD(2100)-PU について、V79 代謝協同阻害試験を行い、その結果、阻害作用が検出されなかった事を報告している。今回の結果もソフトセグメント基のポリエーテル基が無く、1,2 ポリブタジエンが水素添加されたホモポリマー基からなるポリアルキレン型 PU でも阻害活性が無いことが明らかになった。これらの PU では材料上に細胞を播種して培養しても、エーテル基がないため、酸化しにくく、細胞による生分解が起こりにくいいためと考えられる。従って、細胞間連絡阻害活性を示す可能性のある PU の低分子量オリゴマーが生成しないため、結果として、阻害活性が検出されなかったと考えられる。

今年度の研究では、4 級窒素陽イオン基が架橋剤として使用されたカチオン化 PU について、細胞間連絡機能に与える影響を調べた。その結果、コート量 0.1mg までは、阻害活性が検出されなかった。しかし、コート量 0.2mg では強い細胞毒性が認められ、陰イオン性の細胞膜との電氣的相互作用が強いことが示唆された。

硫酸化ポリウレタンの合成

PU のウレタン結合の水素部位に予測した置換率でプロパンスルホン酸を導入できた。現在、合成した硫酸化ポリウレタンの *in vitro* 試験での確認と、動物実験に使用するためのフィルムの作製を行っている。

5. 結論

ポリエーテル型 PU である pellethane は、V79 代謝協同阻害作用を示した。ポリアルキレン型 PU(HPBD-PU)およびカチオン化 PU は、試験した条件下では、V79 代謝協同阻害作用を示さなかった。しかし、代謝協同阻害活性陰性であった HPBD-PU 2 種およびカチオン化 PU は、pellethane に比べいずれも細胞毒性が強いことが明らかになった。今後の課題として、代謝協同阻害作用がなく、かつ、細胞毒性も弱い材料の開発が望まれる。

硫酸化 PU は、代謝協同阻害作用がなく、かつ、細胞毒性も弱い材料であることを、発表している。*in vitro* での結果から、低発癌性材料であると期待される硫酸化 PU の発癌性を動物実験で確かめる事を計画した。そのために使用する、置換率の異なる硫酸化 PU の合成法を検討し、成功した。

6. 研究発表

1. 論文発表

- [1] 土屋利江(1998)高分子材料の *in vitro* 発癌プロモーション活性 高分子論文集 55, 314-322.

[2] T.Tsuchiya and A.Nakamura (1999) Effect of material difference on inhibition of gap-junctional intercellular communication (GJIC) as an index of tumor promotion. IARC monograph on the evaluation of carcinogenic risks to humans, vol. 74 Foreign bodies, surgical implants and prosthetic devices. 82M-91M Draft.

2. 学会発表

T.Tsuchiya, Md.Abu Sayed and A.Nakamura (1999) Role of connexins in tumors induced by biomaterials. International Symposium "Cell adhesion and communication in growth control and cancer". IARC, Lyon, France 19-21, January.

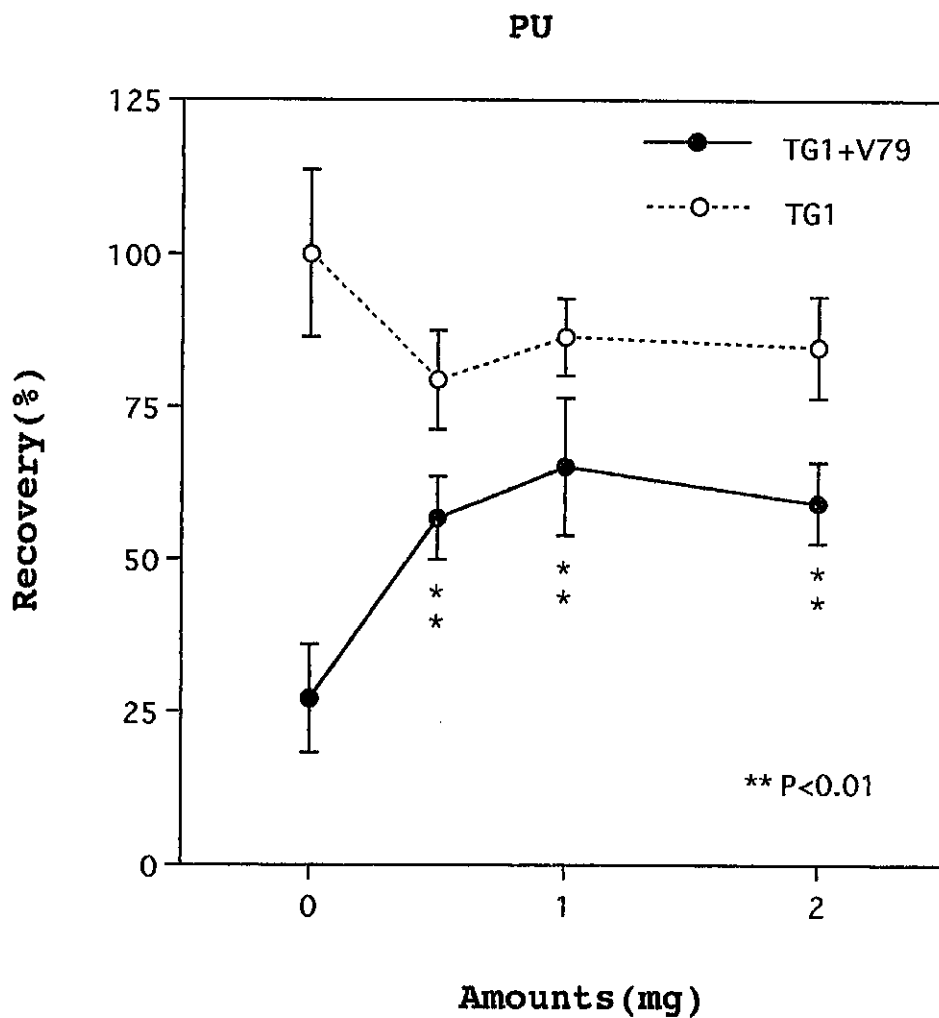


図 1. PU のコート量と V79 代謝協同阻害との関係

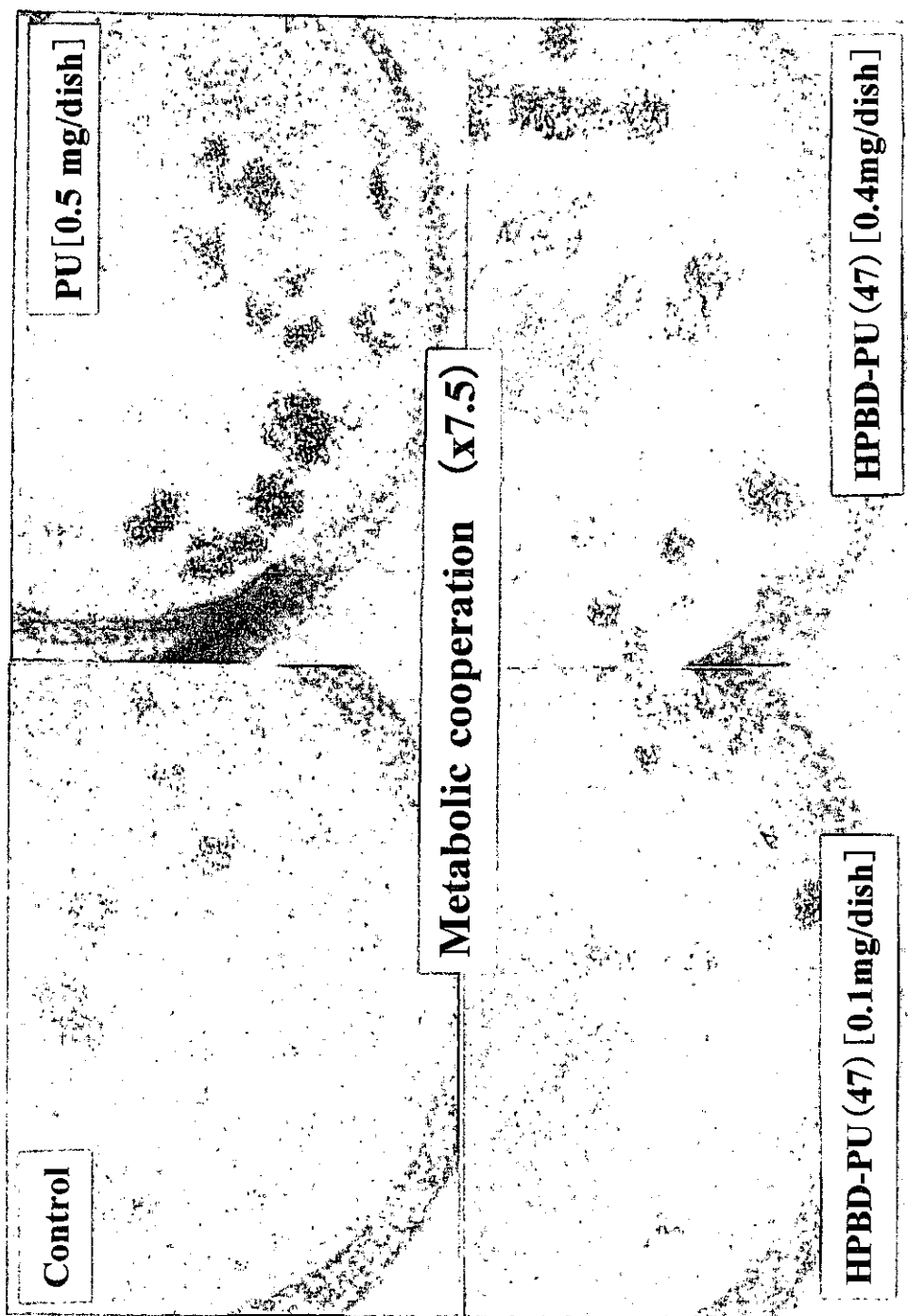


図2. PU および HPBD-PU (47) コート上で代謝協同阻害試験後
のコロニーのギムザ染色写真 (倍率 x7.5)

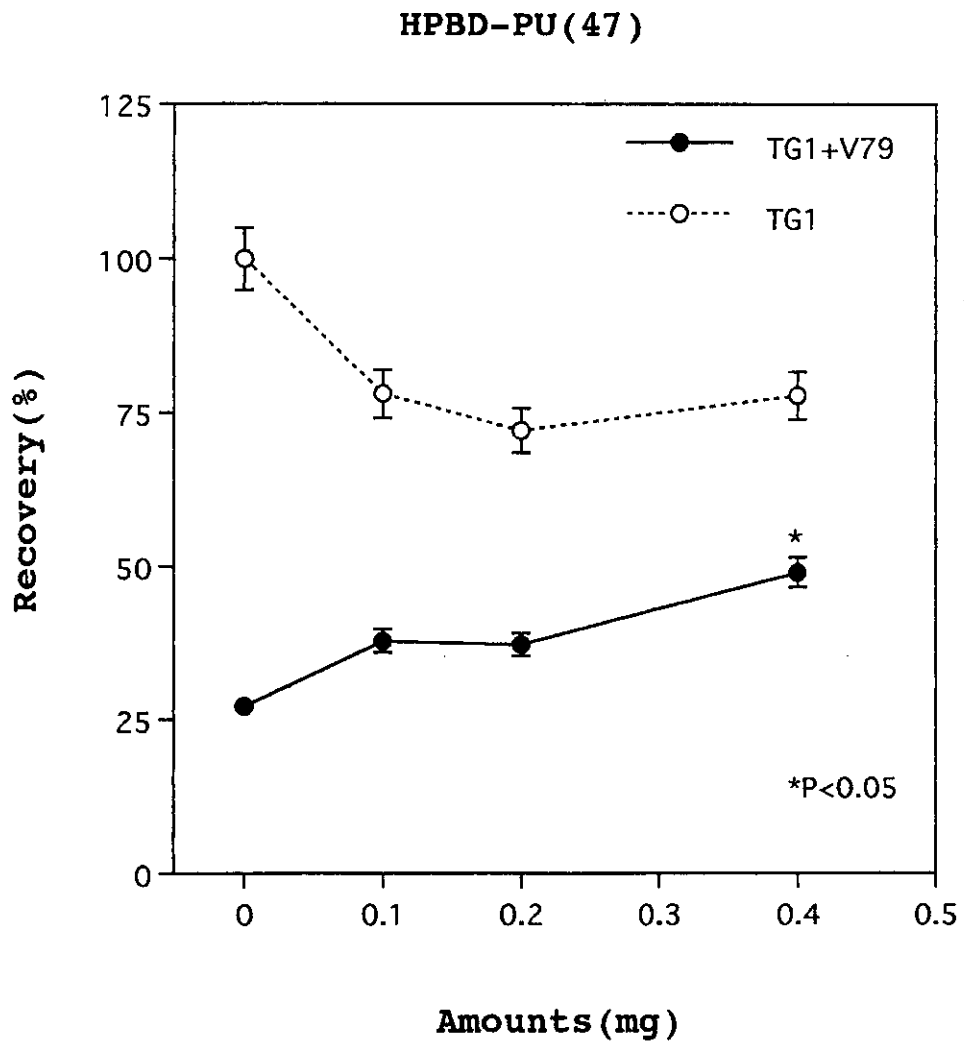


図 3. HPBD-PU (47) のコート量と V79 代謝協同阻害との関係

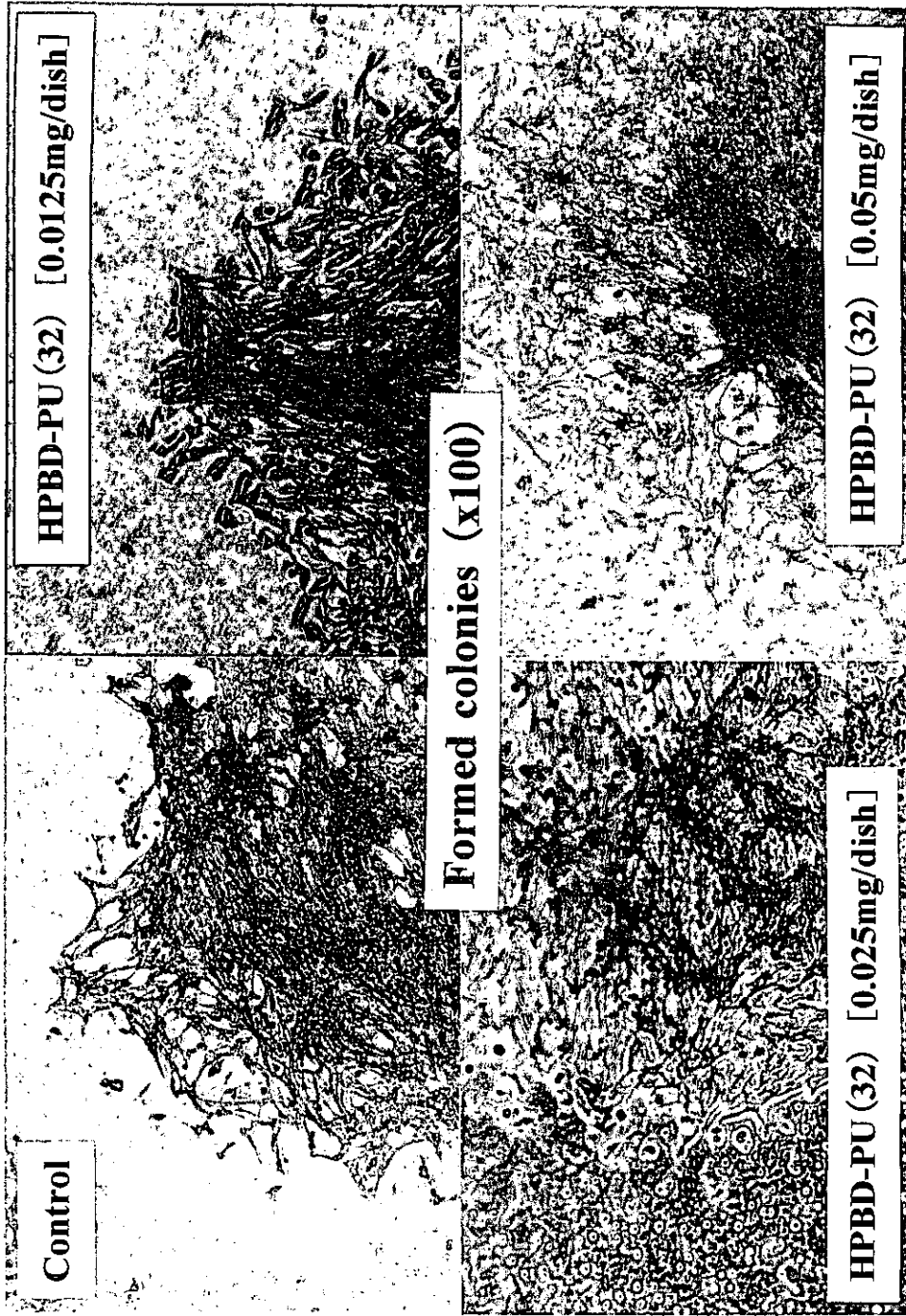


図4. HPBD-PU (32) コート上で細胞毒性試験後の
コロニーのギムザ染色写真 (倍率 x100)

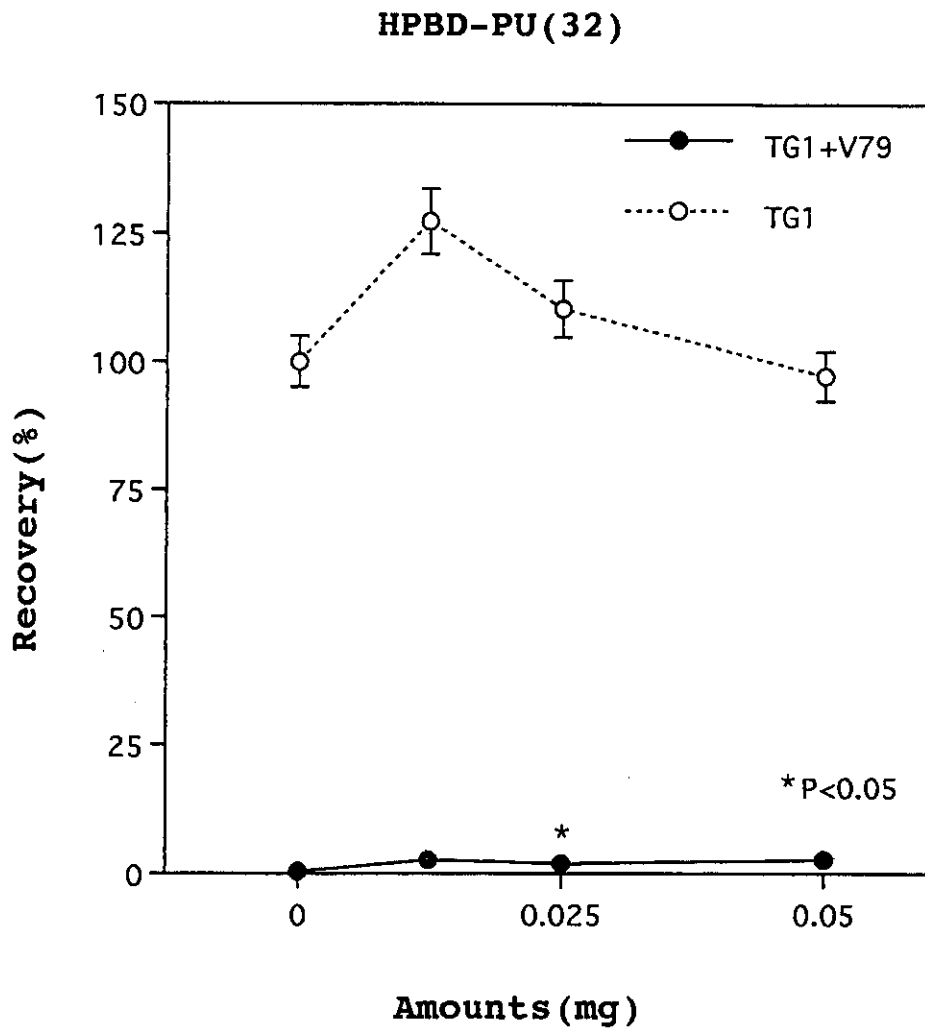


図 5. HPBD-PU (32) のコート量と V79 代謝協同阻害との関係

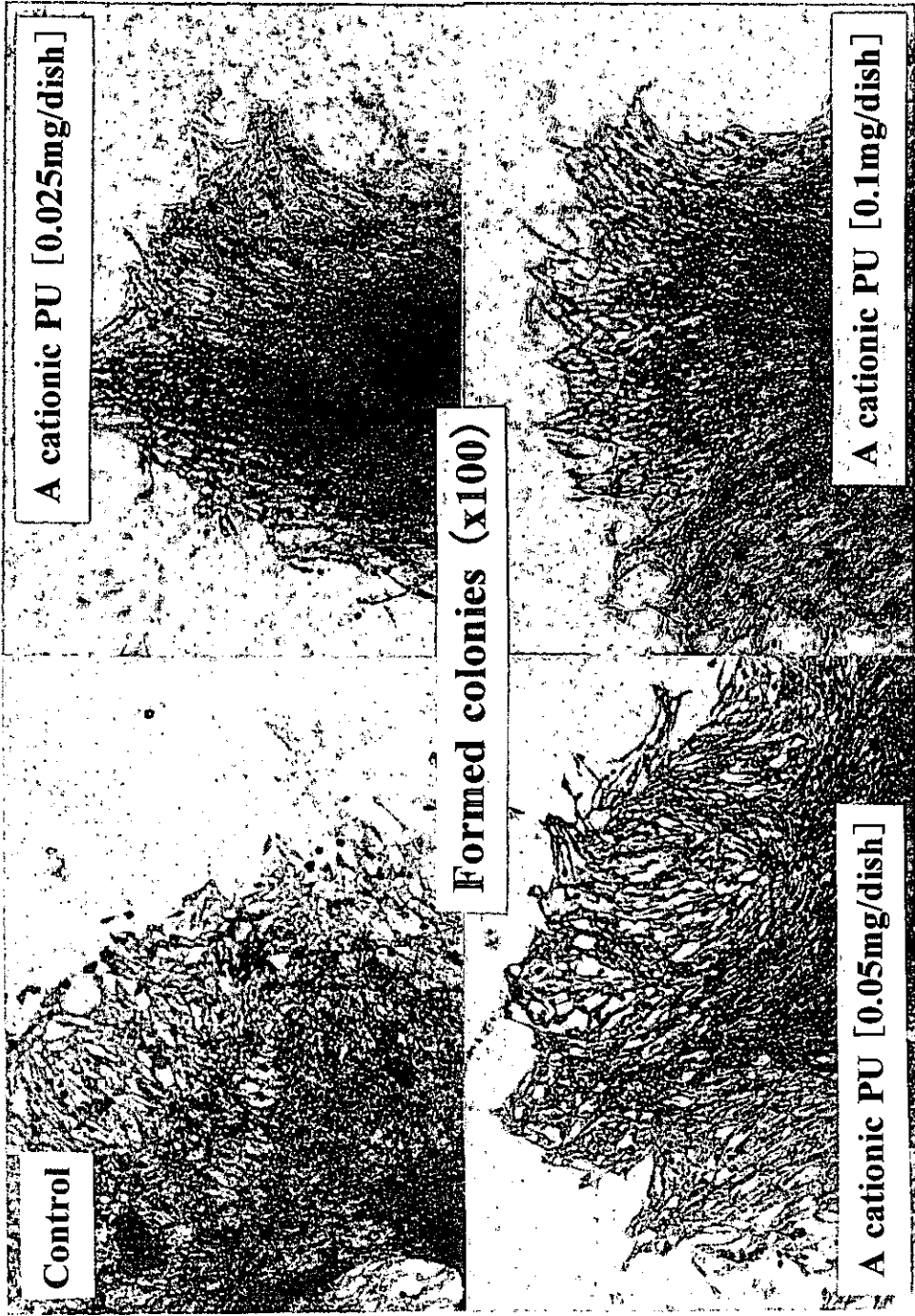


図6. カチオン化PUコート上での細胞毒性試験後のコロニーのギムザ染色写真 (倍率 x100)

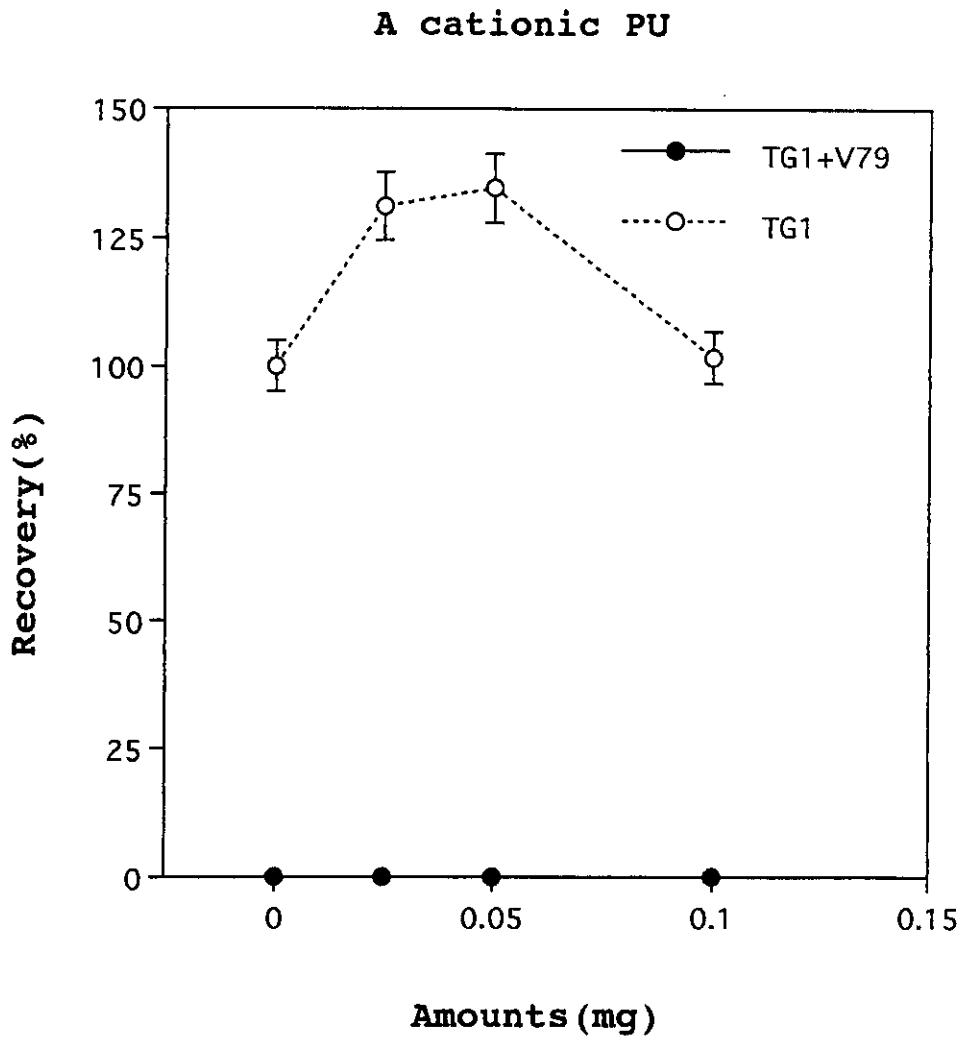


図 7. カチオン化 PU のコート量と V79 代謝協同阻害との関係

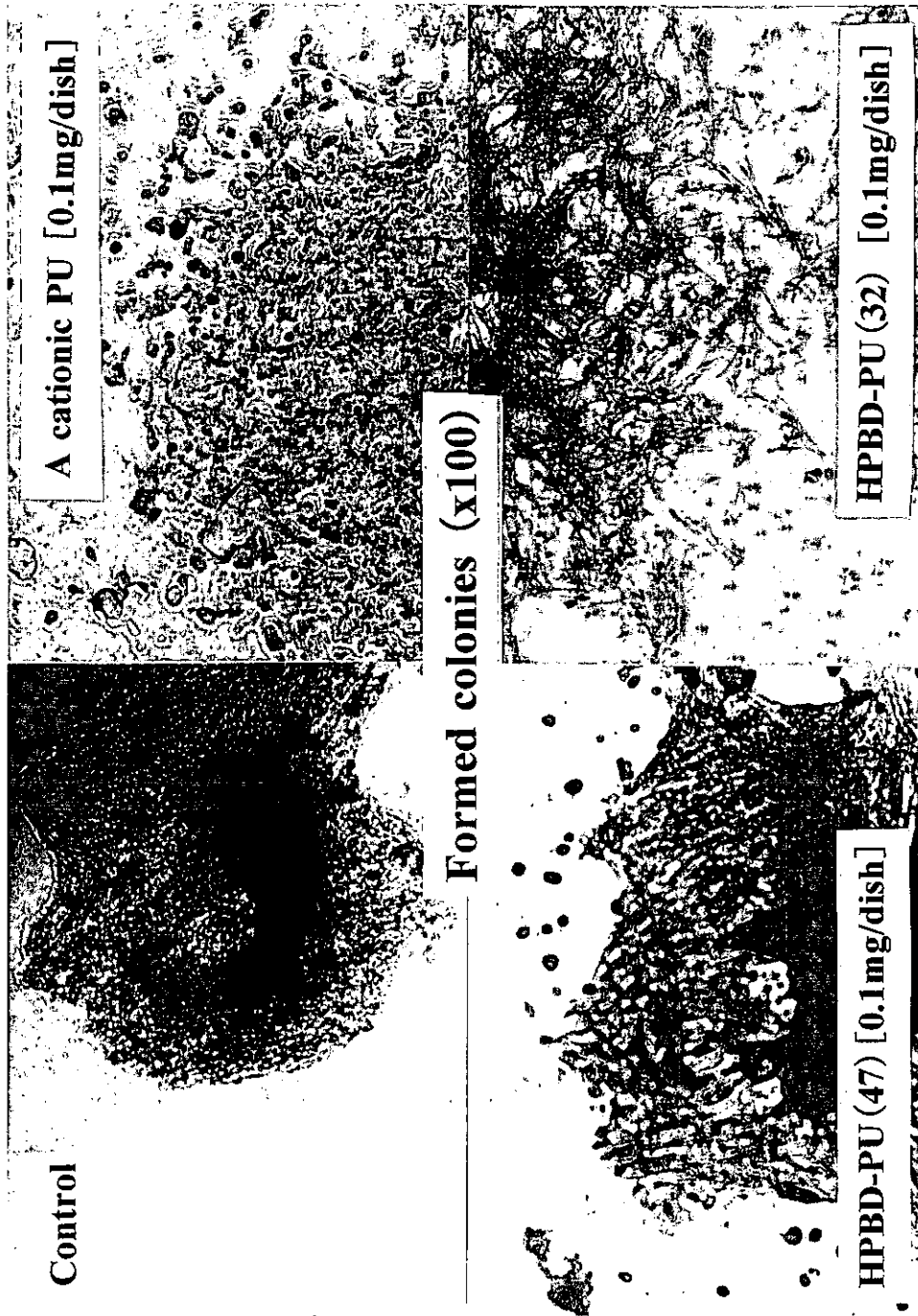


図8(a)種々のPUコート上での細胞毒性試験後のコロニーのギムザ染色写真 (倍率 x100)

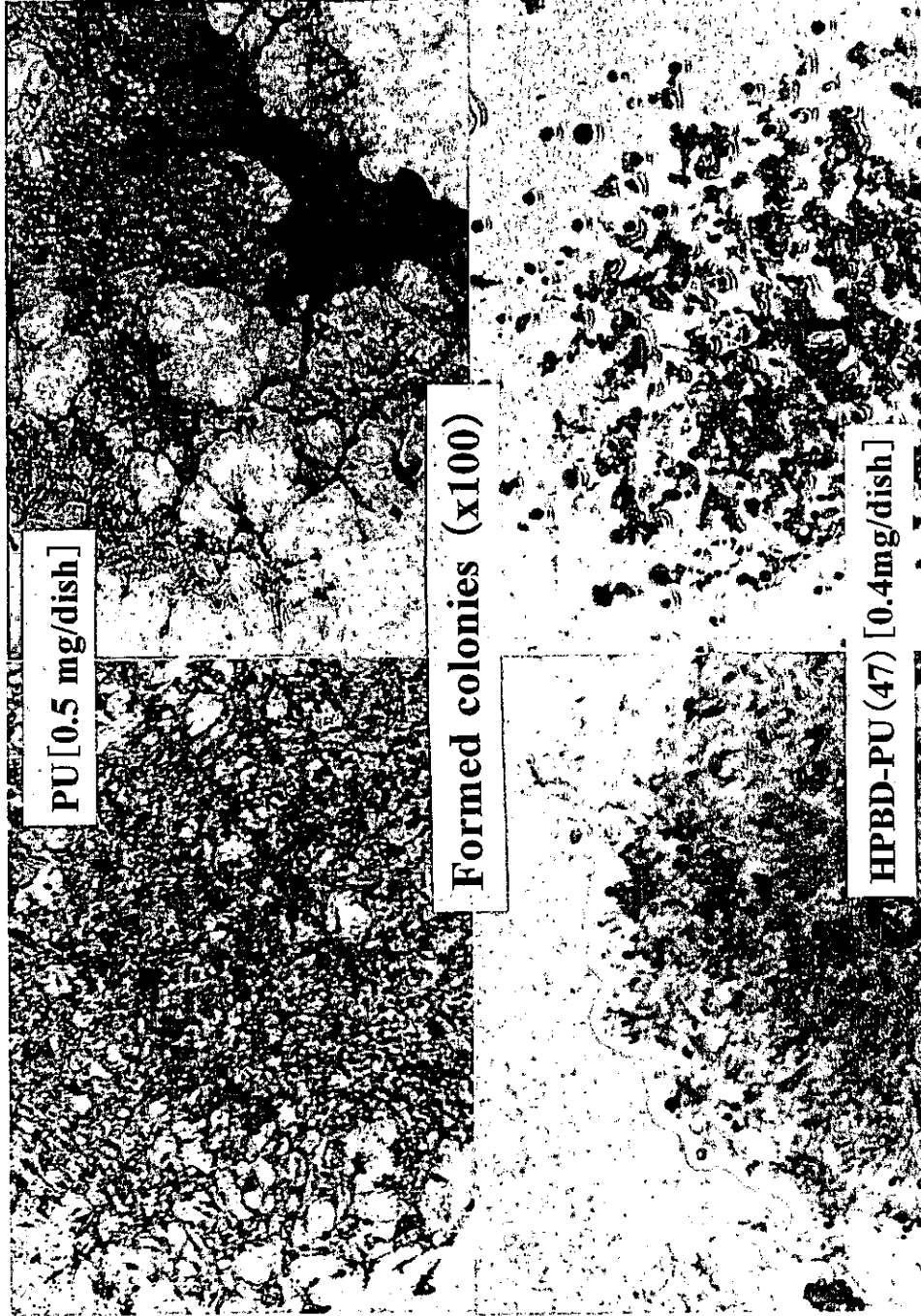


図8(b)種々のPUコート上での細胞毒性試験後のコロニーのギムザ染色写真 (倍率 x100)

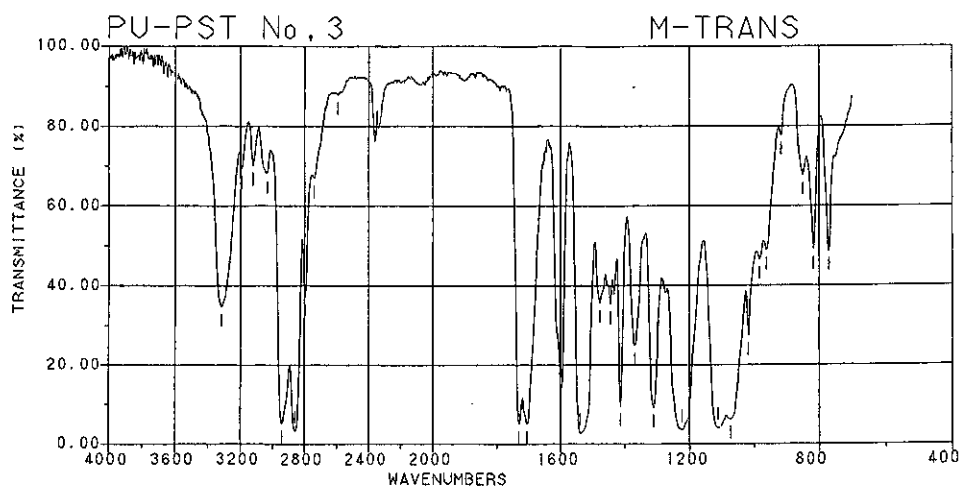
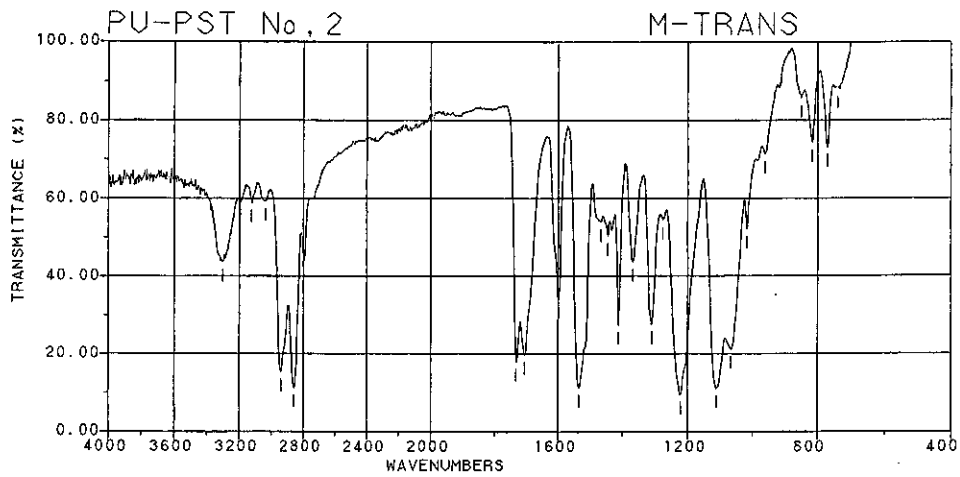
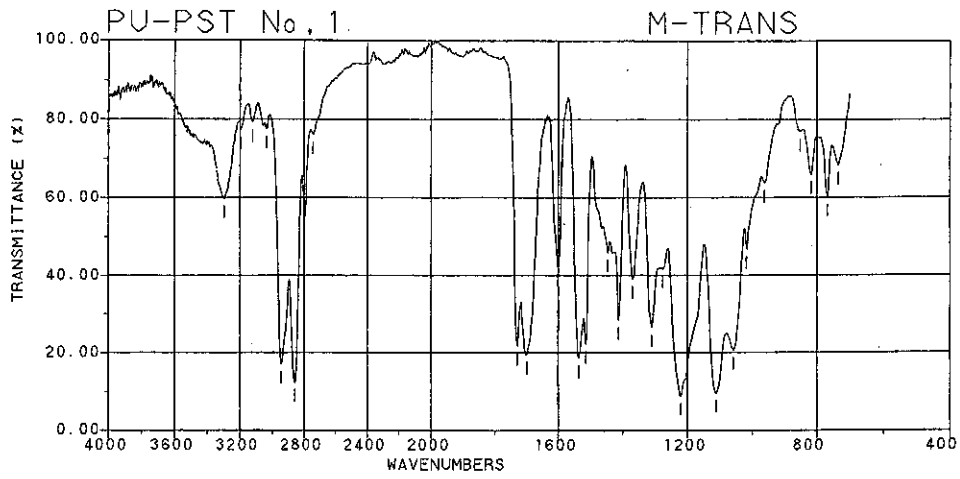
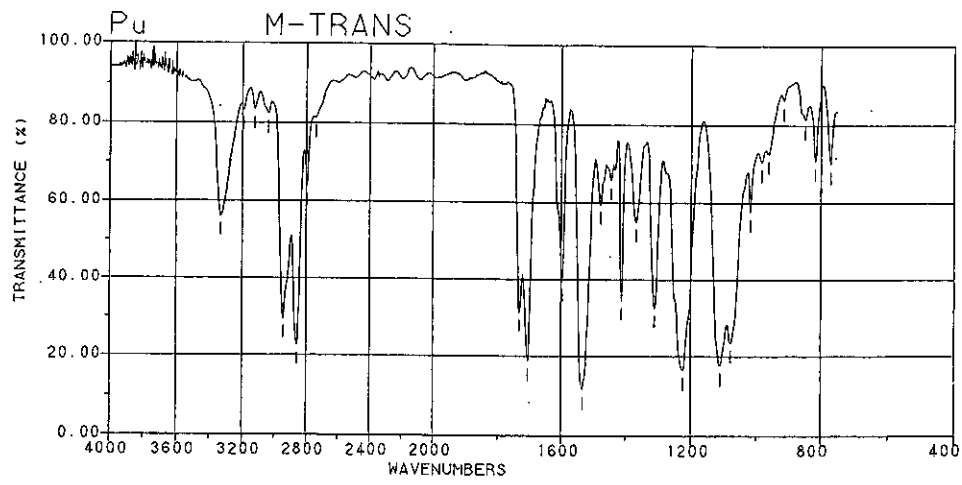


図 9. PU および合成した 3 種の硫酸化 PU (PU-PST) の FT-IR スペクトル