

ドトキシン以外の発熱性物質も存在している可能性をも示唆している。

現在市販されているラテックス製手術用手袋のほとんどは主にコーンスターチ由来のパウダーが塗布されている。同パウダーはラテックスアレルギーばかりでなく微生物やエンドトキシンを吸着し、手術時におけるこれらの生理活性物質の空気伝達（暴露）や患者体内への直接侵入を担っているという報告がある¹⁰。エンドトキシンによるラテックス製手術用手袋の汚染状況について検討した研究は非常に少ないが、リムルス試験の成績から同手袋には ng ~ μg オーダーのエンドトキシンが含まれていると報告されている^{10,11}。また、これらの研究の中には、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¹¹や、エンドトキシンがアジュバント活性、B細胞マイトジェン活性および各種炎症性サイトカイン誘導能などを示すことを理由に、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ことを示唆する報告もある^{21,22}。このように、医療用品の発熱性物質汚染による不具合は、単なる発熱のみにとどまらず、近年、急速に浮上してきたラテックスアレルギーの発症や症状の進展などにも関与していることが示唆されている。

【参考文献】

- [1] H. Kato, Y. Haishima, T. Iida, A. Tanaka and K. Tanamoto. (1998). Chemical structure of lipid A isolated from Flavobacterium meningosepticum lipopolysaccharide. *J. Bacteriol.*, 180, 3891-3899.
- [2] H. Kumada, S. Kondo, T. Umemoto and K. Hisatsune. (1993). Chemical structure of the 2-keto-3-deoxyoctonate (KDO) region of lipopolysaccharide isolated from Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis. *FEMS Microbiol. Lett.*, 108, 75-80.
- [3] 第 13 改正日本薬局方. 厚生省.
- [4] D.D. Groote, P.F. Zangerle, Y. Gevaert, M.F. Fassotte, Y. Beguin, F. Noizat-Pirenne, J. Pirenne, R. Gathy, M. Lopez, I. Dehart, D. Igot, M. Baudrihay, D. Delacroix and P. Franchimont. (1992). Direct stimulation of cytokines (IL-1β, TNF-α, IL-6, IL-2, IFN-γ and GM-CSF) in whole blood. I. Comparison with isolated PBMC stimulation. *Cytokine*, 4, 239-248.
- [5] M. Hirata, Y. Shimomura, M. Yoshida, J.G. Morgan, I. Palings, D. Wilson, M.H. Yen, S.C. Wright and J.W. Larrick. (1994). Characterization of a rabbit cationic protein (CAP18) with lipopolysaccharide-inhibitory activity. *Infect. Immun.*, 62, 1421-1426.
- [6] M. Imoto, H. Yoshimura, T. Shimamoto, N. Sakaguchi, S. Kusumoto and T. Shiba. (1987). Total synthesis of Escherichia coli lipid A, the endotoxically active principle of cell surface lipopolysaccharide. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 60, 2205-2214.
- [7] W.J. Christ, O. Asano, A.L. Robidoux, M. Perez, Y. Wang, G.R. Dubuc, W.E. Gavin, L.D. Hawkins, P.D. McGuinness, M.A. Mullarkey, M.D. Lewis, Y. Kishi, T. Kawata, J.R. Bristol, J.R. Rose, D.P. Rossignol, S. Kobayashi, I. Hishinuma, A. Kimura, N. Asakawa, K. Katayama and I. Yamatsu. E5531, a pure endotoxin

- antagonist of high potency. *Science*, 268, 80-83.
- [8] M. Hirata, S.C. Wright and J.W. Larrick. (1996). Endotoxin-neutralizing proteins for sepsis and endotoxin shock, p. 109-115. In K. Okada and H. Ogata (eds), *Shock from Molecular and Cellular Level to Whole Body*, Proceedings of the Third International Shock Congress, Elsevier.
- [9] E.T. Rietschel, L. Brade, U. Schade, U. Seydel, U. Zahringer, S. Kusumoto and H. Brade. (1988). Bacterial endotoxins: properties and structure of biologically active domains, p. 1-41, In E. Schinner, M.H. Richmond, G. Seibert and U. Schwarz (eds.), *Surface structures of microorganisms and their interactions with the mammalian host*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, Germany.
- [10] L. Holmdahl and N. Chegini. (1977). Endotoxin and particulate matter on surgical gloves. *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants*, 7, 225-234.
- [11] P.B. Williams and J.F. Halsey. (1997). Endotoxin as a factor in adverse reactions to latex gloves. *Annals of Allergy, Asthma, & Immunology*, 79, 303-310.
- [12] 森田隆司, 岩永貞昭. (1982). 第3章内毒素の生物活性: Limulus test お反応機構. 本間 遜, 岩永貞昭, 丹羽 允, 吉田昌男 (編集), *内毒素: その構造と活性*. 医歯薬出版.
- [13] T. Iida, Y. Haishima, A. Tanaka, K. Nishiyama, S. Saito and K. Tanamoto. (1996). Chemical structure of lipid A isolated from lipopolysaccharide of *Comamonas testosteroni*. *Eur. J. Biochem.*, 237, 468-475.
- [14] U. Zahringer, B. Lindner and E.T. Rietschel. (1994). Molecular structure of lipid A, the endotoxic center of bacterial lipopolysaccharides. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 50, 211-276.
- [15] A. Morimoto, T. Nakamori, T. Watanabe, T. Ono and N. Murakami. (1988). Pattern differences in experimental fevers induced by endotoxin, endogenous pyrogen, and prostaglandins. *Am. J. Physiol.*, 254, R633-R640.
- [16] C. Galanos and M.A. Freudenberg. (1990). Endotoxin: sensitization and mechanisms of host-response, p. 20-29, In J.D. Baumgartner, T. Calandra and J. Carlet (eds.), *Endotoxin from pathophysiology to therapeutic approaches*. Flammarion Medecine-Sciences, France.
- [17] D.R. Storm, K.S. Rosenthal and P.E. Swanson. (1977). Polymyxin and related peptide antibiotics. *Ann. Rev. Biochem.*, 46, 723-763.
- [18] 平田陸正. (1998). 顆粒球由来の生体防御因子: 抗菌性ペプチドを中心として. *Minophagen Medical Review*, 43, 1-15.
- [19] K. Tanamoto. (1995). Chemically detoxified lipid A precursor derivatives antagonize the TNF- α -inducing action of LPS in both murine macrophages and human macrophage cell line. *J. Immunol.*, 155, 5391-8396.
- [20] K. Tanamoto. (1994). Predominant role of the substituents on the hydroxyl groups of 3-hydroxy fatty acids of non-reducing glucosamine in lipid A for the endotoxic and antagonistic activity. *FEBS Letters*, 351, 325-329.
- [21] B.L. Charous, D.H. Beezhold, W.H. Adler and R.G. Hamilton. (1997). Endotoxin: a role in latex allergy?. *Annals of Allergy, Asthma, & Immunology*, 79, 277-280, Guest editorial.

- [22] E. Shmunes and T. Darby. (1984). Contact dermatitis due to endotoxin in irradiated latex gloves.
Contact Dermatitis, 10, 240-244.

【協力研究者】

村井敏美 (国立医薬品食品衛生研究所大阪支所生物試験部第一室)
矢上 健 (国立医薬品食品衛生研究所療品部)
中村晃忠 (国立医薬品食品衛生研究所療品部)
平田陸正 (岩手医科大学医学部細菌学講座)

表1. ラテックス製品抽出液によるウサギ体温の最高上昇度

試料 (抽出液)	投与量 (μg/kg, i.v.)	最高体温上昇度 (°C) *
A社製手袋	10	0.35 ± 0.05
B社製手袋	10	1.35 ± 0.14
C社製カテーテル	5	2.19 ± 0.23
	1	1.44 ± 0.24

* Mean ± S.E. (n = 4)

表2. ラテックス製品抽出液中の菌体由来活性物質の濃度

試料 (抽出液)	濃 度 (ng/ml)		
	エンドトキシン	ペプチドグリカン	β-グルカン
A社製手袋	0.003	ND	0.009
B社製手袋	3.2	0.82	0.063
C社製カテーテル	13.6	0.32	0.116

ND, not detectable.

表 3. 各種刺激物質の MM6-CA8 細胞に対する炎症性
サイトカイン産生誘導活性

刺激物質	刺激濃度	培養上清中のサイトカイン濃度 (pg/ml)		
		IL-6	TNF	IL-1
(菌体由来物質)				
エンドトキシン ^{a)} (pg/ml)	1	4.5	1.8	7.8
	5	7.4	2.7	8.4
	10	11.0	1.8	7.4
	50	128	10.8	29.4
	100	476	55.0	70.0
	1,000	4,010	408	578
ペプチドグリカン ^{b)} (ng/ml)	10	4.5	1.0	6.3
	100	32.9	1.8	14.9
	1,000	128.0	4.8	43.9
β -グルカン ^{c)} (μ g/ml)	100	3.3	0.3	5.9
TSST-1 (μ g/ml)	1	7.6	ND	6.1
	10	32.4	4.4	11.4
(ラテックス抽出液)				
A 社製手袋	10 %	4.3	1.8	7.2
B 社製手袋	10 %	40.6	4.4	25.3
C 社製カテーテル	10 %	413	161	158

無刺激時のサイトカイン濃度：IL-6, 4.9 pg/ml. TNF, 2.7 pg/ml. IL-1, 7.7 pg/ml.

^{a)} 大腸菌 (O55:B5) 由来精製エンドトキシン

^{b)} 黄色ブドウ球菌菌体からの抽出精製品

^{c)} CM-curdlan (和光純薬)

ND, not detectable

表4. デトキシゲル™カラムのエンドトキシン除去効果

試料	エンドトキシン濃度 (ng/ml) ^{a)}	
	処理前	処理後
エンドトキシン ^{b)} 溶液	10.6	0.0006
B社製手袋抽出液	1.94	0.0014
C社製カテーテル抽出液	8.66	0.0011

a) リムルス試薬 (エンドスペシー™) により測定

b) 日本薬局方標準エンドトキシン

表5. エンドトキシン除去処理によるサイトカイン産生誘導活性の消失

試料	細胞培養上清中のサイトカイン濃度 (pg/ml)					
	IL-6		TNF		IL-1	
	処理前	処理後	処理前	処理後	処理前	処理後
エンドトキシン ^{a)}	4,640	2.6	243	ND	804	5.8
B社製手袋抽出液 ^{b)}	32	3.5	3.5	1.4	20.5	6.6
C社製カテーテル抽出液 ^{b)}	415	4.5	160	1.4	169	6.7

無刺激時のサイトカイン濃度：IL-6, 4.9 pg/ml. TNF, 2.7 pg/ml. IL-1, 7.7 pg/ml.

a) 日本薬局方標準エンドトキシン (10.6 ng/ml) .

b) 各10%.

ND, not detectable.

表6. リムルス活性に対する CAP-18 の阻害効果

試料	CAP-18 ($\mu\text{g/ml}$)	LAL 活性強度 (EU/ml)	% Control
JPSE 100 EU/ml	0	24.0	100.0
	1	<1	-
	10	<1	-
	100	<1	-
B社製手袋抽出液	0	10.0	100.0
	1	11.3	113.0
	10	11.0	110.0
	100	6.0	60.0
C社製カテーテル 抽出液	0	12.6	100.0
	1	29.9	237.3
	10	11.7	92.9
	100	0.83	6.6

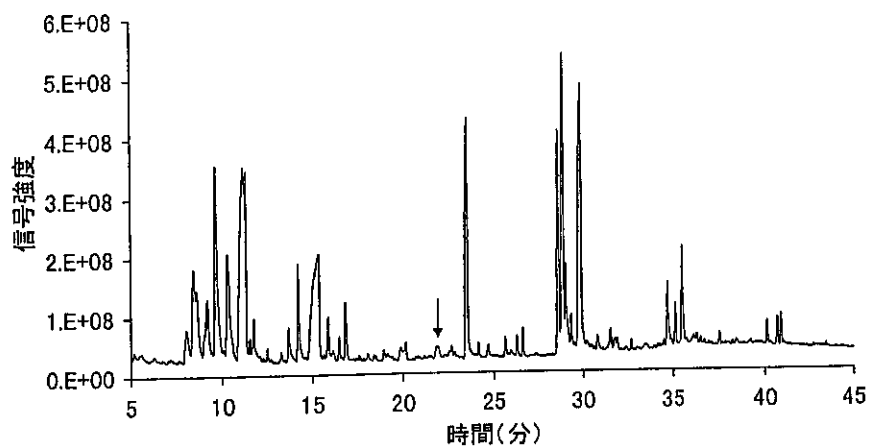
表7. IL-6 産生誘導活性に対する阻害剤の効果

阻害剤	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	エンドトキシン ^{a)}		C社製カテーテル	
		IL-6 (pg/ml)	% Control	IL-6 (pg/ml)	% Control
(CAP-18)	0	153	100.0	27.3	100.0
	1	73.1	47.7	38.2	139.9
	10	39.4	25.7	8.6	31.5
	100	5.6	3.7	5.0	18.3
(Suc-406)	0	125	100.0	637	100.0
	1	4.7	3.8	2.9	0.5
	10	4.9	3.9	2.9	0.5
	100	4.6	3.7	3.6	0.6
(B-464)	0	156	100.0	243	100.0
	1	4.9	3.1	3.7	1.5
	10	4.5	2.8	3.3	1.4
	100	5.2	3.3	5.0	2.1

a) 日本薬局方標準エンドトキシン (1 EU/ml)

図1. GC-MS による脂肪酸分析

A) ラテックス製手袋



B) ラテックス製カテーテル

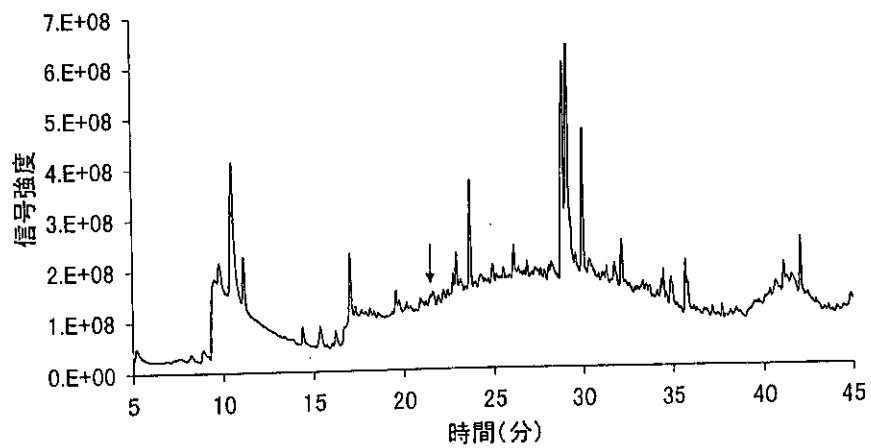
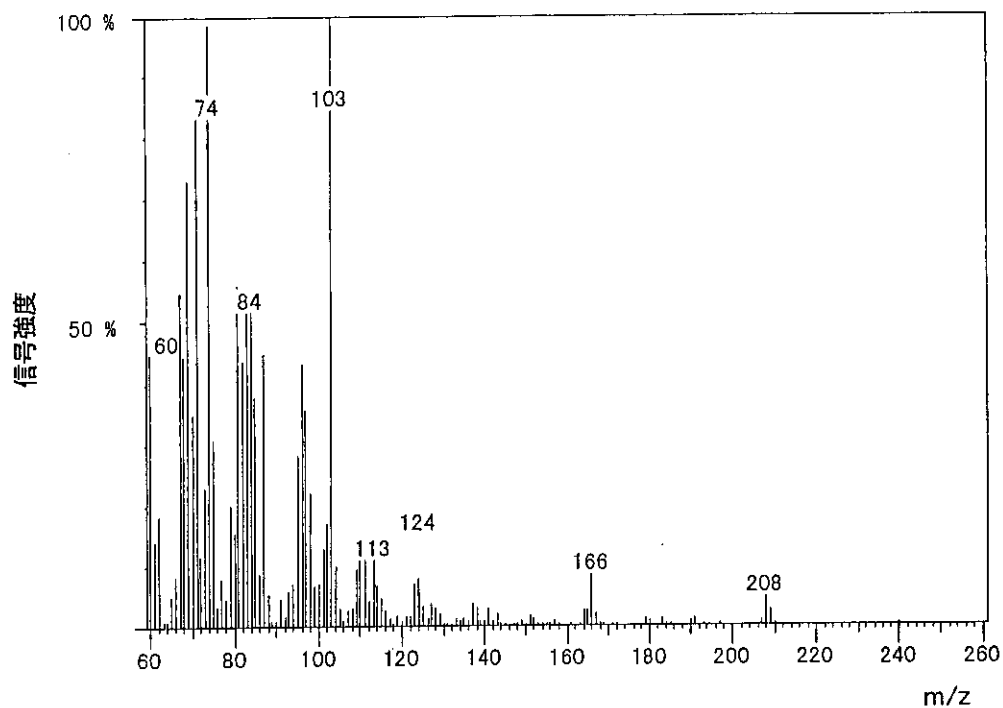


図 2. 3-ヒドロキシミリスチン酸メチルエステル
誘導体のマススペクトル

A) 大腸菌エンドトキシン



B) ラテックス製品

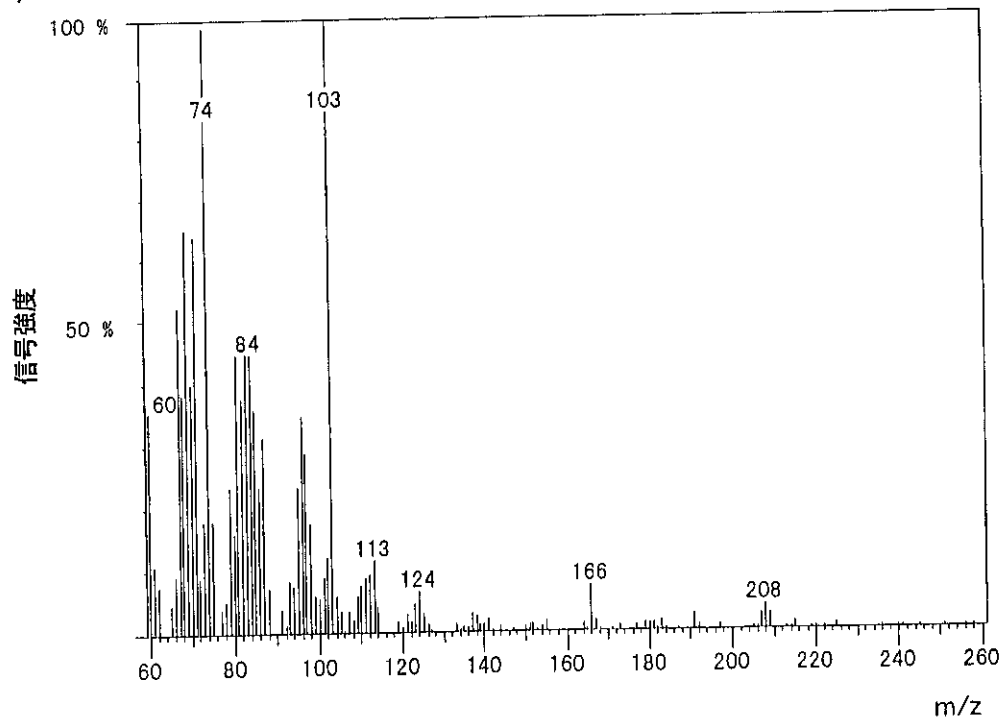
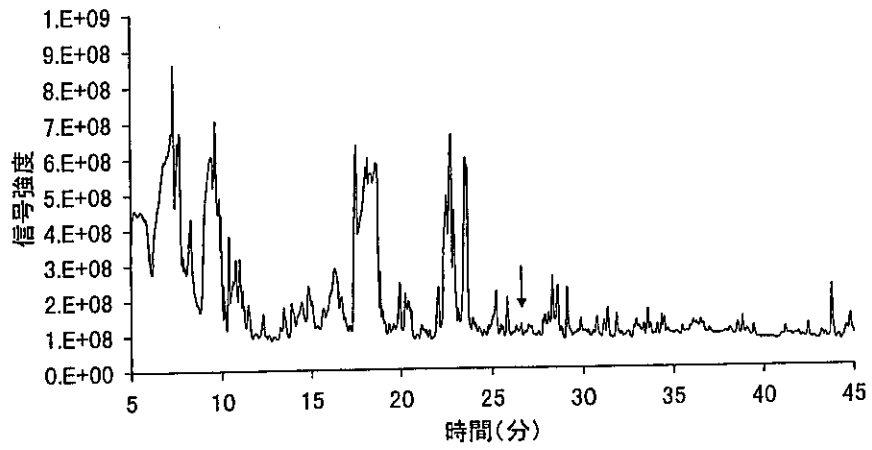


図 3. GC-MS による KDO 分析

A) ラテックス製手袋



B) ラテックス製カテーテル

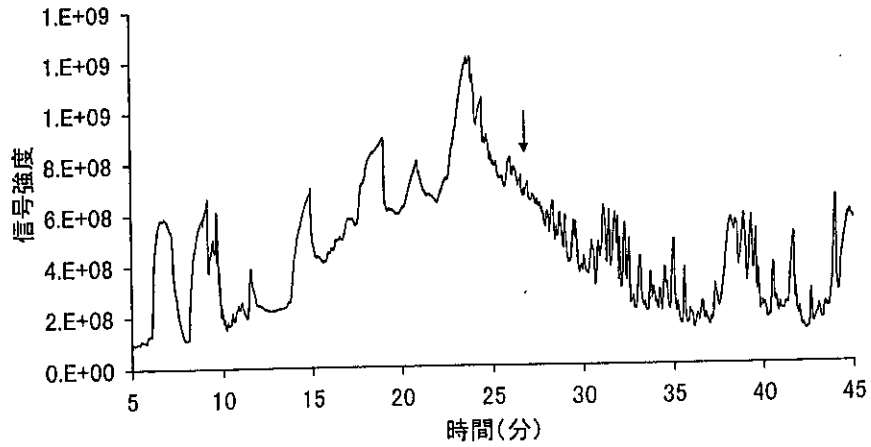
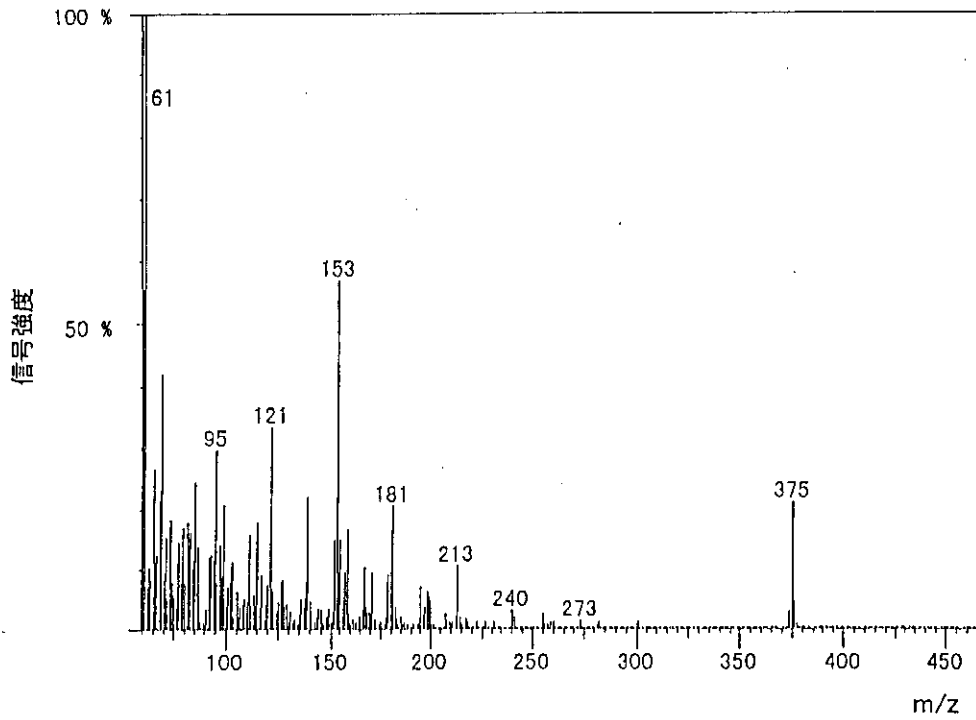


図 4. KDO 誘導体のマススペクトル

A) 大腸菌エンドトキシン



B) ラテックス製品

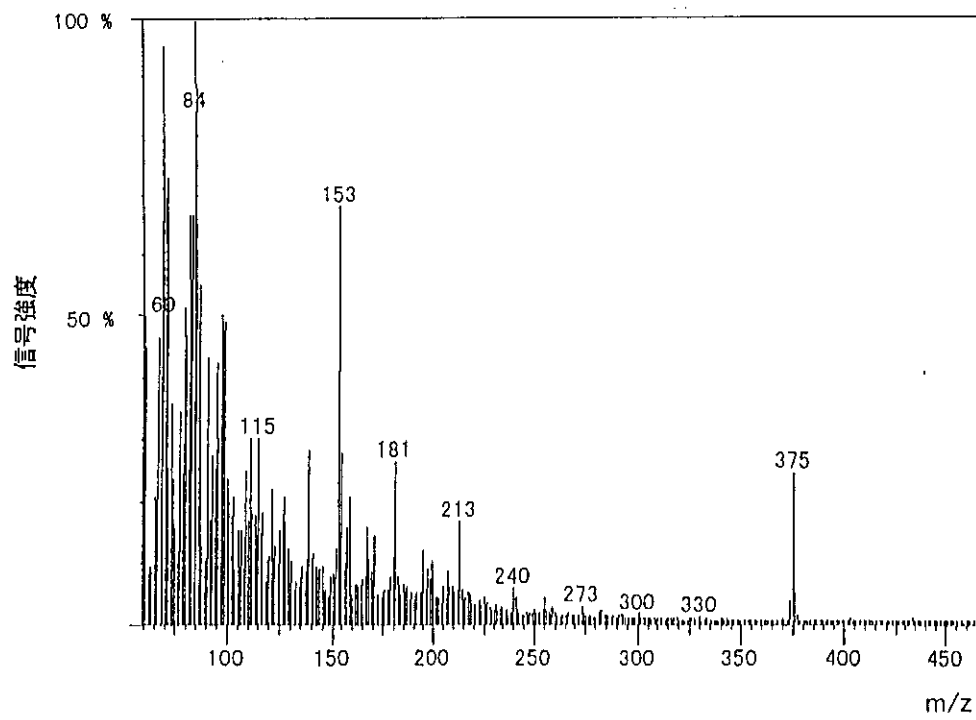


図5. ラテックス製品抽出液のウサギに対する発熱活性

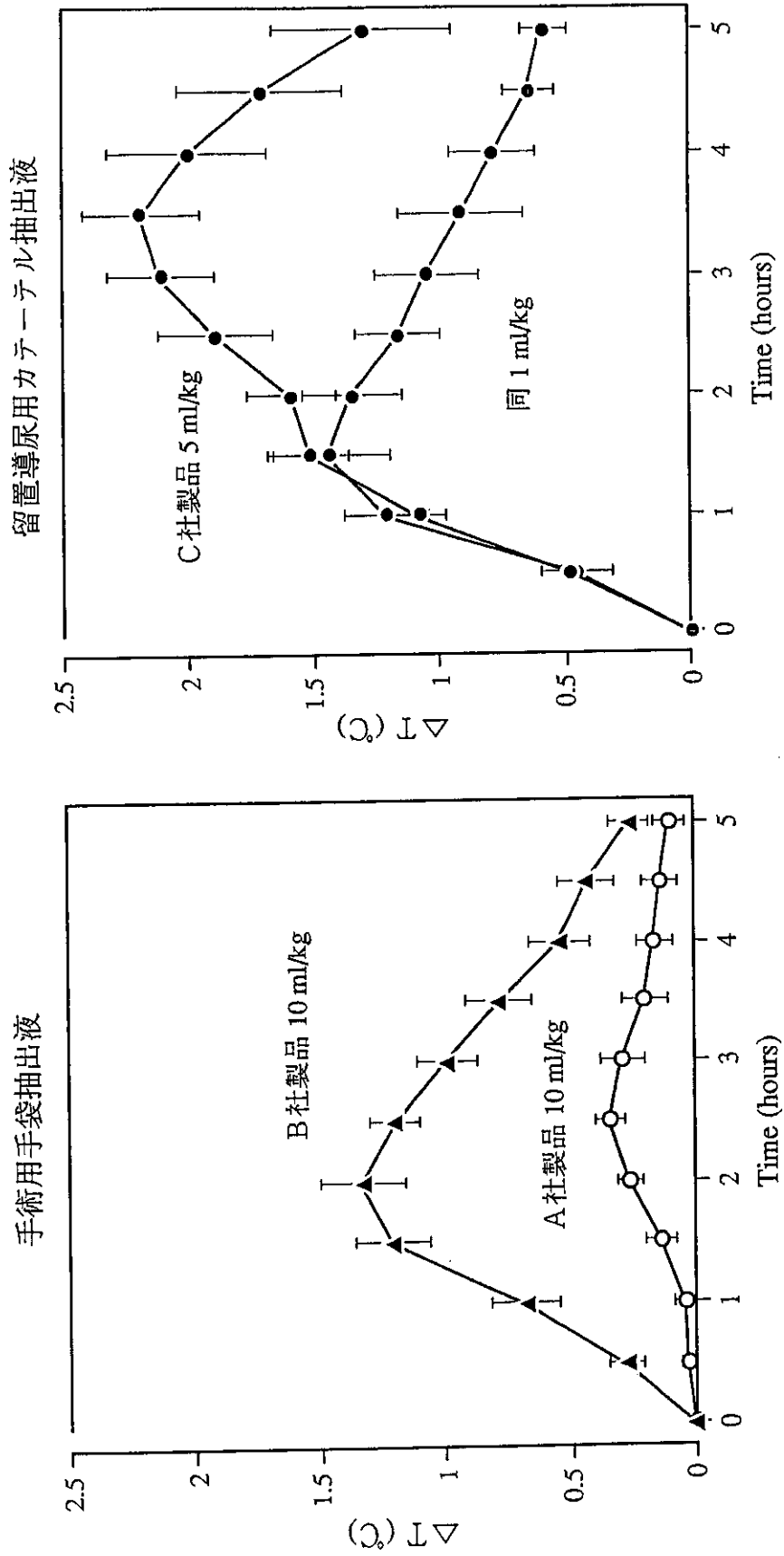


図6. 大腸菌 (O55:B5) 由来生成エンドトキシン
のウサギに対する発熱活性

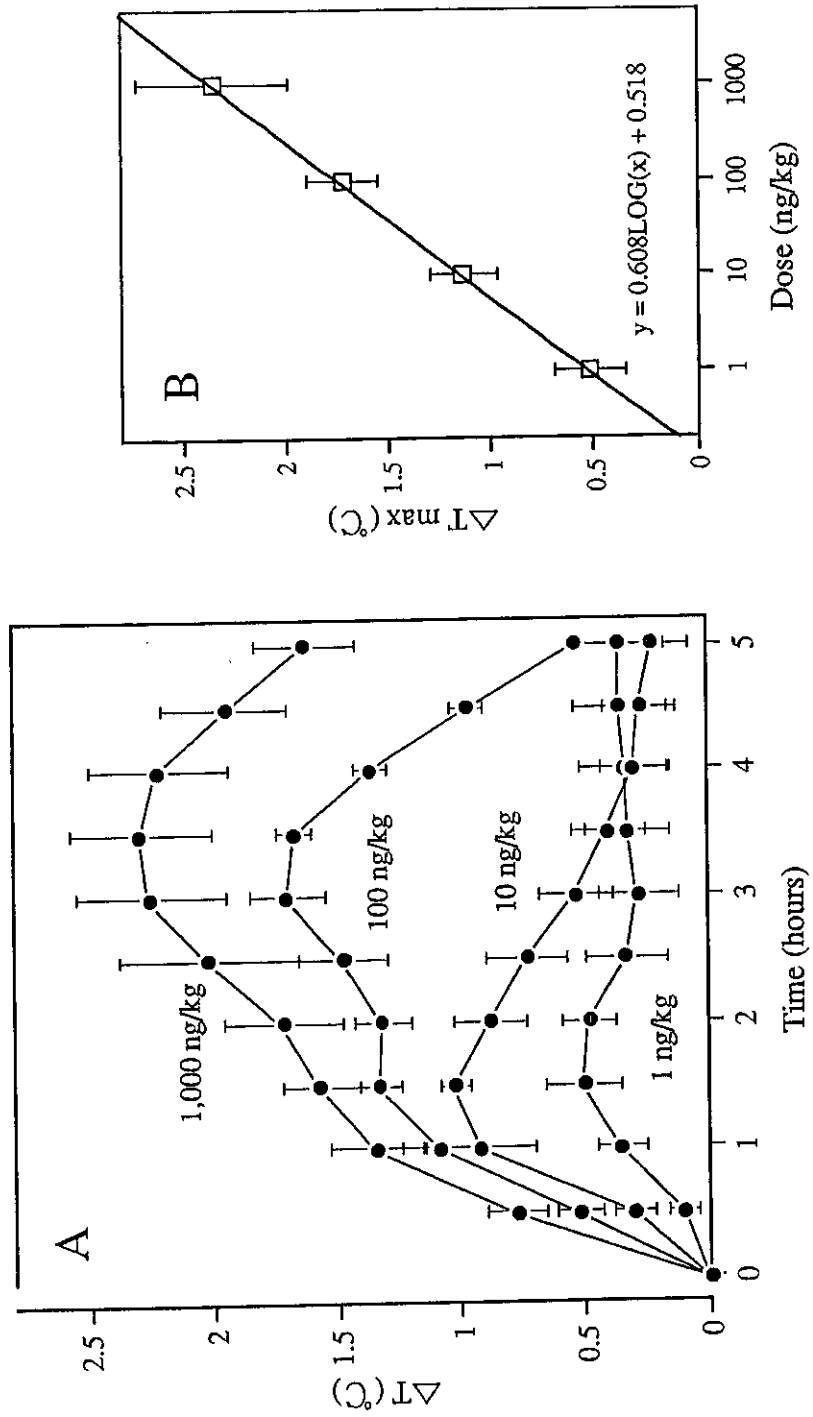
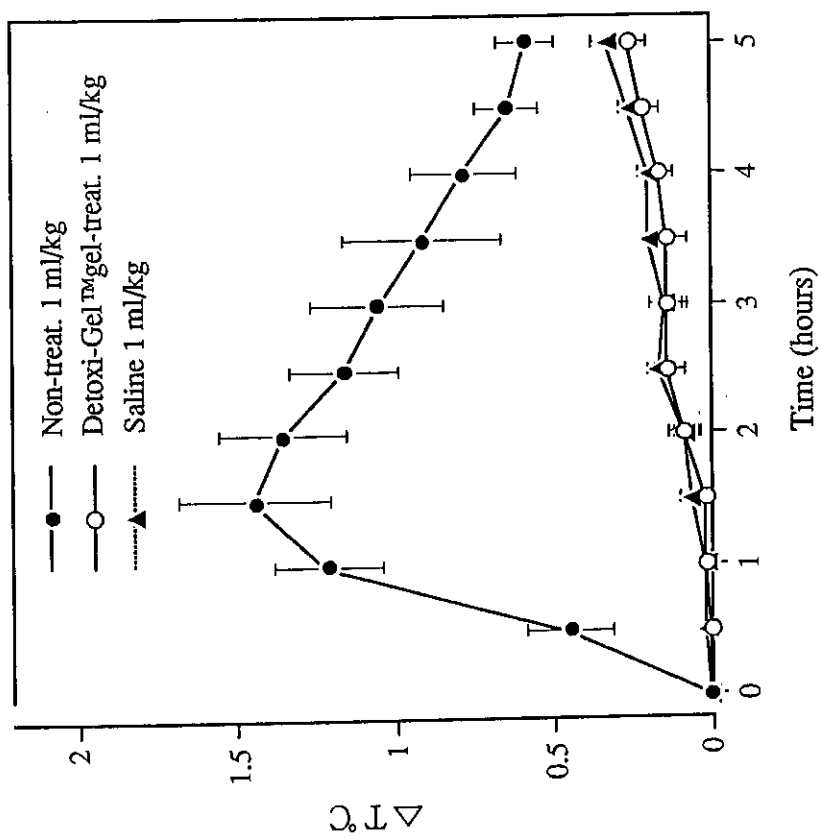


図7. デトキシゲルTMカラム処理による
カテテル抽出液の発熱活性の消失



厚生科学研究費補助金（医薬安全研究事業）

分担研究報告書

材料の長期埋植による異物発癌の評価に関する研究

分担研究者 土屋利江 国立医薬品食品衛生研究所・療品部第三室長

研究要旨 異物発癌現象は、インプラント用具の長期的安全性評価において、未解決のままになっている最大の課題である。我々はすでに、その機構に関する新仮説を提出し、インビトロ評価試験法案を確立している。本研究においては、インビトロ評価法から低（または非）発癌性が予測された新しいポリウレタン等の動物実験を行うなどして、仮説と評価法の妥当性を検証する。本年度は、ソフトセグメントが水素添加ポリブタンジエン基からなり、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種についてインビトロ評価を行なった。また、硫酸基の置換率の異なるポリウレタンの合成法を検討し、9%、19%および47%置換率の硫酸化ポリウレタンの合成に成功した。

A.研究目的

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* 評価を行なうことを第1の研究目的とする。

第2の研究目的は、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することである。

B.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 °C 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 4 cm^{-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。

C. 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。いずれも比較的コントロール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、プロパンスルホン所定量を加えて反応させた。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。

D.考察

PUの構造と細胞間連絡機能および細胞毒性強度

pelletthane 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、pelletthane 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。pelletthane 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。

pelletthane 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 pelletthane 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 pelletthane に比べて強いが、エーテル結合が無いとため、酸化劣化がおきにくいとため、ペースメーカーのリード線被覆剤として pelletthane 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、エーテル基がないとため、酸化しにくく、細胞による生分解が起こりにくいとためと考えられる。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とため、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。

E. 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。

F. 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.

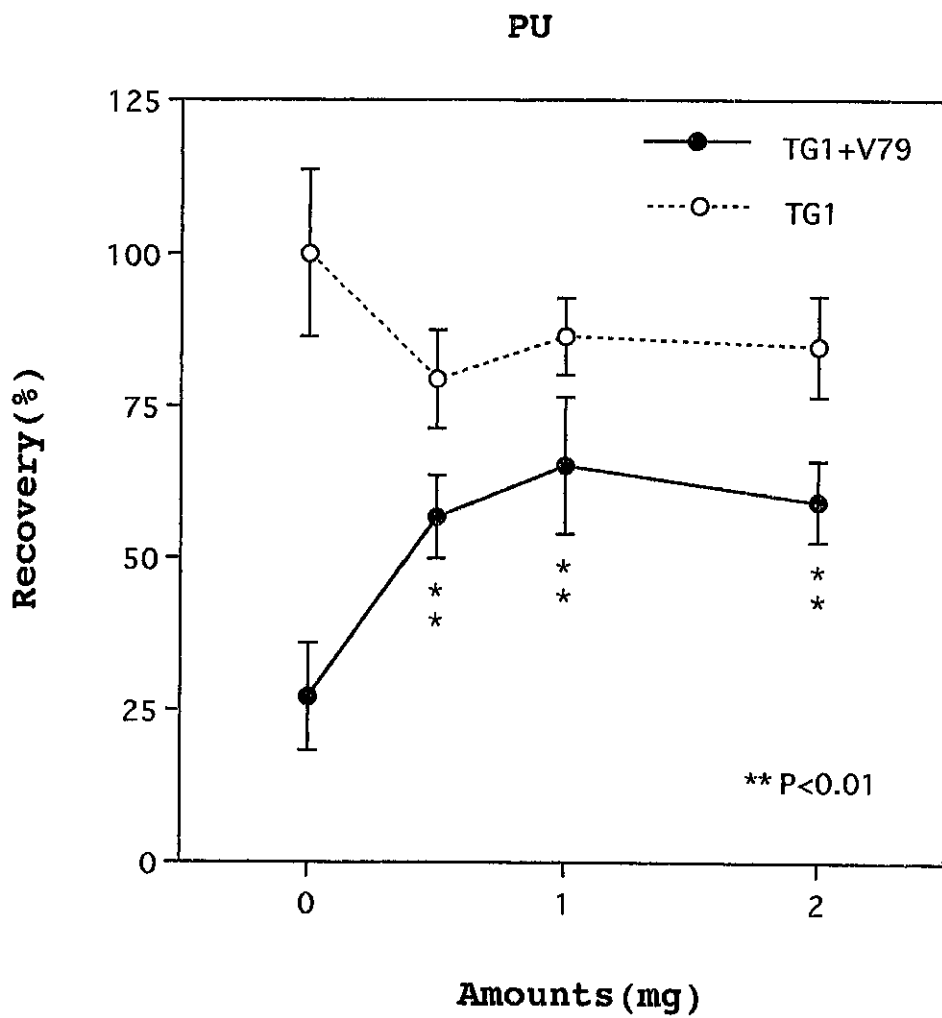


図 1. PU のコート量と V79 代謝協同阻害との関係