

アクターとなっていることが考えられる。

一方、接合材では、総報告数、破損報告共に、機能不全の報告が半分くらいを占めていた。接合材では、手術時に不具合がみられた場合であっても、予備と交換しただけで健康被害に繋がらない場合が多いのであろう。それでも、やはり破損数は他に比べて多く、また破損報告比率も人工関節の4倍以上であり、集中的に力が加われば、形状的にも他の用具に比べて破損しやすいことが容易に予想されるため、十分に注意すべきである。

接合材では、ねじの破損が多いが、傷害に繋がる破損としてはプレートの報告が多く、別途、疲労("fatigu")で集計した場合も、プレートの報告が多かった。また、釘の全報告数に対する破損比率は接合材の中で最も大きく、日本でも文献的に髄内釘破損の報告が多いことから、接合材では、プレート、ねじ、釘に留意すべきと考えられる。

なお、不具合報告数が多いものが必ずしも不具合比率が高いことを示してはならず、使用数が多かったために絶対的な報告数も多くなったということもあり得る点に十分な注意が必要である。従って、不具合報告だけではなく、用具の分類ごとの使用数の情報が明らかになれば、実際の不具合比率等が把握でき、不具合評価にとって非常に有意義であることは論を待たない。残念なことに用具分類ごとの使用数のデータについては、今回は入手できなかった。

しかしながら、総報告数を基準に取り、総報告数との相対的な比較をすることによって、破損・ゆるみ・

摩耗の、用具分類別・材料別・セメント別の特徴を見いだすことを試み、また、補完として年度別推移を解析に加えたことで、ある程度の傾向は掴めたものと考えている。

なお、今回の集計年度は不具合がFDAに報告された時点での年度であって、実際に埋め込まれた年度ではなく、埋め込まれてから数年以上経過してからの不具合報告も当然含まれると考えるべきである。インプラントでは、たとえ年度別使用数の情報が得られても、手術直後の不具合の評価は出来るものの、手術後の長期経過に基づく不具合率といった評価が難しくなってしまう。

真の評価を行うには、経過期間を考慮する必要があり、そのためには、用具の経過を追跡するシステムの存在が望ましい。国立衛研が各学会等と協力して行っているインプラント・データシステムが本格稼働することが切望される。とはいうものの、全てのインプラントをカバーすることは困難であるため、用具、埋植情報が容易に判明するよう、簡単に貼れるタグを複数用意し、カルテ、患者さんカードなどに貼付して、患者さんにも情報が共有できるようにし、用具の追跡が容易になるような手立てが必要になろう。国際標準化機構(ISO)でも、埋植・摘出時に記録すべき事項が標準化されているところである。不具合報告にも個人データを除いた埋植データが記載されるようになれば、非常に役立つと思われる。

以前に、FDAの不具合報告全体のインハウス・データベースを作成したが、データ量が多すぎて検索時間がかかり、パソコンレベルでは種々の応用には限界があった。今回のよ

うに整形外科インプラント分野の有用な情報のみに限れば、他の用具の情報も混在せず、スピードも上昇して全文検索も可能となり、パソコンレベルでも有用なシステムになると予想される。次年度以降に作成の上、試験的公開を目指す予定である。

終わりに当たって、この研究の文献検索に御尽力頂いた、千葉大学整形外科の守屋秀繁、原田義忠、鈴木昌彦の各先生に深謝したい。

E. 結論

1) 天然由来材料中のエンドトキシン回収・不活化法に関する研究

天然由来医用材料は、高い生体適合性を持つ反面、品質管理が難しい欠点がある。近年、我々は、現行の生物学的試験ガイドラインに記載されている発熱性物質試験法では、同製品中のエンドトキシン (LPS) 量を正確に評価できないことを明らかにした。

本研究では、現行ガイドラインの問題、菌体レベルおよび医用材料存在下での LPS 活性の回収、並びにエンドトキシン試験用試料の発熱性物質試験への転用の可能性を考慮して、医用材料からの LPS 回収条件の最適化を試みた。その結果、コラーゲン製品からの LPS 回収に関しては、試料を裁断し、生理食塩水中でコラーゲナーゼ処理を施した後、抽出操作を行うことなく生理食塩水を用いて希釈系列を作製しエンドトキシン試験に供すると、ガイドライン法と比較して飛躍的に LPS 回収率が上昇することが明らかとなった。

一方、アルギン酸製品からの LPS

回収は現行のガイドライン法によっても可能であるが、試料を裁断後、前処理としてホモジナイズすることにより LPS 回収率が顕著に増加することが確認された。アルギン酸製品からの LPS 回収実験を行う際、各製品によって抽出時間の最適化を行う必要がある。

0.01M-0.001M の水酸化ナトリウム処理の場合、医用材料の構造を保持した状態で混入する LPS の活性のみを低下させることができる可能性が示された。化学処理による LPS の不活化は菌体レベルよりも LPS レベルの方が容易であるため、事前に試料をメンブランフィルター濾過し、菌体を除去した後に低濃度のアルカリ処理を施すことにより、混入する LPS を効率良く除去、不活化できるものと思われる。

2) 新規材料からの免疫原性評価手法の開発に関する研究

医用材料の即時型および遅延型アレルギー性試験法の開発を目的として研究を行った。陽性タンパク質 OVA をアジュバントとともに BALB/c 系マウスに腹腔内投与し、免疫反応を観察するには 1 回当たりの投与量は $1\mu\text{g}$ 、明らかに検出するには $10\mu\text{g}$ 以上必要であった。マウスの週齢や性別によって反応強度に著しい違いは認めなかったが、ばらつきの点から 10 週齢までの若齢のものがよいように思われた。試験物質の投与は週 1 回の割合で 3 回行い、1 週間後に解剖して測定したところ、各指標ともばらつきが少なく、対照群と大きな差が認められた。測定指標については、抗原特異的血清 IgE

抗体価が最も対照との差も出るが、総IgE抗体価でも十分と考えられた。抗原刺激による脾臓リンパ球のIL-4産生及びIL-10産生の測定も有効であった。一方、mitogen刺激による各種サイトカイン産生は免疫の有無に関係しなかった。幼若化反応の測定はアイソトープを使用すること、またその代替試薬の感度が十分でないことから必要ないと思われた。医用材料の場合、溶出する抗原の種類については不明なことがほとんどである可能性が高いので、実際には血清中の総IgE抗体価を測定するのが適切であると思われる。一方で、即時型アレルギーの検出法として薬剤の分野で適用されつつあるPLNAを検討した。マウスの足に注射し、1週間後に膝窩リンパ節細胞数の増加率を求めた。OVAは溶媒投与に比べて2倍以上の増加があった。しかし、PLNAでは多量の試験試料が必要となること、また、CHGのような化学物質に関しては、アレルギーの実態数以上に高い判定値を示すことから、これらの反応が必ずしもアレルギー反応を表していない可能性があり、今後、IgE試験との比較など検討が必要である。

3) 発癌リスク評価手法開発

モデル陽性対照物質MDAの染色体異常試験では、代謝的活性化系存在下、染色体の構造異常および数的異常(核内倍加を含む)を誘発した。モデル材料の培地抽出液では、4%の高濃度MDA含有PUを試験しても、代謝的活性化系存在下、疑陽性で、明確な陽性反応はえられない。4%MDA含有PUの各種抽出物中の

MDAおよびPTMGの溶出量は、有機溶媒抽出では高濃度のMDAと共にPTMGが溶出したが、培地抽出では、MDAは10分の1以下、PTMGは1000分の1以下で、陽性結果にならないレベルの溶出量であった。MDAおよびPTMGの複合効果による染色体異常陽性反応が初めて明らかになり、材料の発癌性を評価する上で特徴的な複数成分による発癌リスクを明らかにする重要性を提示できた。したがって、抽出液の違いによる溶出物の絶対量の違いだけでなく、溶出成分の特性の違いにも着目して発癌リスク評価を行う必要があるものとする。

4) 4,4'-ジアミノジフェニルメタン添加ポリウレタンならびにポリ乳酸粒子の癌原性評価に関する研究

実験中であり結論を出す段階ではない。

5) セラミックス関節摩耗試験法開発

人工関節用ポリエチレンを対象とする従来の摩耗試験法はセラミック/セラミック人工関節の材料を評価するためには不適當である。

端面型試験機を用いる平面間の摩耗試験によって、関節摺動部の超薄膜潤滑における摩耗を評価できる。

エッジ・オン・フラット往復動試験機を用いる摩耗試験によって、繰り返し亜脱臼やインピンジメントによる破壊的な摩耗に対するセラミックの耐久性を評価できる。

単一の摩耗試験機あるいは関節シミュレータによって人工関節材料を

評価するのは危険である。関節材料の選定、検査のためには摩耗、破壊の主な原因となるすべての作動条件を再現する複数の試験が必要である。

6) 非破壊・耐久性試験法の開発

最終的な結論はまだ得られていないが、整形外科インプラントの力学的安全性の評価にあたっての問題点を明確にすることができた。

7) 人工関節の力学的、組織学的研究

圧力分布の変動を尺度とした人工股関節固定法を評価するための試験機構である人工股関節安定性試験器を構築できた。

固定法のコンセプトが対照的に異なる2種類の人工関節ステムの安定性を評価した。その結果、プレスフィット型人工股関節においては、接触圧力分布が、角度変化によって不安定に変動した。横止めピンを有した十字ステムにおいては、接触部分を適切な部位に限定することでそれを回避することができることがわかった。

接触圧力分布の不安定変動の発生の有無を尺度として人工股関節ステムの固定法の評価が、可能であることを示すことができた。

8) 整形外科インプラントの不具合データに関する研究

本年度は過去数年間の人工股・膝関節、接合材の破損に関する国内文献検索を行なってデータベースを作成すると共に、米国の整形外科インプラント用具の不具合情報について

もデータベースを作成し、様々な視点から集計処理を行った。不具合内容別では、膝・股関節では傷害報告が多かったが、接合材では機能不全と傷害がほぼ同数であった。破損に関しては、骨接合材(特にねじ、プレート)、人工関節(膝・股関節)、脊椎関連用具の順に報告が多かった。ゆるみでは股・膝関節に、摩耗では膝関節に報告が多かった。人工関節の破損と摩耗では、骨セメント使用型の用具分類で報告がやや多い傾向があるなど、用具の種類によって報告頻度が異なっていたが、ゆるみは全般的に生じていると考えられた。

F. 健康危害情報

セラミック/セラミック人工股関節において亜脱臼が繰り返されるとソケットのエッジ部に欠けや破壊的摩耗が生じる。エッジと平面の間の摩擦試験によってこの現象に対する材料の信頼性を評価できる。

一般に、人工関節の磁気学条件は複雑であるので、不具合が生じたらその原因を解明し、それを再現する試験をもとに材料の選定、検査を行わなければならない。安全な人工関節を実現するためには、速やかに不具合に対応する材料試験法を開発して規格化することが重要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 土屋利江 無機微粒子の安全性と生体適合性 微粒子工学大系第II巻 応用技術 フジ・テクノシステム, 東京, 2002, 743-748
- 2) Ryusuke Nakaoka and

- Toshie Tsuchiya Studies on the Biocompatibility of Biomaterials: Effect of Various Types of Biomaterial Microspheres S. hanada, Z Zhong, S. W. Nam and R. N. Wright The Fourth Pacific Rim International Conference on Advanced Materials and Processing (PRICM4) The Japan Institute of Metals , 東京, 2001, 189-191,
- 3) 土屋利江 発癌性・変異原性・催奇形性 角田方衛、筏 義人、立石哲也 金属系バイオマテリアルの基礎と応用 アイピーシー, 東京, 2000, 408-422
 - 4) Yoshiaki Ikarashi, Masa-aki Kaniwa, Toshie Tsuchiya, Sensitization potential of gold sodium thiosulfate in mice and guinea pigs. Biomaterials 23, 4907-4914, 2002
 - 5) Toshie Tsuchiya , Yoshiaki Ikarashi, Takao Uchima , Hisashi Doi, Akitada Nakamura, Yuichi Ohshima, Masato Fujimaki, Kazuhiro Toyoda, Michihito Takahashi, Takayuki Yoneyama and Hitoshi Hamanaka,. A method to monitor corrosion of chromium iron alloys by monitoring the chromium ion concentration in urine Material Trans 43, 3058-3064, 2002
 - 6) Yoshiaki Ikarashi, Toshie Tsuchiya, Kazuhiro Toyoda, Equo Kobayashi, Hisashi Doi, Takayuki Yoneyama and Hitosh Hamanaka. Tissue reactions and sensitivity to Iron-Chromium alloys Material Trans 43, 3065-3071, 2002
 - 7) Ryusuke Nakaoka and Toshie Tsuchiya Biocompatibility of Various Kinds of Polymer Microspheres Estimated from Their Effect on Gap Junctional Intercellular Communication of Fibroblasts. . Material Trans 43, 3122-3127, 2002
 - 8) Jeongung Park, and Toshie Tsuchiya Tumor-Promoting Activity of 48 kDa Molecular Mass Hyaluronic Acid. Material Trans 43, 3128-3130, 2002
 - 9) Kazuo Isama, Atsuko Matsuoka, Yuji Haishima and Toshie Tsuchiya Proliferation and Differentiation of Normal Human Osteoblasts on Dental Au-Ag-Pd Casting Alloy: Comparison with Cytotoxicity to Fibroblast L929 and V79 cells. Material Trans 43, 3155-3159, 2002
 - 10) Taizo Sumide, Toshie Tsuchiya Effects of multi-purpose solutions (MPS) for hydrogel contact lenses on gap-junctional intercellular communication (GJIC) in rabbit corneal keratocytes. . J. Biomed. Mater. Res. Appl. Biomater 64B, 57-64, 2002
 - 11) Toshie Tsuchiya. Yuka Itahashi, Tomoko Ichikawa and Akira Ichikawa Studies on the biocompatibility of artificial organs and tissue

- engineered products:
Embryonic neuronal cell differentiation on the various kinds of biodegradable polymers, *Animal Cell Technology* 12, 253-256, 2002
- 1 2) Akira Ichikawa, Toshie Tsuchiya Reversion of transformed phenotype of polyetherurethane-induced tumor cells Cx43 transfection *Animal Cell Technology* 12, 269-273, 2002
- 1 3) 中岡竜介、土屋利江 微粒子状物質の骨分化機能影響. バイオインダストリー 7, 14-20, 2002
- 1 4) 伊佐間和郎、五十嵐良明、土屋利江 γ 線照射ポリ乳酸の表面解析と骨芽細胞機能影響. バイオインダストリー 7, 21-29, 2002
- 1 5) 土屋利江 生分解性高分子材料の軟骨分化機能等への影響 バイオインダストリー 7, 30-37, 2002
- 1 6) Akira Ichikawa and Toshie Tsuchiya A strategy for the suppression of tumorigenesis induced by biomaterials: Restoration of transformed phenotype of polyetherurethane-induced tumor cells by Cx43 transfection. *Cytotechnology* 39, 1-8, 2002
- 1 7) Kazuo Isama and Toshie Tsuchiya Effect of \square -ray irradiated poly(L-lactide) on the differentiation of mouse osteoblast-like MC3T3-E1 cells. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn* 13, 153-166, 2002
- 1 8) Akira Ichikawa and Toshie Tsuchiya Studies on the tumor promoting mechanism of hard and soft segment models of polyetherurethane: Tyr265 phosphorylation of connexin43 is a key step in the GJIC inhibitory reaction induced by polyetherurethane. *J Biomed Mater Res* 62, 157-162, 2002
- 1 9) Kazuo Isama and Toshie Tsuchiya, Change in the Particle Size Distribution of poly(L-lactide) Wear Debris by \square -Ray Irradiation. *Bull. Natl. Inst. Health Sic* 119, 61-64, 2001
- 2 0) Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya, Keisuke Sakaguchi and Akitada Nakamura Studies on in vitro evaluation for the biocompatibility of various biomaterials: Inhibitory activity of various kinds of polymer microspheres on metabolic cooperation. *J. Biomed Mater Res.* 57, 279-284, 2001
- 2 1) Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya, Akitada Nakamura The inhibitory mechanism of gap junctional intercellular communication induced by polyethylene and the restorative effects by surface modification with various proteins *J. Biomed Mater Res.* 57, 567-574, 2001
- 2 2) 土屋利江、中岡竜介、朴正雄、市川明. 胞によるバイオマテリアルの評価法, 月刊バイオ

- インダストリー 10, 81-93, 2001
- 2 3) Ryusuke Nakaoka, Toshie Tsuchiya and Akitada Nakamura Studies on the mechanisms of tumourigenesis induced by polyetherurethane in rats: Production of superoxide, tumor necrosis factor, and interleukin 1 from macrophages cultured on different polyetherurethanes. *J. Biomed Mater Res.* 49, 99-105, 2000
- 2 4) Toshie Tsuchiya A useful marker for evaluating the tissue engineering products: gap junctional communication for assessment of the tumor-promoting action and disruption of cell differentiation in the tissue engineering products. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn* 11,947-959, 2000
- 2 5) Haishima Y., Hasegawa C., Yagami T., Tsuchiya T., Matsuda R. and Hayashi Y. Estimation of uncertainty in kinetic- colorimetric assay of bacterial endotoxins. *J. Pharm. Biomed. Anal* in press(2003).
- 2 6) Nakagawa Y., Murai T., Hasegawa C., Hirata M., Tsuchiya T., Yagami T. and Haishima Y. Endotoxin contamination in wound dressings made of natural biomaterials. *J. Biomed. Mater. Res. Appl. Biomater* in press (2003).
- 2 7) 森田有亮, 中田健一, 吉田秀幸, 池内健, 新原皓一, 関野徹, 金允護,高韌性材料を用いる ceramic on ceramic THA の可能性について 日本人工関節学会誌 32, 115-116, 2002
- 2 8) 中田健一, 森田有亮, 吉田秀幸, 池内健,人工関節用ジルコニア/アルミナの摩耗特性 日本臨床バイオメカニクス学会誌 23, 329-333, 2002
- 2 9) 柴田延幸, 富田直秀, 池内 健 γ線照射による劣化が超高分子量ポリエチレン(UHMWPE)のデラミネーション破壊に及ぼす影響 日本臨床バイオメカニクス学会誌 23, 367-371,2002
- 3 0) 上野 勝, 岡田崇洋, 池内 健, 赤木将男, 中村孝志 大腿骨コンポーネントの材質の違いによる人口膝関節ポリエチレンプレートの磨耗特性評価.日本臨床バイオメカニクス学会誌 23, 387-391, 2002
- 3 1) K. Ikeuchi, Y. Morita, H. Yoshida and J. Kusaka, Effect of tribochemical reaction on wear of silicon carbide for joint prostheses. *Journal of Ceramic Processing Research* 2(1), 35-37, 2001
- 3 2) Yusuke MORITA, Hideyuki YOSHIDA, Ken IKEUCHI and Masaru UENO EFFECT OF SLIDING DIRECTION ON WEAR PROPERTIES OF CERAMICS FOR JOINT PROSTHESES. *Tribology in Biomechanical Systems* 128-135, 2001
- 3 3) Ken IKEUCHI, Jun

- KUSAKA and Yusuke MORITA EFFECT OF DISSOLVED OXYGEN ON WEAR OF SILICON CARBIDE FOR JOINT PROSTHESES *ribology in Biomechanical Systems* 136-142, 2001
- 34) 上野 勝, 池内 健 架橋型ポリエチレンの摩耗特性-摩耗粉による検討- 本臨床バイオメカニクス学会誌 22, 157-161, 2001
- 35) 上野 勝, 池内 健 Alumina 及び Zirconia を組み合わせた人工股関節の Hip Simulator による摩耗特性評価 本臨床バイオメカニクス学会誌 22, 437-441, 2001
- 36) Mabuchi K, Ujihira M, Sakai R, Ota M Squeeze-film formation between bearing surfaces of ceramic-on-ceramic total hip prostheses *Proceedings of International Congress on Biological and Medical Engineering*, CD-ROM, 2002
- 37) Amao K, Sakai R, Yoshino H, Mabuchi K, Mishina H Optimal stress distribution of the fixation area of a joint prosthesis *Proceedings of International Congress on Biological and Medical Engineering* CD-ROM, 2002
- 38) 内山勝文, 糸満盛憲, 氏平政伸, 馬淵清資 マイクロ波加温による海綿骨および皮質骨の内部温度均一化の検討 日本臨床バイオメカニクス学会誌 23, 81-86, 2002
- 39) 酒井利奈, 馬淵清資, 雨尾公暁, 糸満盛憲 人工股関節固定部の総接触面積と応力場のカオス生成の関係 日本臨床バイオメカニクス学会誌 23, 179-184, 2002
- 40) 馬淵清資, 森田真史, 酒井利奈, 大田未知 セラミックス人工股関節摩擦面におけるスクイズ流体膜の形成 日本臨床バイオメカニクス学会誌 23, 323-328, 2002
- 41) 大田未知, 馬淵清資 変形性関節症モデルにおける膝関節の摩擦特性 別冊整形外科 42, 37-43, 2002

2. 学会発表

- 1) 長谷川千恵、松田りえ子、林讓、矢上 健、土屋利江、齧島由二：比濁法リムルス試験の分析精度とその保証。日本薬学会第 123 年会（2003. 3 . 長崎）
- 2) 齧島由二、長谷川千恵、矢上健、鳥鷹幸弘、伊藤 博、片倉健男、土屋利江：天然医用材料に混在するエンドトキシンの不活化法の開発。第 24 回日本生バイオマテリアル化学学会大会（2002.11 東京）
- 3) 齧島由二、長谷川千恵、矢上健、伊藤 博、片倉健男、田村弘志、土屋利江：天然医用材料からのエンドトキシン回収法の開発。第 24 回日本生バイオマテリアル化学学会大会（2002. 11. 東京）
- 4) 齧島由二、長谷川千恵：FUMI 理論によるリムルス試験の精度予測。第 75 回日本細菌学会総会（2002. 4. 神奈川）
- 5) 五十嵐良明、鹿庭正昭、土屋

- 利江：第 29 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2002.6)
- 6) 五十嵐良明、鹿庭正昭、土屋利江：第 24 回日本バイオマテリアル学会大会(2002.11)
- 7) 松岡厚子、土屋利江：医療用具の生物学的試験の標準化に関する研究；医療材料の染色体異常試験第 24 回日本バイオマテリアル学会大会 (2002.11.30 東京)
- 8) 池内 健，森田有亮，中田健一，吉田秀幸，新原皓一，関野徹，金允護：高靱性材料を用いる ceramic on ceramic THA の可能性について，第 32 回日本人工関節学会，(2002.1.30-31 名古屋)
- 9) Ikeuchi,K., Morita,Y., Nakata,K., Y.H.Kim., Sekino,T., Niihara,K.:Wear of alumina/zirconia nano-composite for ceramic/ceramic joint prostheses, 28th Leeds-Lyon Symposium on Tribology(2002.9.3-6 リーズ)
- 1 0) 池内健，森田有亮，小山裕貴，金允護，関野徹，新原皓一：人工関節用ナノ複合セラミックスの摩耗特性，トライボロジー会議，(2002.10.8-9 仙台)
- 1 1) Ikeuchi,K., Morita,Y., Yoon-Ho Kim, Sekino,T., Niihara,K., :Wear properties of alumina/zirconia nano-composite ceramics for all ceramic joint prostheses, CUP between Japan and Korea Osaka seminar, (2002.11. 4-6, 大阪)
- 1 2) 上野 勝，池内 健：Almina 及び Zirconia を用いた All Ceramics 製人口股関節の摩耗，バイオトライボロジー シンポジウム，(2002.3.23 東京)
- 1 3) 上野 勝，池内 健：All Ceramics 製人口股関節の摩耗，トライボロジー会議 (2002.5.13-15 東京)
- 1 4) 森田有亮，中田健一，金允護，関野徹，新原皓一，池内健：集中接触下におけるナノコンポジットセラミックスの摩耗特性，第 13 回バイオエンジニアリング学術講演会・秋季セミナー，(2002.9.5-6 小樽)

3. 知的所有権の出願・登録状況

- 1) 酸性電解除菌水処理によるエンドトキシンの不活化。
国立医薬品食品衛生研究所／ダイキン工業（株）共同出願。

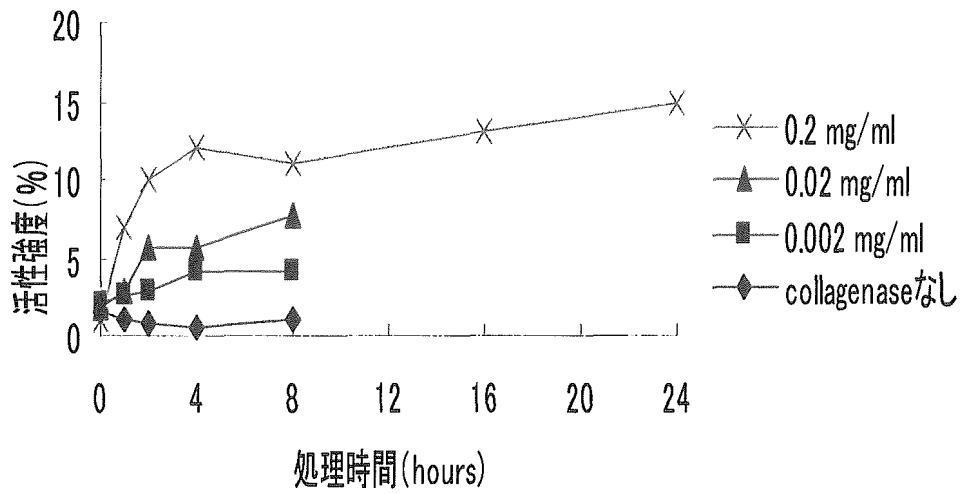


図1. コラゲナーゼ処理条件の検討

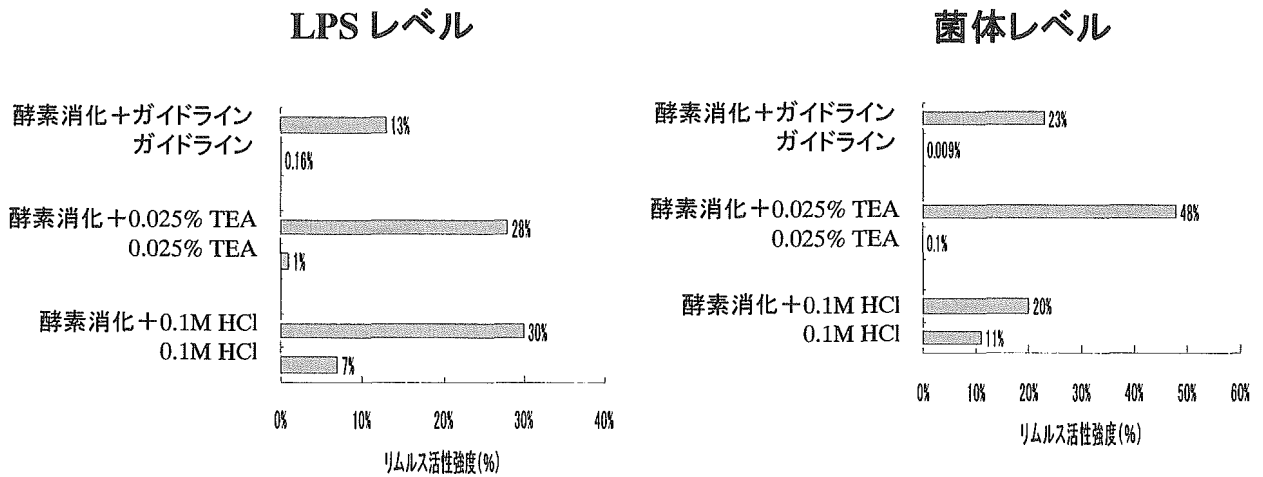


図2. コラーゲンからのエンドトキシン回収 (1)

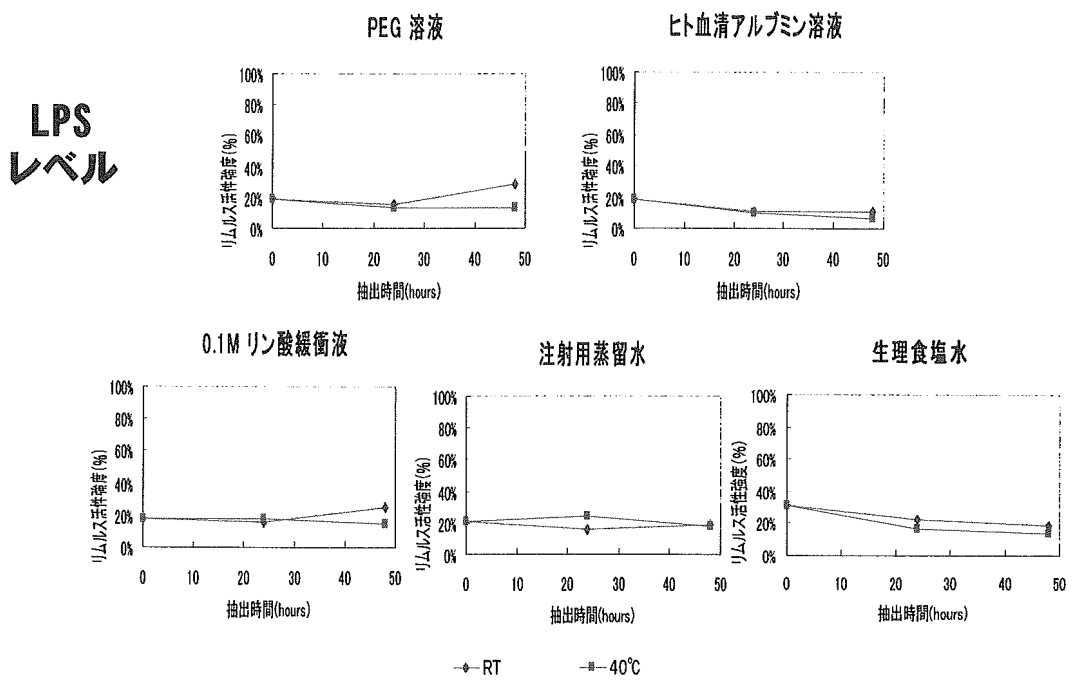


図3. コラーゲンからのエンドトキシン回収 (2)

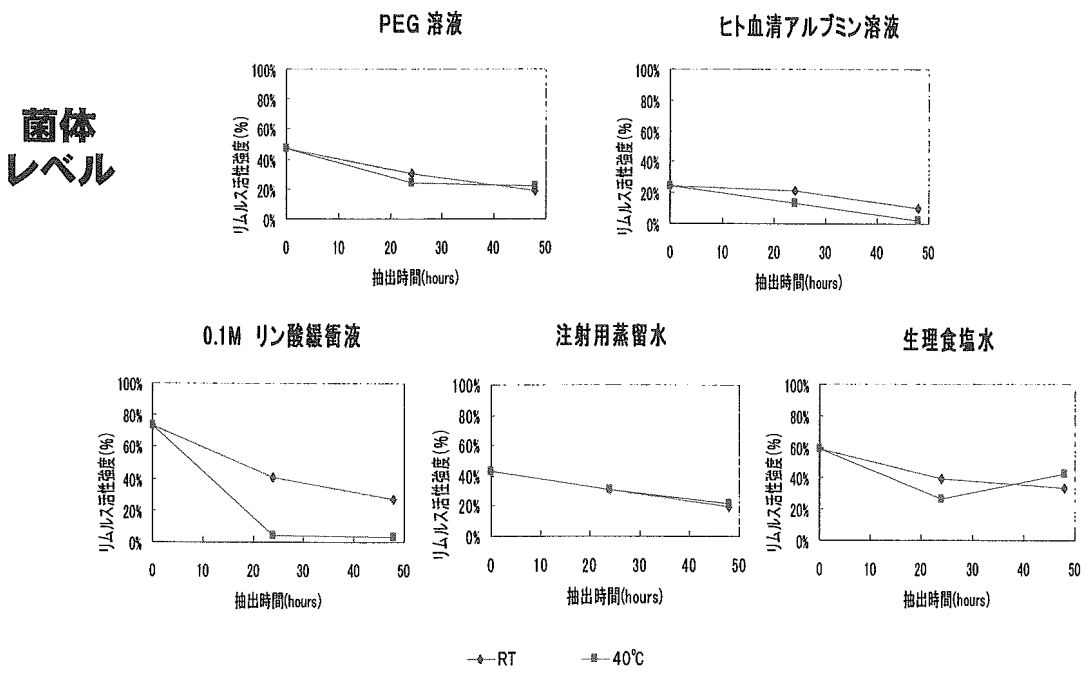


図4. コラーゲンからのエンドトキシン回収 (3)

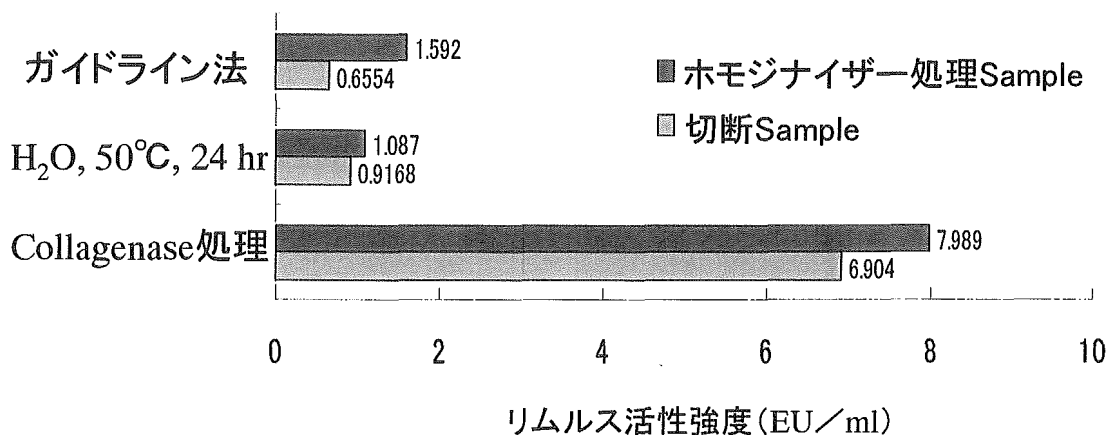


図5. コラーゲンからのエンドトキシン回収に関するホモジナイズ処理の影響

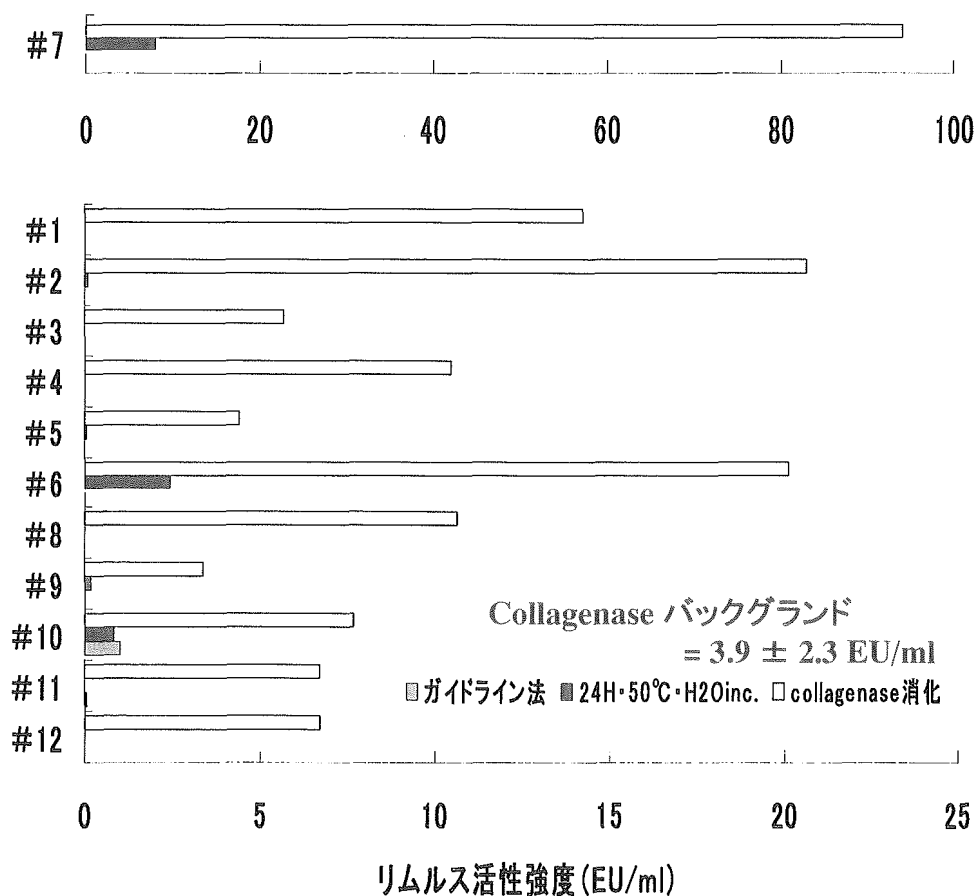


図6. コラーゲン製品からのエンドトキシン回収

LPS
レベル

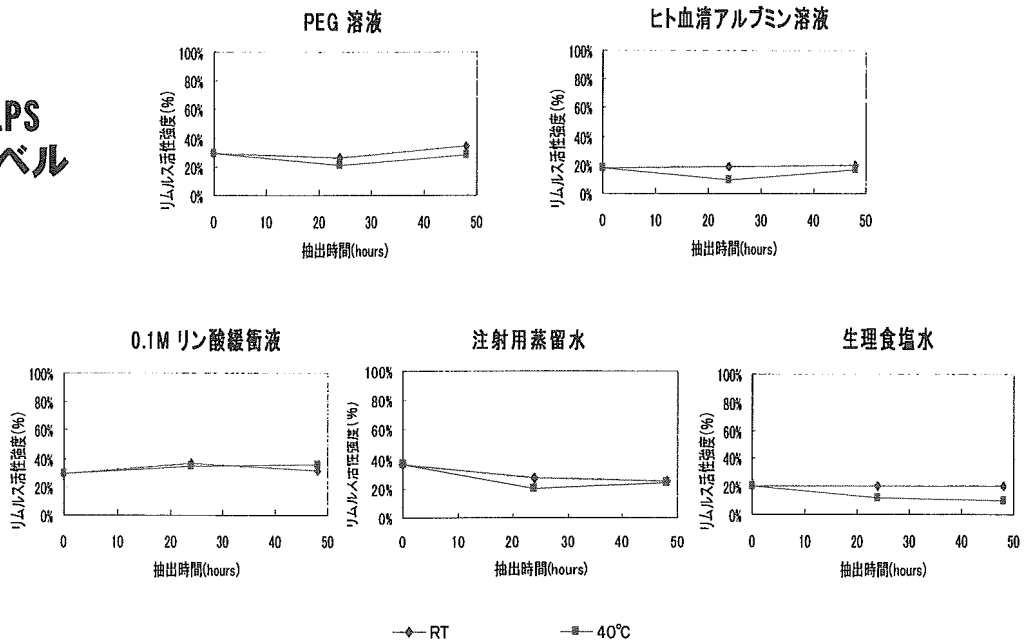


図7. アルギン酸からのエンドトキシン回収 (1)

菌体
レベル

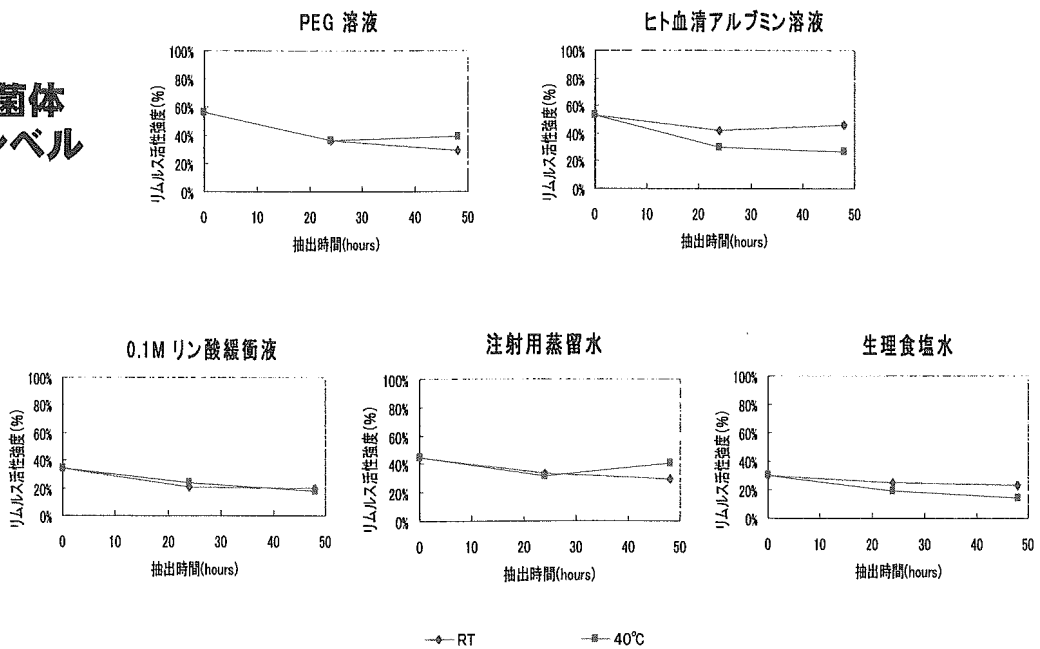


図8. アルギン酸からのエンドトキシン回収 (2)

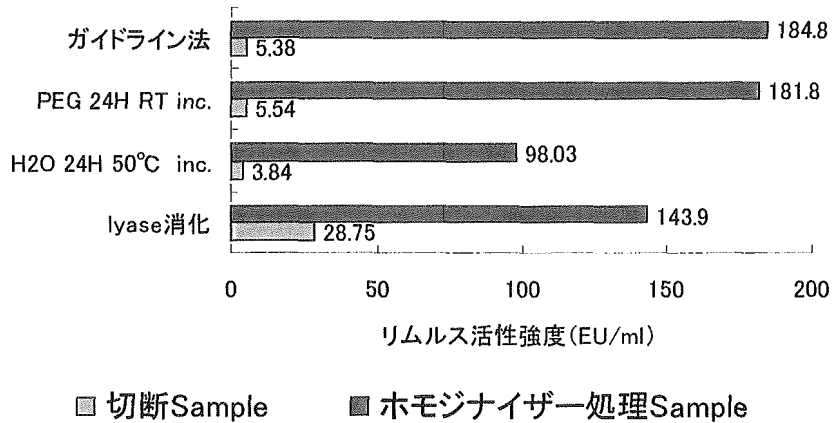


図9. アルギン酸からのエンドトキシン回収に関するホモジナイズ処理の影響

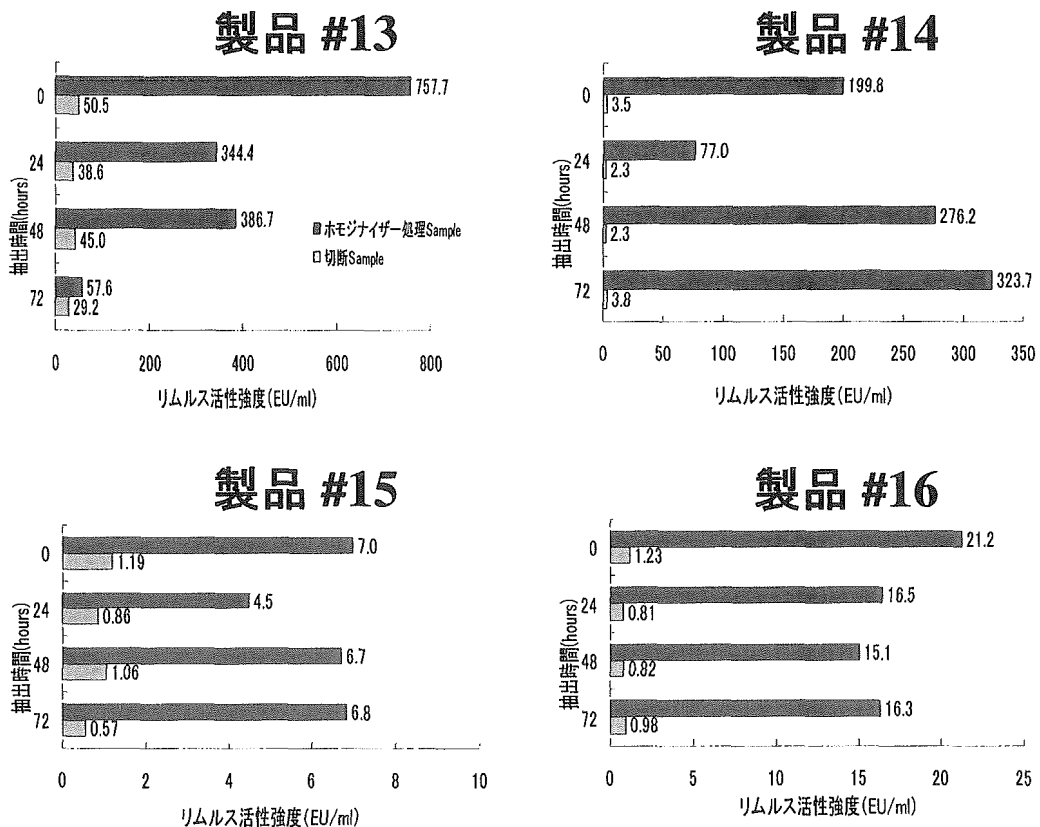


図10. アルギン酸製品からのエンドトキシン回収

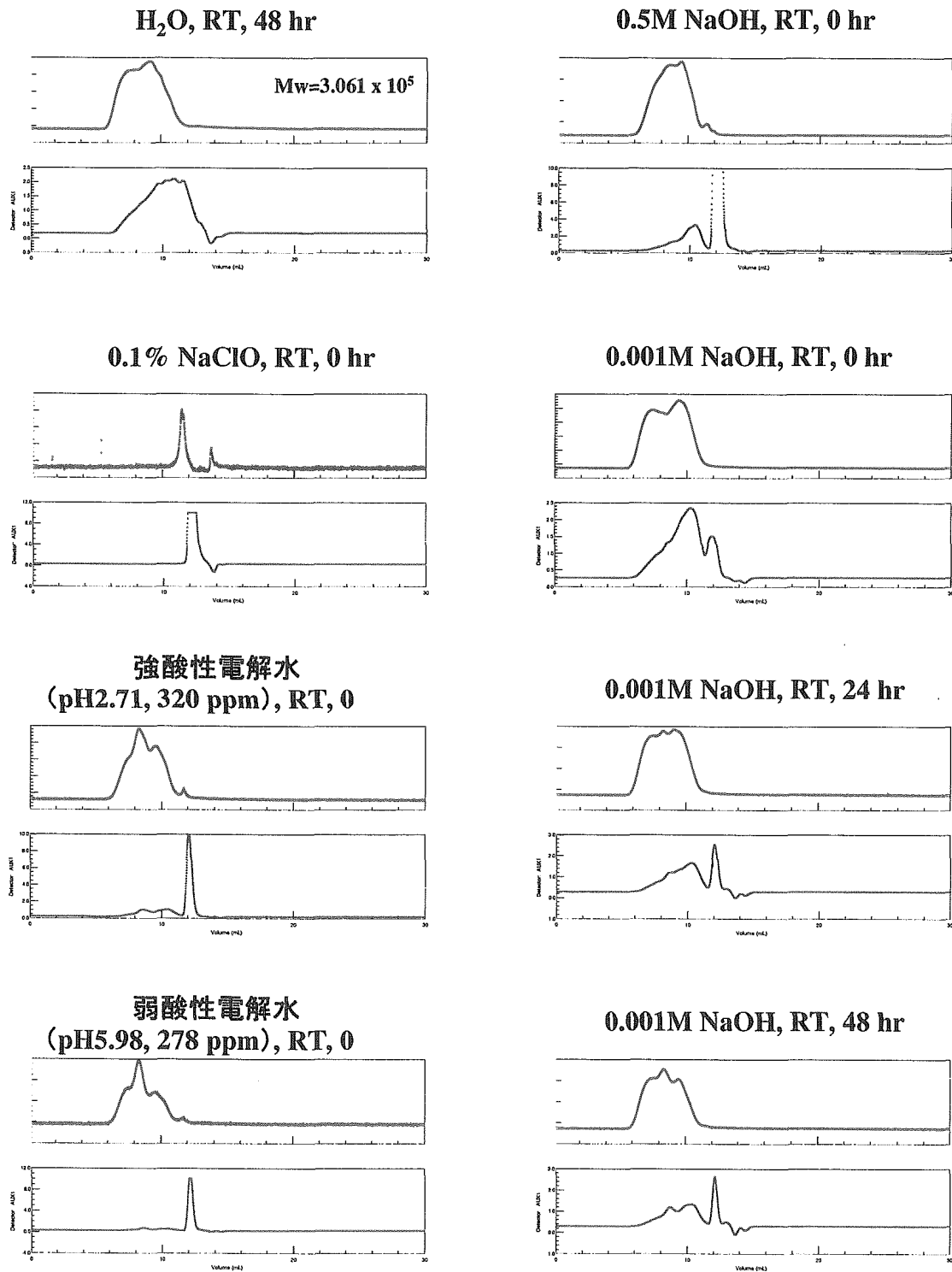


図11. 化学処理によるコラーゲンの分子量変化

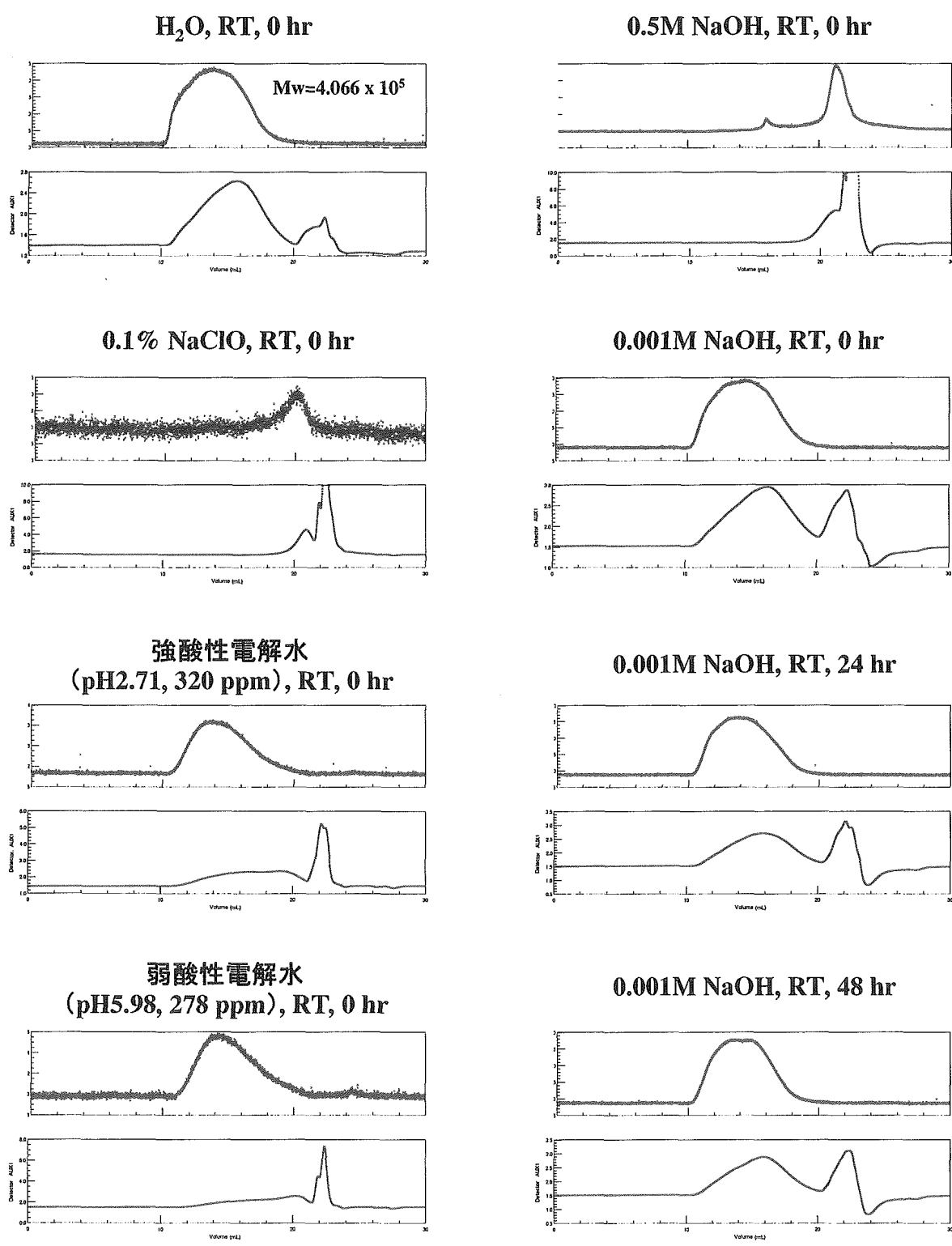


図12. 化学処理によるアルギン酸塩の分子量変化

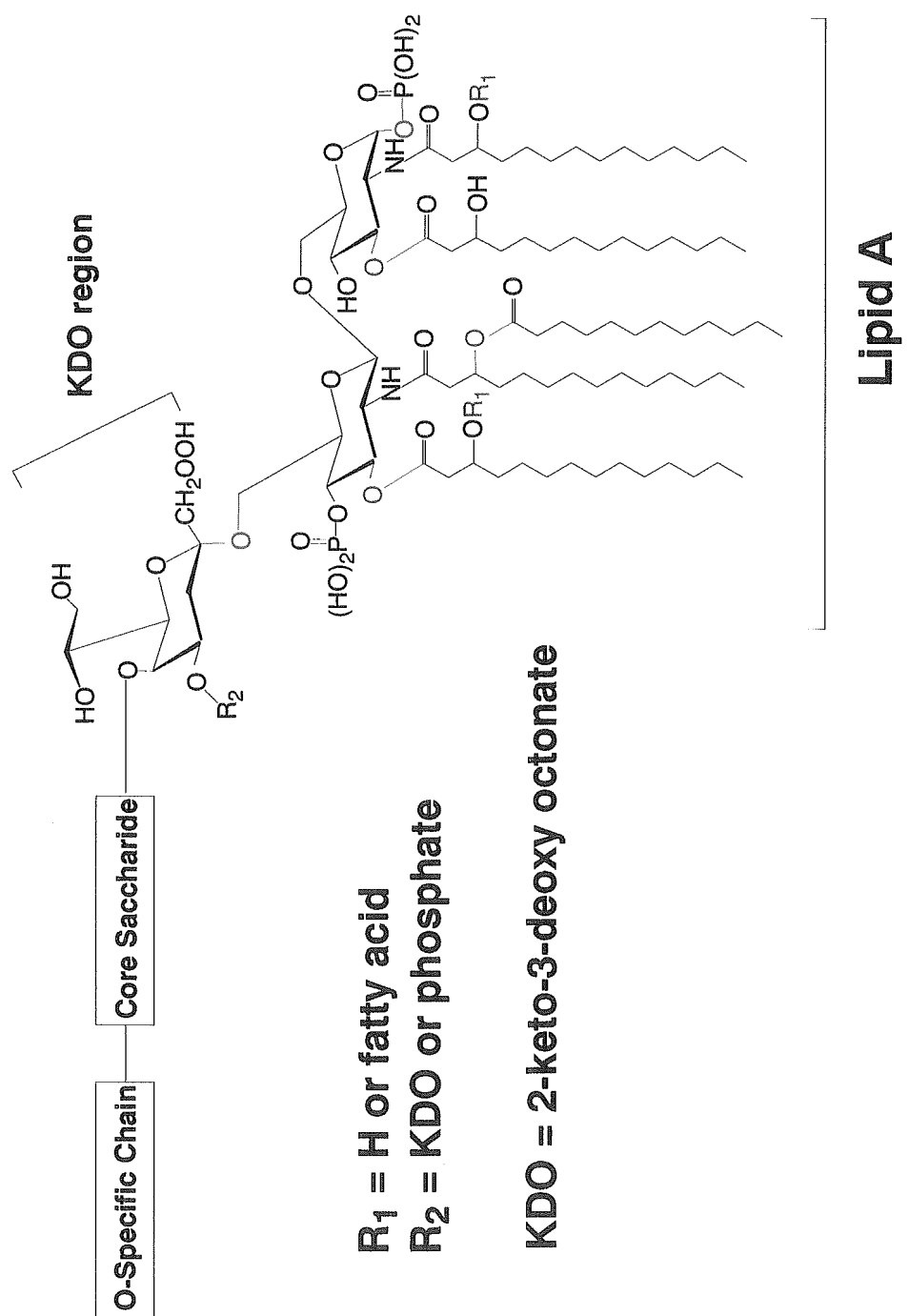


図13. エンドトキシンの一般的な化学構造

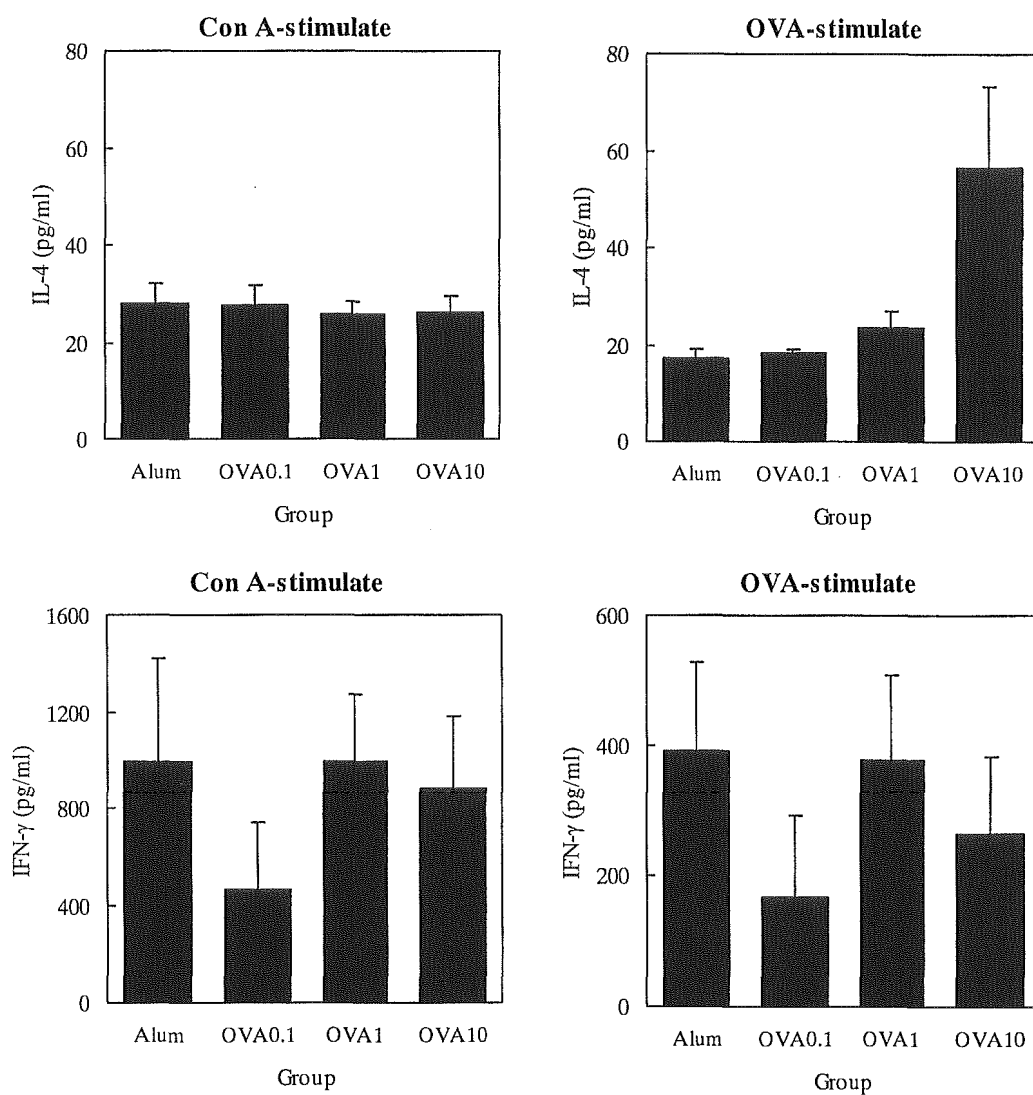
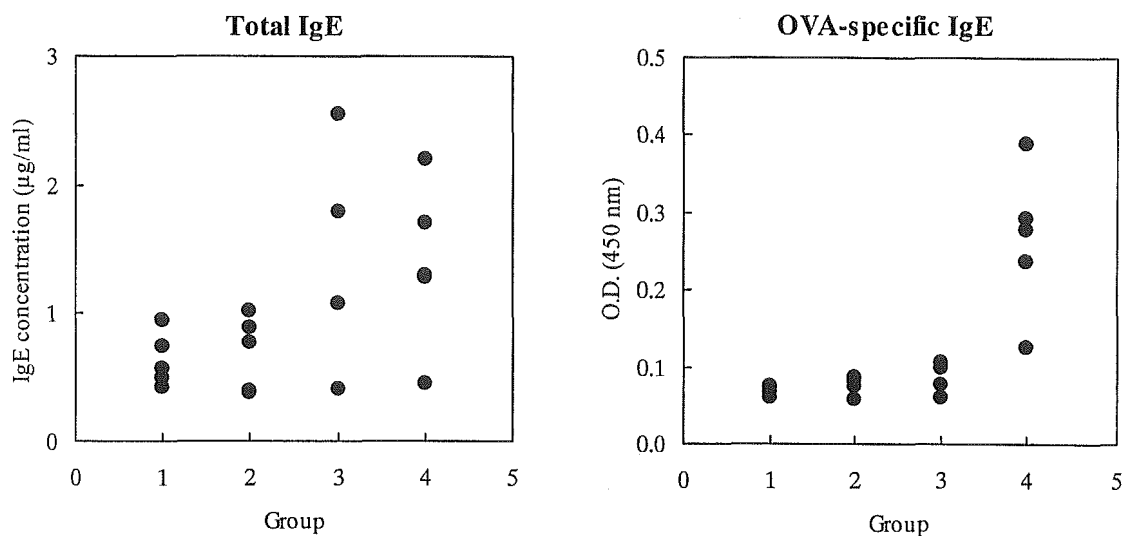


図14. OVA投与量の違いによるサイトカイン産生の変化

Groups of mice (n=5) received 200 μ l of 10 mg/ml Alum adjuvant - PBS solution containing various amount of OVA by intraperitoneal injection. Final concentration of OVA in injection solution was 0 μ g (Alum), 0.1 μ g (OVA0.1), 1 μ g (OVA1) and 10 μ g (OVA10), respectively. Same treatment repeated 7 days after. Fourteen days after the initial treatment, spleen was corrected and the cell suspension was prepared. These cells (5×10^6 cells/1 ml medium) were stimulated with 2 μ g/ml Con A or 100 μ g/ml OVA at a final concentration at 37°C for 48 or 72 h. After incubation, the supernatant was collected and the concentrations of IL-4 and IFN- γ were measured. Each value represent the mean \pm standard deviation (SD).



No.	Group	Total IgE ($\mu\text{g/ml}$)	OVA-specific IgE (O.D. 450 nm)
1	Alum alone	0.63 ± 0.21	0.069 ± 0.005
2	OVA 0.1 μg	0.69 ± 0.29	0.078 ± 0.011
3	OVA 1 μg	1.38 ± 0.82	0.084 ± 0.019
4	OVA 10 μg	1.38 ± 0.64	0.265 ± 0.095

図15. OVA投与量の違いが血清IgE抗体価に及ぼす影響

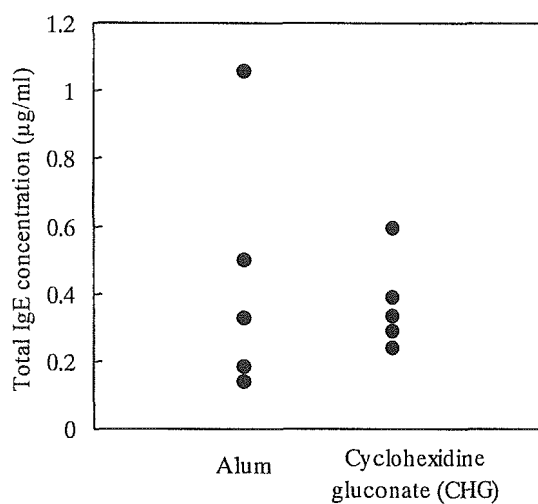


図16. Cyclohexidine gluconate (CHG)投与による血清中総IgE抗体価の変化
Groups of mice (n=5) received 200 μg CHG and Alum adjuvant by intraperitoneal injection. Same treatment repeated 7 days after. Fourteen days after the initial treatment, blood was corrected and the serum total IgE concentration was measured.

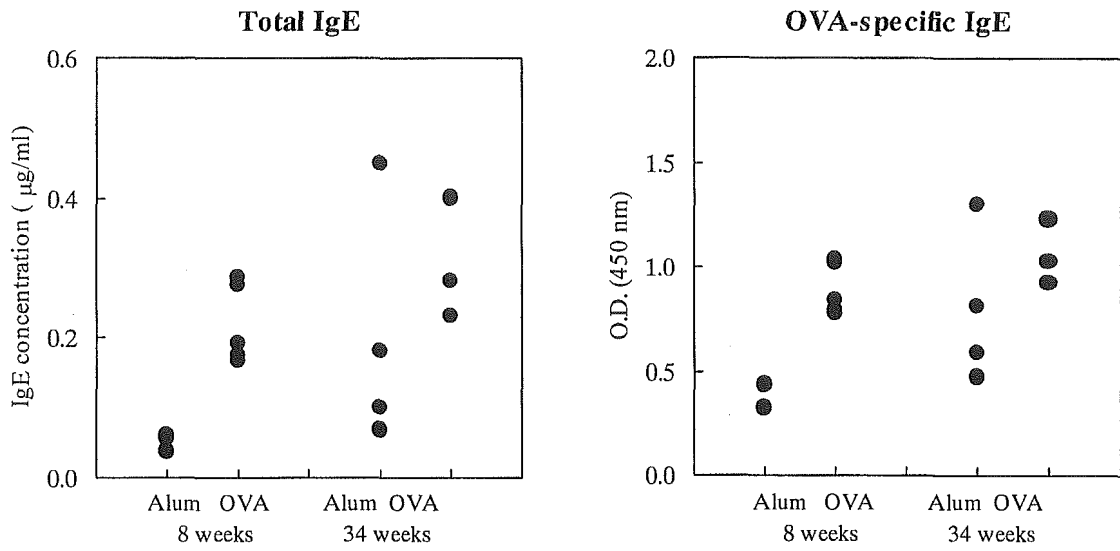


図17. マウスの週齢の違いと血清IgE抗体価の変化

No.	Group	Injection
2	OVA 2 times	2% OVA-PBS, 250 µl
1	PBS	PBS
3	OVA 4 times	2% OVA-PBS, 250 µl
4	Alum	Alum 2 mg in PBS 200 µl
5	OVA-Alum	OVA 10 µg + Alum 2 mg in PBS 200 µl

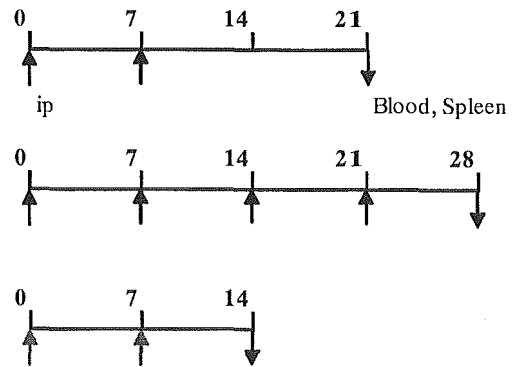


図18. 投与方法の検討(1) アジュバントを用いない方法と従来法の比較