

生医学材料としてのポリエーテルウレタン尿素の 合成と特性に関する研究

川上達也*1・藤原寛志*2・白石浩平*1・杉山一男*1・久永直克*3

Synthesis and Characterization of Polyetherurethaneureas Including Fluoroalkane Moieties as Biomedical Materials

Tatsuya KAWAKAMI*1, Hiroshi FUJIWARA*2, Kohei SHIRAISHI*1,
Kazuo SUGIYAMA*1, and Naokatu HISANAGA*3

Abstract

Polyurethaneureas (F-PEUU) including the fluorinated alkane moiety in the main chain were obtained from a typical two step polyaddition of polytetrahydrofuran (PTHF) to 4,4'-diphenyl methane diisocyanate (MDI) in the presence of perfluoroalkane diol (PFADO), such as 2,2,3,3,4,4,5,5-octafluoro-1,6-hexanediol (OFHDO) or 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-dodecafluoro-1,8-octanediol (DFODO), using ethylenediamine (EDA) as a chain extension reagent. Polyaddition with a molar ratio of 1:2:1 for PTFH + PFADO:MDI:EDA gave the F-PEUU in dimethyl sulfoxide, where the molar ratio of the PFADO moiety was changed from 0.1 to 0.3. From the contact angle measurement, it was found that the contact angle of water is increased from 71° to 91° with increasing the molar ratio of the PFADO moiety. This means that the introduction of the PFADO moiety into PEUU results in higher hydrophobicity of film surface. Scanning probe microscope (SPM) observation showed the micro-phase separation (sea-island) structure on the surface of the F-PEUU. From tension strength test, the elastic modulus and ultimate elongation of F-PEUU film were found to be 29.3MPa and 401%, respectively. In cell culture test, the F-PEUU films showed non-adhesiveness of HeLa cell. Because of their mechanical and biocompatible properties, F-PEUUs are expected to be useful materials as an artificial heart and blood vessel.

Key Words : Polyurethaneureas / Polyaddition / Fluorinated Alkane / Contact Angle /
Scanning Probe Microscope / Tension strength / HeLa cell

*1 近畿大学大学院システム工学研究科

*2 近畿大学工学部生物化学工学科

*3 サンユレック株式会社

*1 Graduate School of Systems Engineering, Kinki
University : 1 Takayaumenobe, Higashihiroshima,
Hiroshima, 739-2116

*2 Department of Biotechnology and Chemistry, Faculty
of Engineering, Kinki University.

*3 SANYU REC Co. Ltd : 3-5-1 Doucho Takatsuki Osaka
569-8558.

1. 緒言

特性の異なる2種以上のセグメントからなるブロック共重合体は、形成するマイクロ相分離構造がしばしば抗血栓性を示すことから、生医学用材料として用いられる。たとえば、互いに非相溶なハードセグメントとソフトセグメントがマイクロ相分離したマルチブロック共重合体であるセグメント化ポリエーテルウレタン尿素(SPEUU)^{1,2)}、アミド-シリコーンのマルチブロック共重合体^{3,5)}、あるいはポリ(エーテル-アミドアミン-尿素-ウレタン)ブロック共重合体⁶⁾が知られている。また、親水性セグメント[ポリ(2-ヒドロキシメチルメタクリレート): PHEMA]と疎水性セグメント[ポリスチレン: PS]からなるラメラ状のマイクロドメイン構造を有する PHEMA - PSt - PHEMA の ABA 型ブロック共重合体も抗血栓性を示すことが知られている⁷⁻⁹⁾。特に SPEUU は優れた抗血栓性と力学的特性を有するエラストマーで抗血栓性と耐久性が要求される人工心臓、人工心臓弁、人工血管用材料として臨床応用され、30年以上にわたって安定した成績を残している医用材料であるが一段レベルの高い抗血栓性と生体適合性が要求されている。

工業用材料であるポリマー材料を生医学材料に変換し、生体適合性、特に血液適合性を確保するには材料表面層の化学構造を制御してタンパク質の吸着および細胞の接着・増殖を制御することが重要である。表面の特性制御には3つの方法が考えられている。一つはヘパリンを含むポリマー^{6,10)}や2-(メタクリロイルオキシ)エチルホスホリルコリン(MPC)を1成分とするコポリマー^{11,12)}を塗布することである。この場合、材料の力学的性質の低下は見られず、血液成分と好ましい相互作用をするものの時間経過とともに塗布材料の剥離が起こる難点がある。二つ目はポリマー材料表面をグラフト重合により水溶性ポリマーで化学修飾してヒドロゲル層表面を創出する方法である^{13,16)}。杉山らは汎用のポリエチレンテレフタレート¹⁷⁾やポリプロピレンフィルム¹⁸⁾表面を生体適合性に優れた MPC を含むビニルポリマーで化学修飾して生医学材料に変換している。三つ目は、上述のように材料自体にマイクロ相分離構造(海島構造ともいわれる)を導入する方法である。

海島構造のSPUUについてもさらなる生体適合性の向上を目的に表面の化学修飾が実施されている。例えば、杉山らは血液適合性に優れた MPC のマクロモノマーを用いてリン脂質極性頭頂部(ホスファチジルコリン基)を表面に導入したSPUUを合成している¹⁹⁾。このSPUU表面は海島構造に加えてヒドロゲル層を形成するので優れた血液適合性を示した。一方、逆に疎水性を考慮したSPUUも提案している。例えばシリコーンは比較的血栓が形成され難いなど生理学的に不活性とされることから SPEUU の第3成分として1,3-ビス(3-ヒドロキシプロピル)-1,1,3,3-テトラメチルジシロキサンを導入したPEUUは血漿タンパク質であるアルブミンがよく吸着し、血栓の元となる血漿タンパク質のフィブリノーゲンの吸着や血小板の接着を阻止するので抗血栓性の向上がみられた²⁰⁾。また、シリコーンと同様に含フッ素ポリマーが低毒性²¹⁾と優れた機械的強度²²⁾のほかに表面自由エネルギーが小さい²³⁾ことから、SPUUのハードセグメントに疎水性でかつ強い分子間相互作用を示す基を導入するとソフトセグメントとの表面エネルギー差が大きくなり、マイクロ相分離構造がより明確になることが期待されることから、ハードセグメ

ント第3成分として各種フッ素置換ビフェニルジイル基を導入した²⁴⁾。一連のF-PEUUは、力学的性質に優れ、血漿タンパク質アルブミンが単一層で吸着することなどを明らかにした。ちなみに、仲矢らは2-(パーフルオロオクチル)エチルメタクリレートをグラフトしたセグメント化PEUUを開発している²⁵⁾。

本研究では、生体とさらに好ましい相互作用ができる新規な生医学用含フッ素ポリエーテルウレタン尿素(F-PEUU)を得た。即ち、ハードセグメントの疎水性の向上を目的に第3成分としてペルフルオロアルキル鎖(R_f)を導入したF-PEUUを合成し、接触角や走査型プローブ顕微鏡(SPM)測定などによる表面特性や引張り強度、最大伸び率などの力学的特性の評価を行うとともに、細胞接着性から血液適合性を検討した。

2. 実験

2.1 試薬

2.1.1 合成用試薬

4,4'-ジイソシアナ酸メチレンジフェニル(MDI)、2,2-ビス(4-ヒドロキシフェニル)ヘキサフルオロプロパン(BHPHFP)、2,2,3,3,4,4,5,5-オクタフルオロ-1,6-ヘキサジオール(OFHDO)、2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-ドデカフルオロ-1,8-オクタジオール(DFODO)ジメチルスルホキシド(DMSO)、ジメチルホルムアミド(DMF)は東京化成製、エチレンジアミン(EDA)は和光純薬製、ポリテトラヒドロフラン1000(PTHF1000)はMERCK製をそのまま用いた。

2.1.2 生化学的実験用試薬

2.1.2.1 Minimum Essential Medium (pH 7.2)の調製

MEM powder (GIBCO) 9.6 g を 950 mL の超純水に溶かし、2.2 g の NaHCO₃ を加え、塩酸で pH を 7.2 とした後、1 L にメスアップした。クリーンベンチ内で 0.22 μm フィルター DURAPORE MEMBRANE FILTERS (MILLIPORE) を用いてフィルター滅菌し、4°C で保存した。

2.1.2.2 ウシ胎児血清(Fatal calf serum: FCS)の調製

解凍した FCS (Cell Culture Technologies) を容器ごと 56°C の温浴につけ 30 min 加温し、血清の非働化を行った。放冷後、ろ紙でろ過し、クリーンベンチ内でフィルター滅菌し、-20°C で保存した。

2.1.2.3 細胞培養培地(MEM)の調製

Minimum Essential Medium: FCS: Non essential amino acid (NEAA) を 90:10:1 の割合で調製した。MEM は細胞培養のための培地として調製した。HeLa 細胞を培養するときは、FCS を用いた。

2.1.2.4 0.25%トリプシン-0.02%EDTAの調製

トリプシン(和光純薬)0.25 g と EDTA 0.02 g を 100 mL の PBS(pH:7.4) に溶かし、クリーンベンチ内でフィルター滅菌し、-20°C で保存した。

2.1.2.5 トリパンブルー溶液の調製

PBS (pH:7.4) 100 mL にトリパンブルー 0.5 g を溶解して調製した。

2.2 含フッ素ポリエーテルウレタンウレア(F-PEUU)の合成

かき混ぜ装置、玉付き冷却管を備えた 300mL の四つ

口フラスコにポリテトラヒドロフラン(PTHF) 6.00g と 2, 2-ビス(4-ヒドロキシフェニル)ヘキサフルオロプロパン(BHPHFP)1.35g の DMSO 溶液 50mL を入れ、そこに 4, 4'-ジイソシアン酸メチレンジフェニル(MDI) 5.01g の DMSO 溶液 50mL を加え、112°C で 3h かき混ぜ含フッ素ポリエーテルウレタン(F-PEU-2)とする。その後、反応液を 20°C に冷却し、鎖延長剤エチレンジアミン(EDA) 0.60g の DMSO 溶液 30mL を加え、1h かき混ぜた。反応終了後、メタノール中に抽入して含フッ素ポリエーテルウレタンウレア(F-PEUU-2)を得た。収量は乾燥重量から求めた。同様にして、2,2,3,3,4,4,5,5-オクタフルオロ-1,6-ヘキサンジオール(OFHDO), 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-ドデカフルオロ-1,8-オクタンジオール(DFODO)とポリテトラヒドロフラン(PTHF)の仕込みモル比を変えた重付加反応から F-PEUU-3,-4 を得た。

2.3 ポリマーフィルムの作製

F-PEUUs 0.75g を溶解した DMF 溶液 15mL をテフロンシート上に展開し、60°C 常圧で溶媒を蒸発させた後、エタノールに浸漬したのち、F-PEUU フィルム(厚さ $d=0.1\sim 0.3\text{mm}$)は減圧下で真空乾燥を行って得た。

2.4 溶解性試験

F-PEUUs 0.01g を 10mL の有機溶媒に入れて 24h 後の溶解度を調べた。用いた溶媒は DMSO, DMF, テトラヒドロフラン, アセトン, クロロホルム, メタノールである。

2.5 接触角の測定

F-PEUUs の接触角は温度調節器付きのエルマ製ゴニオメーター式・接触角測定機 G-1 型を用いて、室温で基板の上に 15 μL の水あるいはナタネ油の液滴を置き、液滴の画像上の左右の接触角を測定した。測定は計 5 回のうち、最大値と最小値を除いた平均を接触角とした。

2.6 引張り強度試験

引張り強度試験は 15mm \times 15mm に切りだした F-PEUUs フィルム(厚さ 0.10mm)短冊型試験片を引張り強度試験機(デジタル制御万能材料試験機 5566-INSTRON 製)を用い、チャック間距離 1.0cm, 引張り速度 10mm min^{-1} で測定した。

2.7 細胞接着剥離試験

細胞の接着剥離試験には HeLa 細胞を用いた。F-PEUUs フィルムは光学フィルム固定用透明両面テープ CS-9611[日東電工(株)]をフィルムの裏面に貼り付け、4 ウェルマイクロプレート(ウェルサイズ 15mm)(FALCON)に固定した。クリーンベンチ中の UV 滅菌灯下にマイクロプレートの蓋を開けて静置、F-PEUUs フィルムを 1h, UV 照射して滅菌した。F-PEUUs フィルム表面をオートクレーブ滅菌済のリン酸緩衝生理食塩水(PBS:7.3)にて 2 回洗浄した。HeLa 細胞を 10%ウシ胎児血清含有 MEM 培地で培養した。その後、1mL のトリプシン溶液(0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$)を添加して HeLa 細胞を剥離し、浮遊細胞濃度を

3 $\times 10^4$ cells/mL に調整後、1mL を F-PEUU フィルムを固定化した well 上加え、インキュベーター中、5% CO_2 雰囲気下、37°C、8h 培養した。培養後、倒立型ルーチン顕微鏡(CKX31: OLYMPUS)を用いてフィルム表面の観察を行った。その後、さらに PBS にて F-PEUUs フィルムを 3 回洗浄し、顕微鏡にてフィルム表面を観察した(Fig.1)。



Fig.1 Schematic representation of HeLa cell adhesion-elimination.

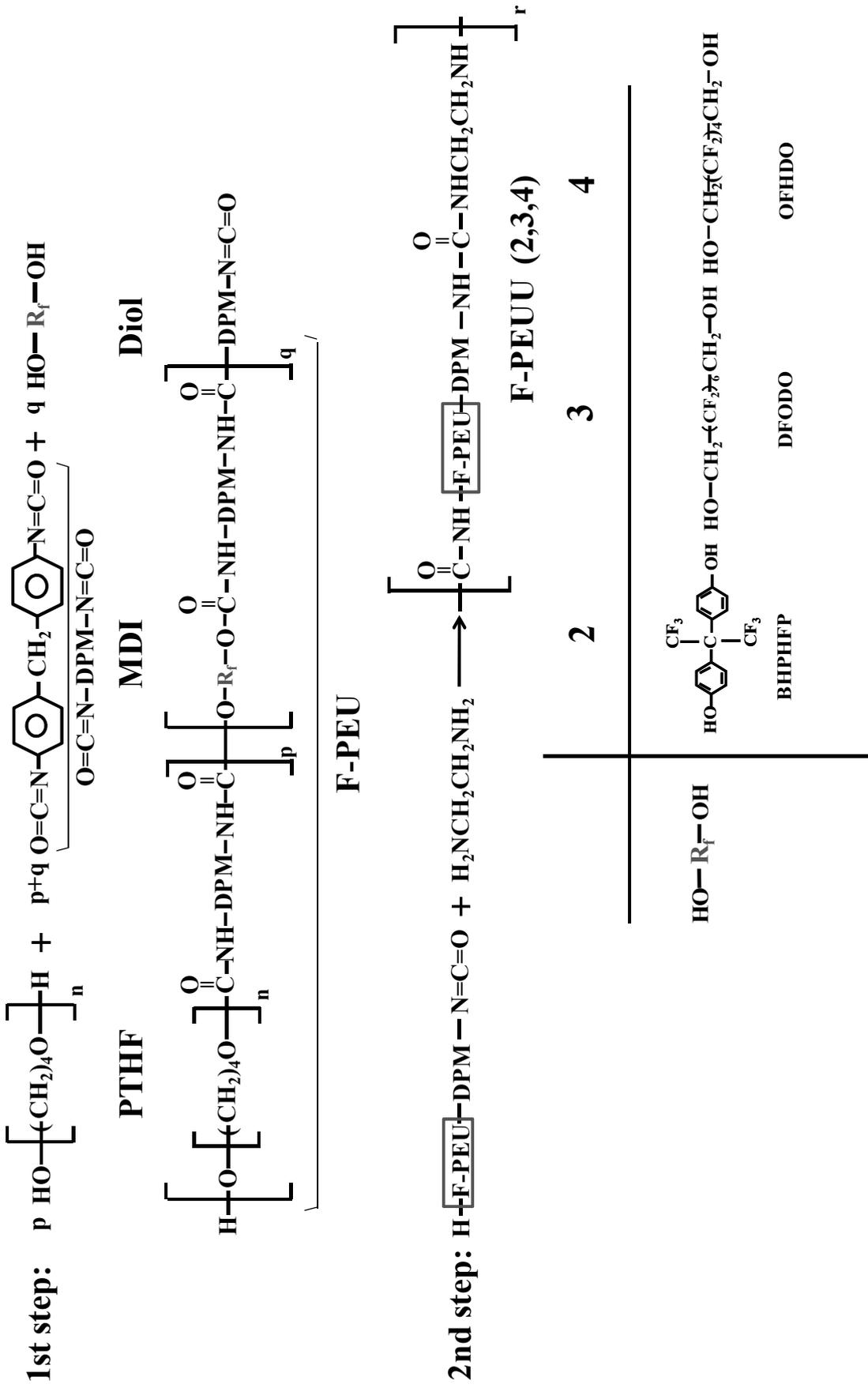
2.8 機器分析

熱重量分析(TG)は Rigaku 製 TG8120 を用い、測定は試料 5.0mg, 標準試料として Al_2O_3 を用い、昇温速度 5°C/min で測定温度範囲は 40~500°C で測定した。FT-IR の測定は SHIMADZU FT-IR-8100A を用いて行った。フィルム状の F-PEUU はそのまま測定した。また、F-PEUUs フィルムの表面性状を走査型プローブ顕微鏡(SPM)で観察し、画像処理による粘弾性特性から表面性状を評価した。

3. 結果と考察

3.1 F-PEUU の合成

人工血管, 人工心臓, 人工心臓弁など人工臓器用材料にとどまらず, 他の生医学材料としての F-PEUU の抗血栓性の向上を目的に部分フッ素化を試みた。ここにソフトセグメントには分子量 1000 のポリテトラヒドロフラン(PTHF)を採用しハードセグメントには 4,4'-ジイソシアン酸メチレンジフェニル(MDI)を採用した。第 3 セグメント(HO-R_f-OH)として OFHDO あるいは DFODO を用いた。このとき, HO-R_f-OH の諸物性に及ぼす影響を知るため HO-R_f-OH と PTHF の仕込み比を 0.0~1.0 と変化した反応経路を Scheme 1 に示し, 重合結果を Table 1 にまとめる。



Scheme 1 Synthesis of polyetherurethaneureas

Table 1 Results of preparation of fluorinated poly(etherurethaneurea)s.

| F-PEUU ¹⁾ | Molar ratio in feed | | | | PTHF g(mmol) | HO-R _r -OH g(mmol) | MDI g(mmol) | EDA g(mmol) | Yield | | Contact angle (degree) | |
|----------------------|--|-----|-----|-----|-----------------|----------------------------------|----------------|----------------|-------------|------|------------------------|-----------|
| | PTHF : HO-R _r -OH : MDI : EDA | | | | | | | | g(%) | | Water | Colza oil |
| | BHPHP | | | | | | | | | | | |
| 1 | 1.0 | 0.0 | 2.0 | 1.0 | 10.00 (10.00) | — | 5.01 (20.00) | 0.60 (10.00) | 13.5 (86.6) | 80.3 | — | — |
| 2 | 0.6 | 0.4 | 2.0 | 1.0 | 6.00 (6.00) | 1.35 (4.00) | 5.01 (20.00) | 0.60 (10.00) | 9.65 (74.5) | 85.5 | 36.5 | 36.5 |
| | DFODO | | | | | | | | | | | |
| 3-1 | 0.8 | 0.2 | 2.0 | 1.0 | 8.00 (8.00) | 0.72 (2.00) | 5.01 (20.00) | 0.60 (10.00) | 11.7 (81.4) | 71.0 | — | — |
| 3-2 | 0.6 | 0.4 | 2.0 | 1.0 | 6.00 (6.00) | 1.45 (4.00) | 5.01 (20.00) | 0.60 (10.00) | 11.3 (86.8) | 80.5 | 29.1 | 29.1 |
| 3-3 | 0.4 | 0.6 | 2.0 | 1.0 | 4.00 (4.00) | 2.17 (6.00) | 5.01 (20.00) | 0.60 (10.00) | 10.2 (86.7) | 80.9 | 20.0 | 20.0 |
| 3-4 | 0.2 | 0.8 | 2.0 | 1.0 | 2.00 (2.00) | 2.90 (8.00) | 5.01 (20.00) | 0.60 (10.00) | 10.4 (98.6) | 85.3 | 27.0 | 27.0 |
| | BFOFO | | | | | | | | | | | |
| 3-5 | 0.0 | 1.0 | 2.0 | 1.0 | — | 3.62 (10.00) | 5.01 (20.00) | 0.60 (10.00) | 8.83 (95.7) | 90.9 | 33.5 | 33.5 |
| 4-1 | 0.8 | 0.2 | 2.0 | 1.0 | 8.00 (8.00) | 0.52 (2.00) | 5.01 (20.00) | 0.60 (10.00) | 12.1 (86.6) | 83.5 | 70.6 | 70.6 |
| 4-2 | 0.6 | 0.4 | 2.0 | 1.0 | 6.00 (6.00) | 1.05 (4.00) | 5.01 (20.00) | 0.60 (10.00) | 11.3 (75.4) | 84.3 | 48.5 | 48.5 |
| 4-3 | 0.4 | 0.6 | 2.0 | 1.0 | 4.00 (4.00) | 1.57 (6.00) | 5.01 (20.00) | 0.60 (10.00) | 10.2 (85.3) | 84.8 | 30.6 | 30.6 |
| 4-4 | 0.2 | 0.8 | 2.0 | 1.0 | 2.00 (2.00) | 2.09 (8.00) | 5.01 (20.00) | 0.60 (10.00) | 7.40 (76.5) | 79.1 | 20.5 | 20.5 |
| 4-5 | 0.0 | 1.0 | 2.0 | 1.0 | — | 2.62 (10.00) | 5.01 (20.00) | 0.60 (10.00) | 7.50 (90.8) | 86.0 | 16.1 | 16.1 |

1) Reaction condition: 1st step: DMSO 50mL, 112°C, 3h. 2nd step: 20°C, DMSO 30 mL, 1h.

F-PEUU の合成結果から、いずれの合成反応においても高収率(74.5~98.6%)であった。FT-IR 測定から、 1720cm^{-1} 付近のピークがウレタン(NHCOO)結合と尿素(NHCONH)結合と帰属され、 1200cm^{-1} 付近のピークが C-F 結合に帰属できることから F-PEUU の構造を確認した。

3.2 F-PEUU の溶解性試験

F-PEUU の有機溶剤への溶解性試験の結果を Table 2 に示す。

Table 2 Solubility of F-PEUU to various organic solvents.

| F-PEUU | Molar ratio in feed | | Solubility ^{a)} | | | | |
|--------|---------------------------------|-------|--------------------------|-----|-----|-------------------|------|
| | HO-R-OH : HO-R _n -OH | | DMSO | DMF | THF | CHCl ₃ | MeOH |
| 1 | PTHF | BHPHP | ○ | ○ | × | × | × |
| 2 | 0.6 | 0.4 | ○ | × | × | × | × |
| 3-1 | DFODO | 0.2 | ○ | ○ | × | × | × |
| 3-2 | 0.6 | 0.4 | ○ | ○ | × | × | × |
| 3-3 | 0.4 | 0.6 | ○ | ○ | × | × | × |
| 3-4 | 0.2 | 0.8 | ○ | ○ | × | × | × |
| 3-5 | 0.0 | 1.0 | ○ | ○ | × | × | × |
| 4-1 | OFHDO | 0.2 | ○ | ○ | × | × | × |
| 4-2 | 0.6 | 0.4 | ○ | ○ | × | × | × |
| 4-3 | 0.4 | 0.6 | ○ | ○ | × | × | × |
| 4-4 | 0.2 | 0.8 | ○ | ○ | × | × | × |
| 4-5 | 0.0 | 1.0 | ○ | ○ | × | × | × |

a) ○は可溶, ×は不溶を示す。

F-PEUU の溶解性試験から、すべての F-PEUU は DMSO と DMF に溶解したが THF, CHCl₃, MeOH には不溶であった。これは F-PEUU が優れた耐薬品性をもつことを意味する。なおビスフェノール基 BHPHP を含まない F-PEUU-1 は不溶であった。

3.3 接触角試験

フィルムの接触角の結果を Fig.2,3 に示す。仕込み時、含フッ素ジオール HO-R_n-OH の仕込みモル比が増加すると水およびナタネ油の接触角ともに増加した。これはフッ素原子のもつ高い疎水性が大きいことによる。とくに水の接触角の結果から F-PEUU は高い疎水能力があるため、細胞非接着表面すなわち、血液細胞である血小板の非接着表面であることが期待できる。

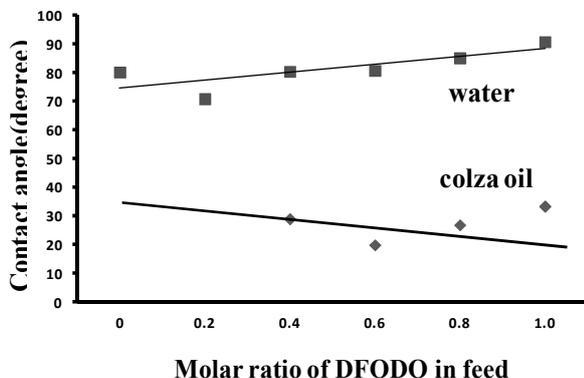


Fig.2 The effect of molar ratio of DFODO on the contact angle of F-PEUUs film at room temperature.

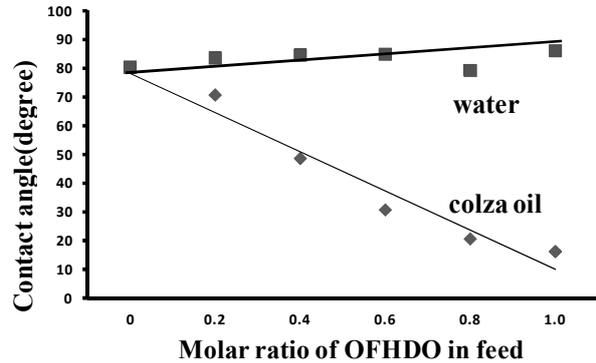


Fig.3 The effect of molar ratio of OFHDO on the contact angle of F-PEUU films at room temperature.

3.4 SPM 観察

PEUU ではマイクロ相分離構造が抗血栓性を発揮するため重要であることから F-PEUU の表面性状を確認するために SPM 観察した。結果を Fig4 に示す。

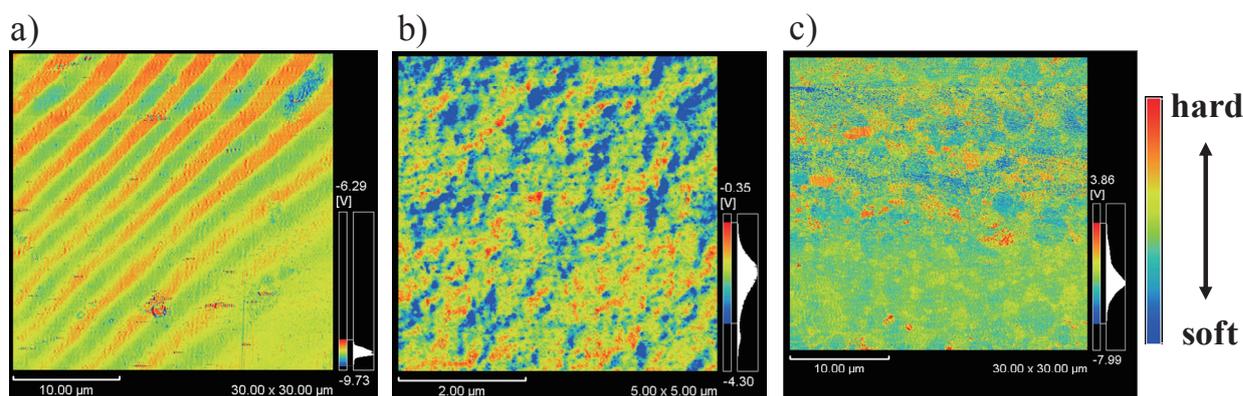


Fig.4 SPM images(phase mode) of F-PEUU films in air at 25°C.(a): 2, (b): 3-2, (c): 4-2.

SPM 観察から, b)と c)ではソフトセグメント(緑青色部)の海の中にハードセグメント(赤橙色部)の島が存在するマイクロ相分離構造(海島構造)を確認した. この構造をもつことから F-PEUU_s フィルム表面への細胞の接着が抑制されることが期待できる. また F-PEUU-1(a)ではラメラ構造を示した. これは F-PEUU-1 の合成で用いた 2, 2-ビス(4-ヒドロキシフェニル)ヘキサフルオロプロパン(BHPHP)の水素とフッ素の原子半径の違いによるものだと考えられる. また, このラメラ構造は海島構造が発展したものだと考えた.

3.5 引張り強度試験

人工血管, 人工心臓, 人工心臓弁などは血小板に触れるため水に濡れた状態での引張り強度や曲げ強度が重要な要素となる. そこで生医学材料として F-PEUU フィルムが用いられるか否かを知る目的で空気中における力学的特性を万能試験機を用いて測定した. 応力-ひずみ曲線を Fig.5 に示す. Fig.5 から得られた F-PEUU_s フィルムの引張り強度(MPa), 弾性率(MPa), 最大引張り荷重(N), 伸び率(%)を Table 3 にまとめる.

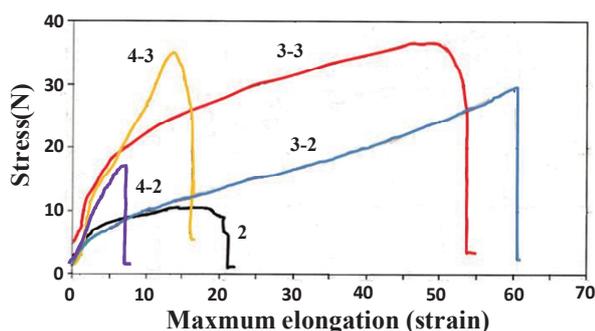


Fig.5 Stress-maximum elongation curves of various F-PEUU films.

Table 3 Mechanical properties of various F-PEUU films.*

| FPEUU | Tensile strength (MPa) | Maximum tensile load (N) | Tensile modulus (MPa) | Maximum elongation (mm) | Ultimate elongation (%) |
|-------|------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|
| 2 | 10.8 | 11.0 | 152.8 | 14.7 | >97.9 |
| 3-2 | 29.3 | 29.0 | 70.3 | 60.1 | >401 |
| 3-3 | — | — | 183.0 | 48.7 | >324 |
| 4-2 | 9.07 | 9.00 | 228.5 | 5.35 | >35.7 |
| 4-3 | — | — | 151.7 | 13.7 | >91.1 |

*With of test piece 15.0mm.

引張り強度試験より,ほとんどの F-PEUU において弾性率が PTFE よりも低いことから F-PEUU は柔軟性に富んでいること認めた. 中でも 2-2 は柔軟性, 引張り強度ともに PTFE と近い,あるいは超える数値であった. F-PEUU の高い柔軟性は自信の海島構造による. このことをから F-PU にもポリエーテルセグメントを導入すると柔軟性が向上し, より多くの生医学材料としての応用が可能となることが考えられる.

3.6 細胞接着-剥離試験

F-PEUU_s フィルムの抗血栓性の程度を調べるため血小板の代替として接着性に富んだ HeLa 細胞の接着剥離試験を行った. HeLa 細胞は F-PEUU_s フィルムに 3.0×10^4 cell/mL 播種し, PBS(pH7.4)で3回洗浄を行った F-PEUU_s フィルムの顕微鏡写真を Fig.6 に示す. 一部のフィルムでは接着・剥離の状態を確認しやすくするために蛍光染色を行った. 左が細胞培養後, 右が洗浄後の写真である. 剥離率(%)の算出法は下記に示す.

$$\text{剥離率 (\%)} = \frac{\text{洗浄後の細胞数} - \text{培養後の細胞数}}{\text{洗浄後の細胞数}} \times 100$$

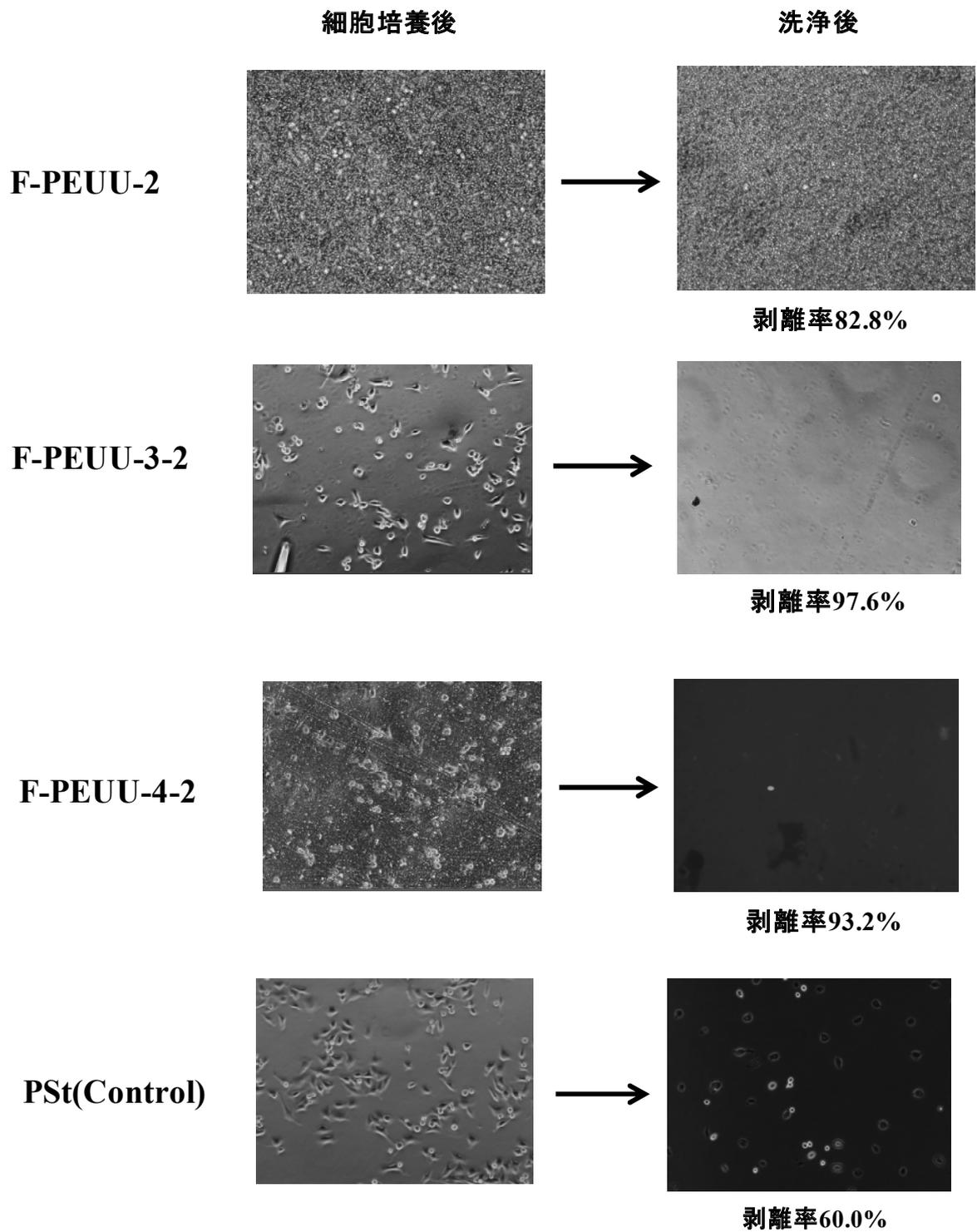


Fig.6 The micrographs of HeLa cell adhesion-elimination test on 2, 3-2, 4-2, PSt(Control) films.

細胞接着剥離試験の結果から、Control は細胞剥離率が 60.0%と高くなかったが、F-PEUUs フィルムは細胞剥離率の低いものでも 82.8%とほとんど細胞接着はみられなかったことから非常に高い細胞非接着能力があることを認めた。これはフッ素を導入したことにより高い疎水能力が働いたことや、F-PEUUs フィルム特有の弾性力が細胞の接着を抑制したためだと考えられる。また、HeLa 細胞は、血液細胞と類似している HL60 細胞などと比べはるかに高い接着能力を持つことが知られている。このことから F-PEUUs フィルムは非常に高い抗血栓性能力を持つことが考えられ、人工血管などの医療材料としての利用を期待できる。

4. 結言

1) SPM 測定から、F-PEUU は 2 種類の異なるセグメントをもつマイクロ相分離構造あるいはラメラ構造であることから細胞非接着面であると判断した。

5. 参考文献

- 1) 高原 淳, 梶山千里, 高分子論文集, 42, 793 (1985).
- 2) 高原 淳, 是久金造, 高橋弘造, 梶山千里, 高分子論文集 49, 793 (1992).
- 3) 古菌 勉, 岸田昌夫, 明石 満, 丸山征郎, 宮崎 剛, 鯉沼康美, 松本竹男, 人工臓器, 22, 370(1993).
- 4) T. Furuzono, E. Yashima, A. Kishida, I. Maruyama, T. Matsumoto and M. Akashi, *J.Biomater. Sci., Polym Edn.*, 5, 89(1993).
- 5) A. Kishida, T. Furuzono, T. Ohshige, I. Maruyama, T. Matsumoto and H. Itoh, M. Murakami and M. Akashi, *Angew. Macromol. Chem.*, 220, 89(1994).
- 6) M. C. Tanzi, M. Levi, M. Muttoni, G. Tieghi and R. Fumero, *Adv. Biomater. (Biomater. Clinic. Appl.)*, 7, 427(1987).
- 7) T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, T. Akaike, Y. Sakurai, K. Kataoka and T. Tsuruta, *J.Biomed.Mater.Res.*, 15, 393(1981).
- 8) T. Okano, T. Aoyagi, K. Kataoka, K. Abe, Y. Sakurai, M. Shimada and I. Shinohara, *J.Biomed.Mater.Res.*, 20, 919(1986).
- 9) T. Okano, K. Suzuki, N. Yui, Y. Sakurai and S. Nakahama, *J. Biomed.Mater.Res.*, 27, 1519(1993).
- 10) S. Nagaoka, T. Kikuchi and Y. Mori, *Jpn. Patent* 82,119,756(1982).
- 11) K. Ishihara, H. Hanyuda and N. Nakabayashi, *Biomaterials*, 16, 873(1995).
- 12) K. M. DeFife, J.K. Yun, A. Azeez, S. Stack,

2) 接触角測定と細胞接着 - 剥離試験から、高い疎水性と細胞非接着性を認めた。このことから F-PEUUs フィルムは非常に優れた抗血栓性をもつと認めた。

3) 引張り強度試験から、F-PEUUs フィルムは PTFE 以上の優れた強度と柔軟性をもつことから多様な生医学材料への応用が可能であることを認めた。

4) 細胞接着剥離試験から F-PEUUs フィルムへの血液細胞と類似する HeLa 細胞の接着が確認されなかったことから血液細胞についても接着しないと判断した。したがって F-PEUUs フィルムは高い抗血栓性をもつことを認めた。

以上のことから、F-PEUU は優れた生医学材料への応用が可能であると結論づけた。高い機械的強度と優れた生体適合性、抗血栓性を持つことから人工心臓や人口弁、人工血管などへの利用が期待できる。

- K. Ishihara, N. Nakabayashi, E. Colton, and J. M. Anderson, *J.Biomed.Mater.Res.*, 29, 431(1995).
- 13) P. T. Cahalan and M. Verhoeven, *U.S. Patent* 52, 29, 172(1993).
- 14) S. Q. Lin, Y. Ito, and Y. Imanishi, *J.Biomed.Mater.Polym.*, 1, 111(1989).
- 15) C. Nojiri, T. Okano, H. A. Jacobs, K. D. Park, S. F. Mohammad, D. B. Olsen, And, S. W. Kim, *J.Biomed.Mater.Res.*, 24, 1151(1990).
- 16) C. H. Bamford, K. G. Al-Lamee, Y. P. Yianni, and M. C. Wiles, WO-93/05081(1993).
- 17) K.Sugiyama, K.Kato, M.Kido, K.Shiraishi, K.Ohga and O.Matsuo, *Macromol. Chem. Phys.*, 199, 1201(1998).
- 18) K.Sugiyama, T.Matsumoto and Y.Yamazaki, *Macromol. Mater. Eng.*, 282, 5(2000).
- 19) 杉山一男, 福地幹夫, 岸田昌夫, 明石 満, 門磨義仁, 高分子論文集, 53, 48(1996).
- 20) 杉山一男, 白石浩平, 磯部佳愛, 日本化学会誌, 816 (1997)
- 21) C. A. Homsy, *J.Biomed.Mater.Res.*, 4, 341 (1970).
- 22) 山下岩男, 表面, 17, 776(1979).
- 23) D. J. Lyman and K. G. Klein, *Thromb.Diath.Haenorrh.*, 23, 120(1970).
- 24) 杉山一男, 秋田修作, 友井陽子, 花木香織, 白石浩平, 上田兼司, 日化誌, 139(1997)
- 25) T.Tomita, Y.-J. Li and T.Nakaya, *Macromol. Chem. Phys.*, 204, 2113 (2003).

