

---

## 医用高分子材料の生体適合性に関する研究

Studies on the biocompatibility of biomedical polymers

代表研究者	東京女子医科大学日本心臓血管研究所教授 桜井 靖久 Prof., Dept. of Surgical Sci., Heart Inst. of Japan, and Inst. of Medical Eng., Tokyo Women's Medical College Yasuhisa SAKURAI
協同研究者	東京大学工学部教授 鶴田 穎二 Prof., Faculty of Eng., Univ. of Tokyo Teiji TSURUTA
	東京大学工学部教授 井上 祥平 Prof., Faculty of Eng., Univ. of Tokyo Shohei INOUE
	東京農工大学工学部教授 坂奥 喜一郎 Prof., Faculty of Tech., Tokyo Univ. of Agriculture Kiichiro SAKAOKU
	東京農工大学工学部助教授 宮田 清蔵 Assoc. Prof., Faculty of Tech., Tokyo Univ. of Agriculture and Tech. Seizo MIYATA
	東京農工大学工学部助教授 赤池 敏宏 Assoc. Prof., Faculty of Tech., Tokyo Univ. of Agriculture and Tech. Toshihiro AKAIKE

Nowadays various kinds of materials have been widely used in the medical field. In order to develop the designed materials for clinical use, the interaction between materials and biological system has to be clarified. The authors named it "Biomaterials Chemistry", the newly developed scientific frontier which reveals the chemical and biochemical process occurred on the interface between biomaterials and living systems.

In this report, our recent results on the analysis of the interfacial phenomenon between polymers and blood components or living tissues were described.

A group of polyion complexes (PIC) (see Fig. 1) is known to be a candidate for non-thrombogenic biomaterials. To evaluate blood-compatibility of different types of PIC, the interaction of PIC with blood components were examined. The amounts, species and the conformational changes of adsorbed plasma proteins were evaluated with the use of ultraviolet (UV) spectroscopy and circular dichroism (CD), respectively. The interaction of PIC with blood platelets was examined by passing fresh blood through a column packed with glass microspheres which were precoated with PIC. Behaviors of platelets on the surface of microspheres were found to be significantly influenced by the feeding ratio of polyanion to polycation in PIC. The degree of aggregation and deformation of adhered platelets was observed to relate with the degree of conformational change of adsorbed albumin. Among the PICs examined, newly synthesized P(*p*-QEAS)-PSSS exhibited the best blood-compatibility. To prepare blood-compatible adsorbents for direct hemoperfusion, beads type activated charcoal was coated with P(*p*-QEAS)-PSSS.

Tissue response to different types of PIC was also examined by the use of microsphere injection method. Polyanion-excess and neutral PIC were well tolerated in tissue, whereas polycation-excess PIC was liable to evoke acute neutrophil infiltration and following hyperplasia of fibrous capsula. The sensitivity of tissues to implants were different from site to site and weakened in the order: subcutaneous tissue, muscle, liver, kidney and spleen.

The authors also succeeded in grasping the image of protein adsorption on the microphase separated structure of block type copolymers composed of HEMA and styrene. The films of HEMA-St copolymer were dipped in protein solutions of which concentration was 1/50 of physio-

logical one and rinsed. Thereafter the adsorbed proteins were fixed with formalin phosphate buffer solution and were dried. These samples were stained by osmium tetroxide. It was shown that the amount of surface coverage and the distribution state of the protein corresponded to the microphase separated structure of the copolymer could be elucidated. That is, serum albumin is adsorbed onto the hydrophilic domain and avoids the hydrophobic domain, while  $\gamma$ -globulin and fibrinogen are selectively adsorbed on the hydrophobic domains.

Blood-compatibility of HEMA-St copolymer was also examined by microsphere column method. It was found that the hydrophilic-hydrophobic microphase separated structure exhibits good blood compatibility due to the inhibition of platelet adhesion and aggregation in the important initial phenomena of thrombus formation. Effect of balance between hydrophilicity and hydrophobicity on anti-thrombogenic property is summarized in Table 3.

## 研究目的

近年、人工腎臓・人工血管・人工角膜などの人工臓器によって、失なわれた生体機能を代行させようとする試みが盛んに進められつつある。高分子材料は、人工臓器システムを支えるもっとも重要な要素である。ニーズ面からみて一般の人工臓器に対する期待感は大きいが、現実には大量生産される汎用のプラスチック、ゴムを試行錯誤的に利用する時代が長く続いていた。生体というきわめて高次の機能を有するシステムと共存する“生体適合性材料”はもちろん、その機能を代行したり、生体システムに積極的に働きかけたり、モニターしたりする“生体機能性材料”を開発するためには、我々に与えられている情報はあまりにも少なかった。そこで、本研究において我々は、「材料生化学的手法の確立」と「新しい生体適合性材料・生体機能性材料の開発」という2本の柱を軸として研究を進めることにした。

生体によく適合し機能する理想的な医用材料を開発するためには、材料と生体との相互作用を、細胞および分子のレベルで基礎的に解析、評価する方法の確立が必要不可欠である。本研究は、高

分子マイクロスフィア (MS) を利用して、微量の各種高分子化合物の生体適合性または生体機能性を *in vivo, in vitro* で評価する方法、および、材料表面における生体物質の挙動を分子レベルで解析する方法を開発することを主要な目的とした。さらに、このような新しい手法によって得られた情報を合成の領域にフィードバックし、被験材料の新たな分子設計に役立てるよう心掛けた。

## 研究成果

### 1. 被験材料の選定

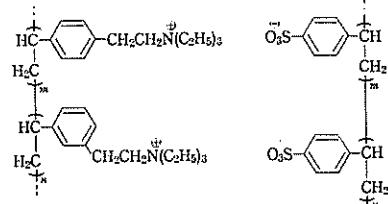
材料の生体適合性を検討する場合、高分子材料側の構造の選定が重要である。我々は生体細胞膜表面との相互作用において合成高分子が重要な役割を果す相互作用力あるいは構造因子として、① 静電的相互作用、②疎水的相互作用、③水素結合性相互作用、④ミクロ相分離構造、などに着目し (Table 1)，各々のパラメータを具現する材料として、Fig. 1 に示すようなポリイオンコンプレックス (PIC)，スチレンーアミングラフト型コポリマー、セグメント化ポリウレタン (PEUU) (以上東大鶴田研にて合成)，メタクリル酸ヒドロキシエチルースチレン (HEMA-St) ブロックおよび

Table 1. Molecular designed materials and property of their surface

Interaction force	Material			
	PEUU	Styrene/HEMA	PIC	Polyamide
Electrostatic interaction			◎	○
Hydrophobic interaction	○	○	○	○
Hydrogen bonding	○	○		◎
Microheterogeneity	◎	◎	○	



*p*-PIC

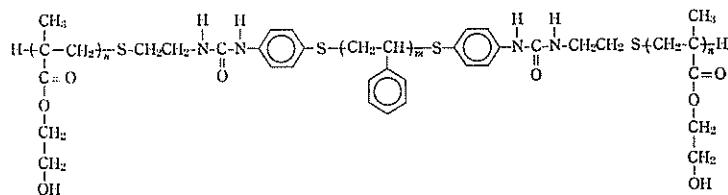


*m, p*-PIC

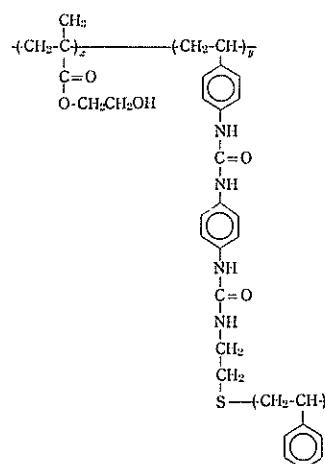


*m*-PIC

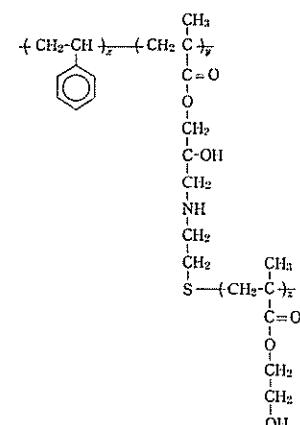
#### Molecular structure of polyon complex



HEMA-styrene ABA-type block copolymer

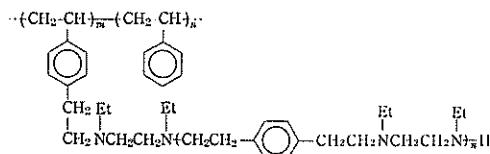


Styrene(branch)-HEMA Comb Type  
Graft Copolymer

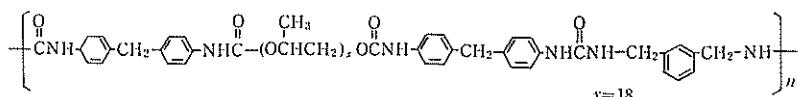


HEMA(branch)-Styrene Comb  
Type Graft Copolymer

Fig. 1. (cont.)



Chemical structure of graft-type styrene copolymer



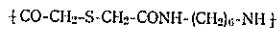
Chemical structure of polyetherurethaneurea



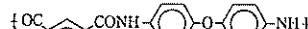
O-HMD



6,10-Ny



S-HMD



DHIS

Chemical structures of polyamides

Fig. 1. Molecular structures of examined polymers.

グラフト型コポリマー（早大篠原研）、ポリアミド類（上智大緒方研）を新たに合成、その一次構造・高次構造をミクロに制御することによって、タンパクや細胞と材料との相互作用における高分子キャラクターの意義を解析した。

## 2. 血漿タンパク質一材料間相互作用の解析一分光法・電顕法によるアプローチ

合成高分子材料が生体組織に接触ないしは埋入された場合、その表面はまず最初に血液・組織液中のタンパク質によって薄く覆われ、その後血小板、赤血球、リンパ球、好中球、マクロファージなど異物反応に関与する細胞との反応が開始される。いったんその個体組織由来のタンパク質などによって覆われた材料表面がなおかつ生体システムによって異物として認識され、血栓形成・溶血・貪食・分解処理・拒絶等々の反応を受けることの原因は表面における吸着タンパク質層の構造的非生理性にあると考えられている。すなわち吸着タンパク質層の厚さ（量）、タンパク質成分組成（種類）、立体構造、吸着配向性、ミクロ分布などの異常性が一連の異物反応を誘発しているのではないかと推定されているが、その機序に関する情報は少ない。とりわけ吸着に伴うタンパク質の立体構

造変化（変性）の役割に言及した研究は少ない。我々は吸着タンパク質の量と立体構造を検知する手段として、Fig. 2 に示したような紫外吸収（UV）と円偏光二色性（CD）を組み合わせた手法を開発し、荷電を有するハイドロゲルである PIC を中心に解析を進めた。その結果を Fig. 3~7 に示す。

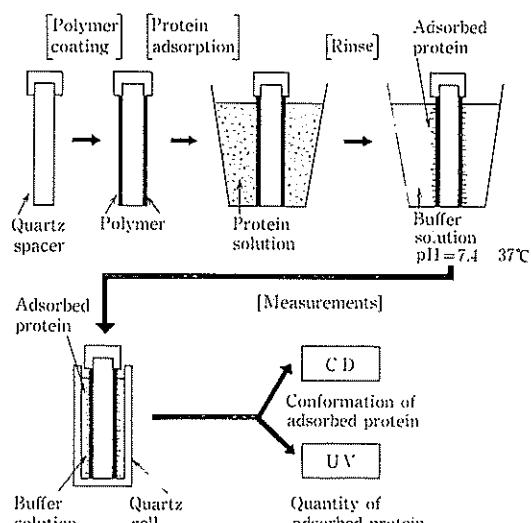


Fig. 2. Procedure of CD-UV method.

等電点 (I.P.=4.7) の低いアルブミンでは、静電的相互作用が主であり、ポリアニオン過剰域では吸着量・立体構造変化ともに少ないが、ポリカチオン過剰域では吸着量は著しく増大し、それに伴って  $\alpha$ -ヘリックス含量の大幅な減少が認められた (Fig. 3)。一方、疎水的あるいは両性電解質的な性格をあわせて有する  $\gamma$ -グロブリン (I.P.=5.8~7.3), フィブリノーゲン (I.P.=5.5) ではとともに中性域で吸着量が減少となることが判明した (Fig. 4, 5)。

PIC 膜は熱処理条件を変化させることによって表面の水に対するぬれやすさを変化させることができる。熱処理を加え表面を“疎水的”にした PIC 膜を用いると、タンパク質の吸着挙動は著し

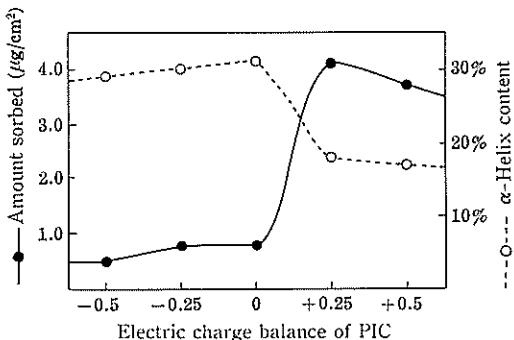


Fig. 3. Adsorption of albumin on PIC surfaces.  
●, Surface concentration of adsorbed albumin; ○,  $\alpha$ -helix content of adsorbed albumin.

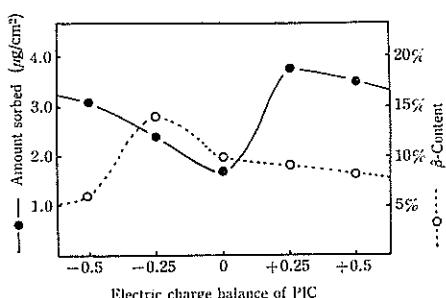


Fig. 4. Adsorption of  $\gamma$ -globulin on PIC.  
●, Surface concentration of adsorbed  $\gamma$ -globulin; ○,  $\beta$ -sheet content of adsorbed  $\gamma$ -globulin.

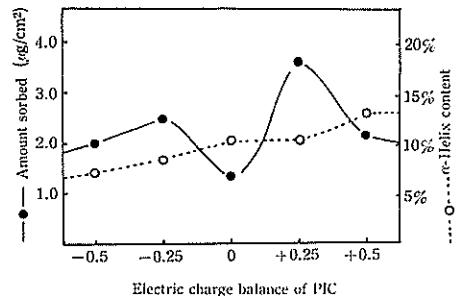


Fig. 5. Adsorption of fibrinogen on PIC.  
●, Surface concentration of fibrinogen;  
○,  $\alpha$ -helix contents of adsorbed fibrinogen.

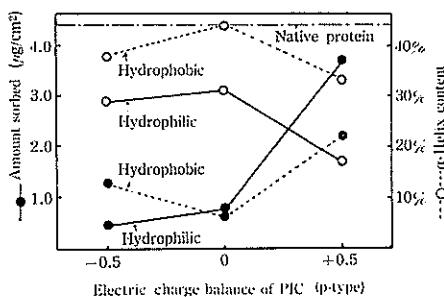


Fig. 6. Adsorption of albumin on “hydrophilic” and “hydrophobic” PIC surfaces.  
●, Surface concentration of adsorbed albumin; ○,  $\alpha$ -helix content of adsorbed albumin; —, “Hydrophilic” PIC surface; ---, “Hydrophobic” PIC surface.

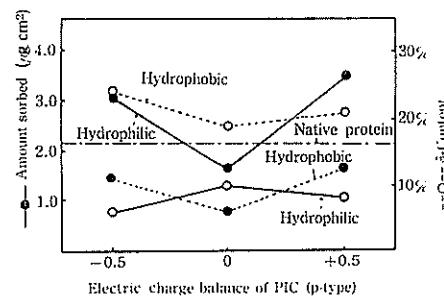


Fig. 7. Adsorption of  $\gamma$ -globulin on “hydrophilic” and “hydrophobic” PIC surfaces.  
●, Surface concentration of adsorbed  $\gamma$ -globulin; ○,  $\beta$ -sheet content of adsorbed  $\gamma$ -globulin; —, “Hydrophilic” PIC surface; ---, “Hydrophobic” PIC surface.

く変化する。熱処理によって PIC 中のポリアニオン、ポリカチオンの再配列が起こり、中和反応が進行するとともに、イオン性基が膜の内側に向かって配向し、表面に主鎖あるいは側鎖ベンゼン環部分が多く露出し、表面疎水化が達成されるものと考えられる。その結果、静電的相互作用は減少し、アルブミンでは吸着量がポリアニオン過剰域で増加し、ポリカチオン過剰域で減少する結果となって現われている。また、立体構造変化も少なくなり、中性で疎水的な PIC 上では吸着アルブミンの  $\alpha$ -ヘリックス含量は未変性のものと変わりなくなっている (Fig. 6)。興味深いことに、親水性 PIC 上に吸着した  $\gamma$ -グロブリンでは  $\beta$ -含量が減少するのに対し、疎水性 PIC 上では  $\beta$ -含量は溶液中よりも増加している (Fig. 7)。

例え、酵素分子や抗体分子に見られるように、タンパク質分子は大なり小なり異方的な機能と、それを支える異方的な立体構造を有している。それゆえ、タンパク質分子が媒介する材料一生体界面反応の様相は、タンパク分子のどの部分が材料表面に向かって吸着するかによって大きく支配されるはずである。

Ockman は偏光 FT-ATR-IR 法によって、Ge 表面に吸着されたアルブミンに対する抗アルブミン抗体、すなわち  $\gamma$ -グロブリンの結合状態を解析している。 $\gamma$ -グロブリンが抗体活性部位 Fab を向けて表面に吸着した場合、その  $\beta$ -構造は溶液中の  $\gamma$ -グロブリンに比べて減少することが明らかにされているので、上記立体構造変化の様子から

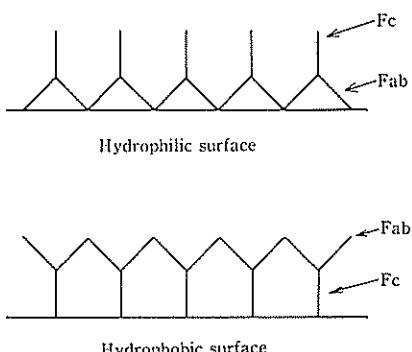


Fig. 8. Schematic illustrations of adsorbed  $\gamma$ -globulin.

考へて Fig. 8 に示すように、 $\gamma$ -グロブリンは疎水面には Fc 部分を向けて吸着し、親水性荷電表面に対しては逆に配向状態を変えて Fab 部分を向けて吸着しているものと推測される。

タンパク質の立体構造変化や配向吸着は単に血栓形成の問題にとどまらず、酵素活性とも密接な関連をもっている。我々は溶菌性を有する固定化酵素の活性と立体構造変化の関連を明らかにする目的で CD-UV 法を利用し、PIC 上に固定化したリゾチームなどの立体構造変化も検討した。これらの知見は、細胞反応をコントロールする生理活性タンパク質の固定化膜の開発にもつながり、臨床的にも意義深いアプローチとなりつつある。

以上のように CD-UV 法はタンパク吸着の解析に極めて有効な手段であることが確認されたが、対象材料に透明性が要求される。そこで、広範囲な資料に適用可能な手法として ATR-IR に着目し、検討を進めたが、感度などに問題点があった。この問題点を克服する手段として我々はコンピュータ内蔵のフーリエ変換型 FT-ATR-IR に着目し、東大田中研と共同で研究を進めた。FT-IR を用いることにより材料表面に吸着したタンパクを感度良く検出することが可能となり、更にコンピュータによる演算処理によって Fig. 9 に示すように、アミド領域に大きな吸収を有するポリウレタン上への吸着タンパクをも検出するこ

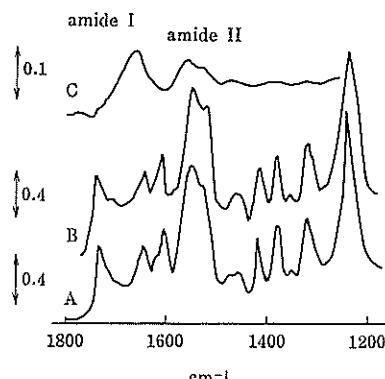


Fig. 9. FT-ATR spectra of fibrinogen on polyetherurethaneurea.  
A, Polyetherurethaneurea before exposure; B, Polyetherurethaneurea after exposure; C, Subtraction spectrum B-A.

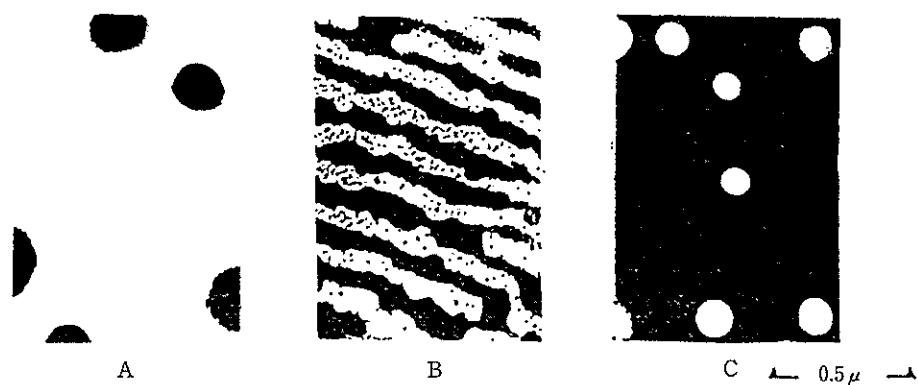


Fig. 10. Electron micrographs of HEMA-St ABA-type block copolymer films cast from DMF at 40°C.

A, HEMA mol fraction 0.347; B, HEMA mol fraction 0.608; C, HEMA mol fraction 0.884.

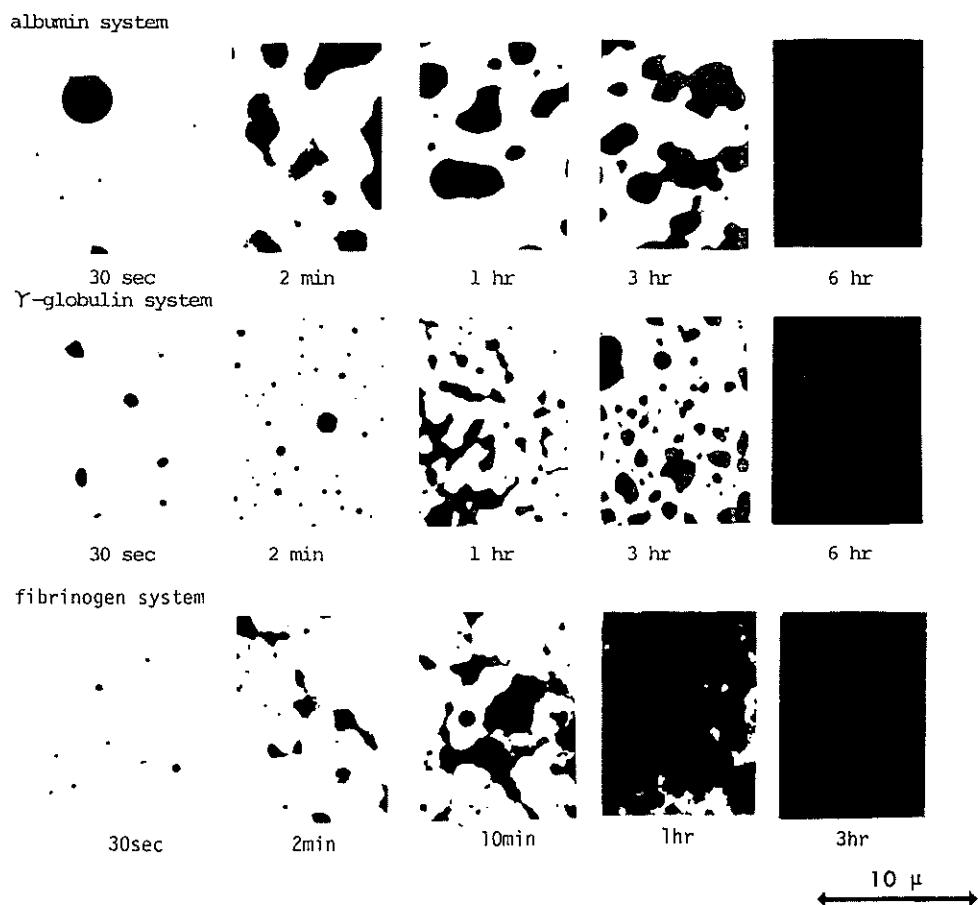


Fig. 11. Adsorption of plasma protein on the surface of poly-HEMA.

とが可能となることが判明した。最近、この手法をさらに発展させた結果、材料上のアルブミンと $\gamma$ -グロブリンの競争吸着を解析することも可能であることが分かった。

高分子と生体との相互作用においては、荷電の問題とともに、高分子材料表面の親水性と疎水性のバランスが極めて重要であると考えられる。Avcothane 51, Segmented Polyether-urethane-urea (PEUU) のような抗血栓性の高い材料がミクロ相分離構造をとることはよく知られているが、抗血栓性の発現機序についてはほとんど何も分かっていなかった。とりわけミクロ相分離構造の形態に着目した topographical な解析は全くなされていなかった。我々は早大篠原研と共同で、親水一疎水型ミクロ相分離構造を有する (Fig. 10) HEMA-St の ABA 型ブロックコポリマーを行い、透過電子顕微鏡を用いて血液タンパク質の選択吸着を検討した。オスミウム酸蒸気によるタンパク質の選択的染色法を用いる新手法を透過電顕観察に導入し、高分子表面上での吸着タンパク質の分布状態を、表面の親水性、疎水性あるいは親水一疎水型ミクロドメイン構造に着目して明らかにした。

にした。

この結果、血漿タンパク質の親水性表面に対する親和性はアルブミン >  $\gamma$ -グロブリン > フィブリノゲンの順で大きい (Fig. 11) のに対し、疎水性表面では全くこの逆であることが分かった。さらに、親水性と疎水性のミクロドメインを有する表面ではアルブミンが親水性ドメインに選択的に吸着するのに対し、 $\gamma$ -グロブリンとフィブリノゲンは疎水性ドメインに選択的に吸着することが判明し、生体によるミクロドメイン構造の識別現象を初めて明らかにすることができた。Fig. 12 にその概念図を示す。

以上のように 3 年間で材料表面へのタンパク質の吸着挙動の解明をかなり行なうことができたが、依然としてタンパク質の吸着配向、複数タンパク質共存系からの競争吸着などの問題が残されており、今後、上記の CD-UV 法、FT-IR 法、電顕法に加えてレーザーラマン法、液体クロマトグラフィー、免疫抗体法などの手法もとりいれてこの問題の解明に努力したいと考えている。

### 3.マイクロスフィアカラム法による血小板一材料間相互作用の解析

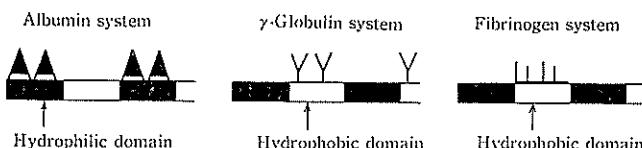


Fig. 12. Adsorption of plasma protein on the surface of micro-phase separated structure.

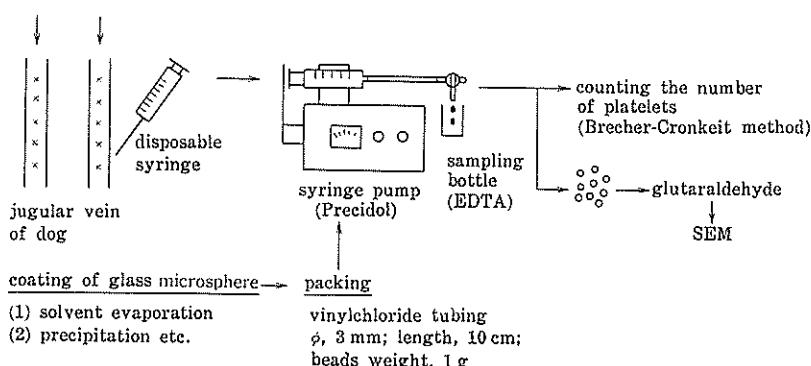


Fig. 13. Experimental procedure of column beads method.

Table 2. *In-vitro* testing methods for examining the interactions between biomaterials and cells

Method	Phenomena								Contact Surface Area	Amount of Sample		
	Cell Adhesion				Cell Culture							
	Number of adhered cells	Morphological change		Bio-chemical reactions	Cell growth	morphology	Function of cultured cells					
		short range	long range									
Microsphere column method	◎	○	○	○	○	○	○	◎	◎	◎		
Microcarrier method	○		○	○	○	○	○	○	○	○		
Culture-dish method	○		○		○	○						
Hollow fiber method	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○		

◎: excellent; ○: fair.

従来, *in vitro* での材料—細胞間相互作用の解析は各種材料からなる細胞培養床の上での細胞の成育状態を観察することによってなされていた。著者らは新たにクロマトグラフィー的手法を考案し検討を加えている。この方法は Fig. 13 に示すように被験材料をガラスマイクロスフィアにコートした上でカラムにバックし、血液ないしは細胞懸濁液を通過させ、流出細胞数を位相差顕微鏡でカウントすること、および固定後のビーズの表面形態を走査電顕で観察することからなりたっている。他の手法との比較を通じてその特徴をまとめると Table 2 のようになる。そこで、PIC 膜の抗血栓性を評価する観点から、この方法に基づき血液細胞、特に血小板と PIC との相互作用を解析した。Fig. 14 b (横軸: PIC 膜の荷電バランス; 縦軸: ガラス表面を 1 とした場合の流出血小板の相対比) に示すようにポリアニオニン過剰表面には血小板の粘着が認められなかつたのに対し、ポリカチオニン過剰表面には激しい粘着が認められた (Fig. 15 参照)。ここで興味深いのはタンパク質吸着との関連である。Fig. 14 はポリアニオニンとポリカチオニンの仕込み比を変えた時の血小板粘着とアルブミン吸着の比較であるが、図から分かるように粘着はアルブミンの立体構造変化と良い相関をなしているように思われる。また、中性の P(*p*-QEAS)-PSSS ではアルブミンはあまり著しい立体構造変化を起こしていないことが分かるが (Fig. 14 a), ポリカチオニン成分にメタ (*m*)

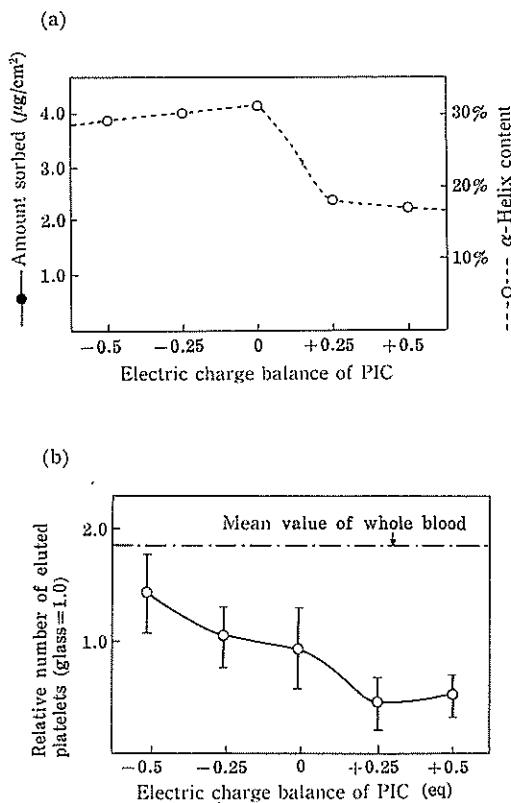


Fig. 14. (a) Adsorption bovine serum albumin onto P(*p*-QEAS)-PSSS PIC.  
(b) Platelet retention on P(*p*-QEAS)-PSSS coated glass beads surface.  
The number of eluted platelets is given in relative value (glass as standard).  
flow rate 1.7 ml/min, beads weight 1 g,  
column length 12 cm.

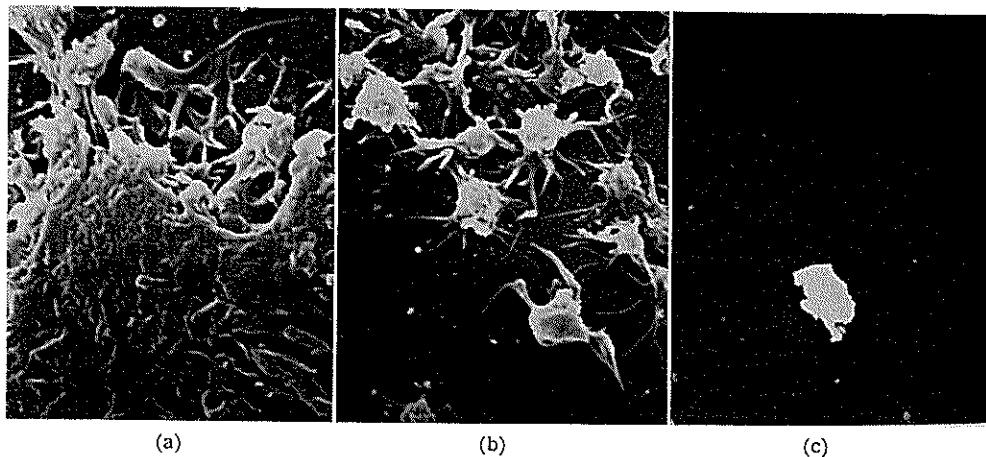


Fig. 15. Scanning electron microscopic views of platelets attached to the surface of  
 (a), Polycation-rich (p)PIC [(p)PIC(+0.5)]; (b), Neutral (p)PIC [(p)PIC(±0)]; (c), Polyanion-rich (p)PIC [(p)PIC(-0.5)].

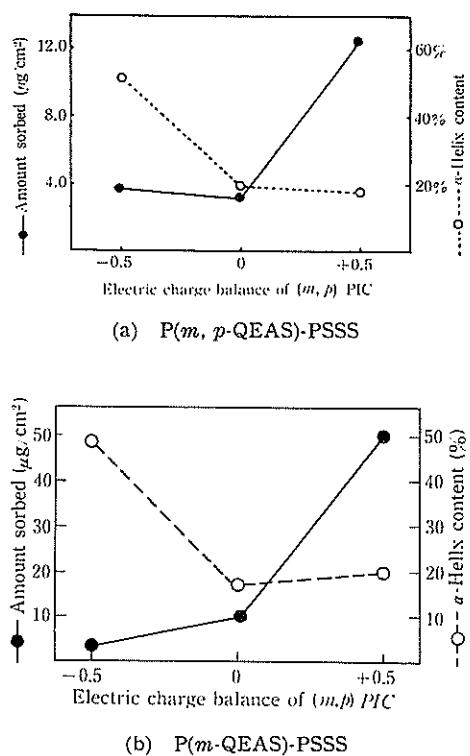


Fig. 16. Adsorption of albumin on P(*m*, *p*-QEAS)-PSSS. and P(*m*-QEAS)-PSSS.  
 —●—, Surface concentration of albumin; ---○---,  $\alpha$ -helix contents of adsorbed albumin.

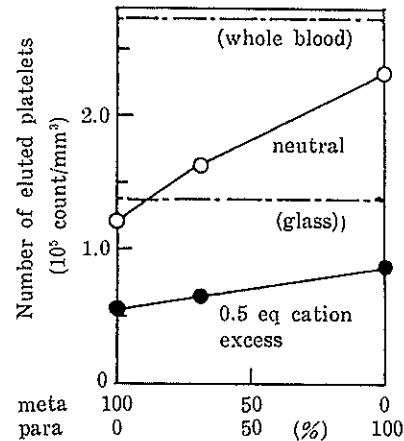


Fig. 17. Effect of molecular structure of PIC on platelets retention. Abscissa indicates the content of *m*-QEAS unit and *p*-QEAS unit in PQEAS.

体の導入された P(*p*, *m*-QEAS)-PSSS および P(*m*-QEAS)-PSSS 上では、中性でもすでにかなりの  $\alpha$ -ヘリックス含量が減少している (Fig. 16 a, b)。粘着した血小板の数 (Fig. 17)、凝集・変形の程度 (Fig. 18 a, b, c) も大きく、吸着アルブミンの変性と対応していることが示唆された。従来、Lyman らによってアルブミンの吸着しやすい材料は、血小板の粘着は少ないと言われてきただが、我々の結果によれば、ポリカチオン過剰

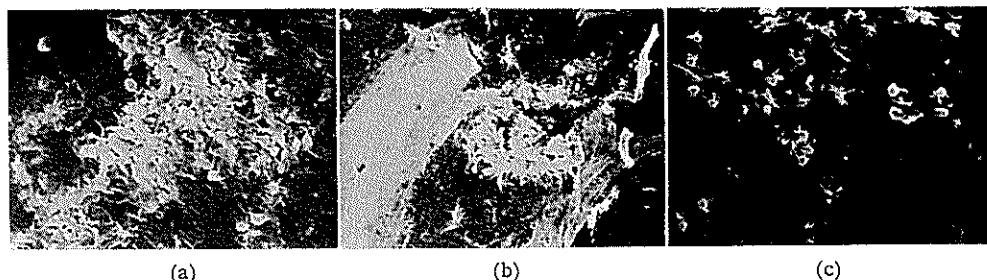


Fig. 18. Scanning electron microscopic views of platelets attached to the surface of  
(a), neutral P(*m*-QEAS)-PSSS [(*m*)PIC(±0)]; (b), neutral P(*m, p*-QEAS)-PSSS [(*m, p*)PIC(±0)];  
(c), neutral P(*p*-QEAS)-PSSS [(*p*)PIC(±0)].

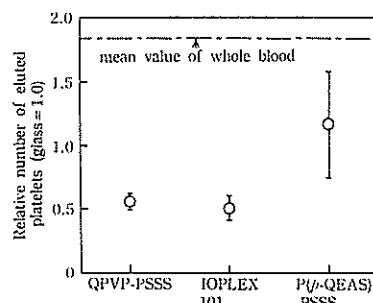


Fig. 19. Platelets retention on three different types of PIC.

PIC および *m* 体の導入された中性 PIC のようにアルブミンの吸着量が多くとも、変性の大きい場合には血小板が粘着しやすいことが分かる。

構成ポリカチオンの化学構造および異性体に注目して検討し、Fig. 18, 19 の結果を得た。粘着血小板の走査電子顕微鏡 (SEM) 観察をも加味すると血液適合性は、QPVP-PSSS < Ioplex 101 ≈ P(*m*-QEAS)-PSSS < P(*m, p*-QEAS)-PSSS < P(*p*-QEAS)-PSSS の順に良くなる。

一方、Fig. 20 は各 PIC の水—NaBr—アセトニン三元溶媒系への溶解状態図であり、溶解領域の広さから各 PIC のクーロン結合、疎水結合の強さを定性的に評価できる。図によりポリアニオン—ポリカチオン間の結合の強さは、QPVP-PSSS < P(*m*-QEAS)-PSSS < Ioplex 101 < P(*m, p*-QEAS)-PSSS < P(*p*-QEAS)-PSSS の順になると見積もられ、血液適合性と良い相関が認められた。すなわち、比較的疎水的でしかも、ポリアニオン—ポリカチオン間のクーロン結合が有効に達

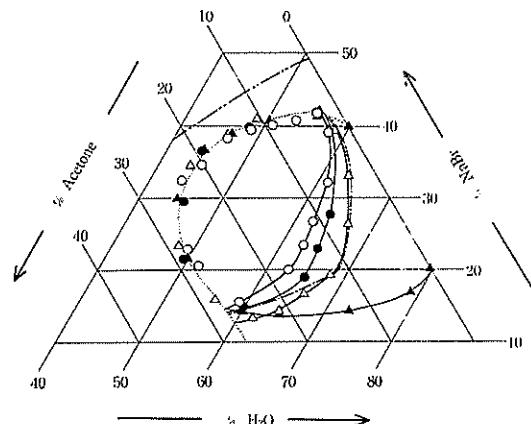


Fig. 20. Phase diagrams of PICs for a ternary solvent system (measured at 22~25°C).

—○—, Miscibility limit of P(*p*-QEAS)-PSSS; —●—, Miscibility limit of P(*m, p*-QEAS)-PSSS; —△—, Miscibility limit of P(*m*-QEAS)-PSSS; —▲—, Miscibility limit of QPVP-PSSS; ..... , Miscibility limit of Ioplex 101; .... , Miscibility limit of PSSS; ———, Miscibility limit of water-NaBr-acetone; Concentration of constituent polyelectrolyte:  $5 \times 10^{-3} M$ .

成されるような構造の P(*p*-QEAS)-PSSS が最も望ましい血液適合性を与えることが分かった。

次に材料表面の親—疎水性と血小板粘着との関連を明らかにする目的で、早大篠原研と協同で HEMA-St ブロックコポリマーおよびグラフトコポリマーと血小板の相互作用を解析した。前述の PIC の場合とまったく同じ手法で、ミクロ相分離構造表面に対する血小板粘着挙動、形態変化を解析した。ガラス表面を基準として血小板流出量比

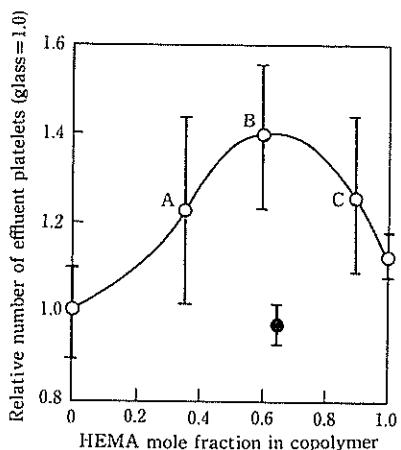


Fig. 21. Platelet adhesion on the surface of the HEMA-styrene copolymer.

○, block copolymer; ●, random copolymer.

を求め、これとブロックコポリマーの HEMA 組成との関係を Fig. 21 に示した。両端は各々スチレン、HEMA のホモポリマーである。ミクロ相分離構造、とりわけラメラ構造 (Fig. 10B 参照) をとる HEMA 組成 0.608 のブロックコポリマーが良い結果を示すことが分かる。ランダムコポリマーおよび各ホモポリマーではこのような血小板粘着抑制効果は認められない。走査電顕で観察した形態変化も血小板の流出挙動とよく対応し、ホモポリマー、ランダムポリマーが血小板の

凝集・変形を惹起するのに対して、ミクロ相分離構造特にラメラ構造のものは形態変化が少なかつた (Fig. 22a, b, c)。

次に、ブロック、グラフト共重合体により  $10^2 \sim 10^3$  オーダーで幅の大きさの異なるラメラ構造を実現し、これらの表面と血小板との相互作用を検討した (Table 3, Fig. 23)。この大きさの範囲では 300~500 Å 程度の幅を有するものが大きな血小板粘着抑制効果を示し、ラメラ構造の幅が増大すると血小板の粘着数は増大し、その形態変化も大きくなる傾向が認められた。また海島構造で島の大きさを大きくした場合も同様に血小板の粘着、形態変化は大きくなることが分かった。すなわち親一疎水型ミクロ相分離構造の抗血栓性発現機序においてその形態のみならず、ドメインの大きさも重要な役割をはたすことが明らかとなつた。

Table 5 に示すように、ミクロ相分離構造を有するポリマーの抗血栓性は、水の接触角測定から求められたマクロな表面自由エネルギーからだけでは説明しえないことが分かった。我々は前述のようにポリマー—血液細胞（特に血小板）間相互作用を媒介する血漿タンパク質のレベルで、親水一疎水のミクロドメインへの選択吸着現象の存在することを見いだしている。そこで、さらに血小板の Hanks 液サンペンションを調製し、あら

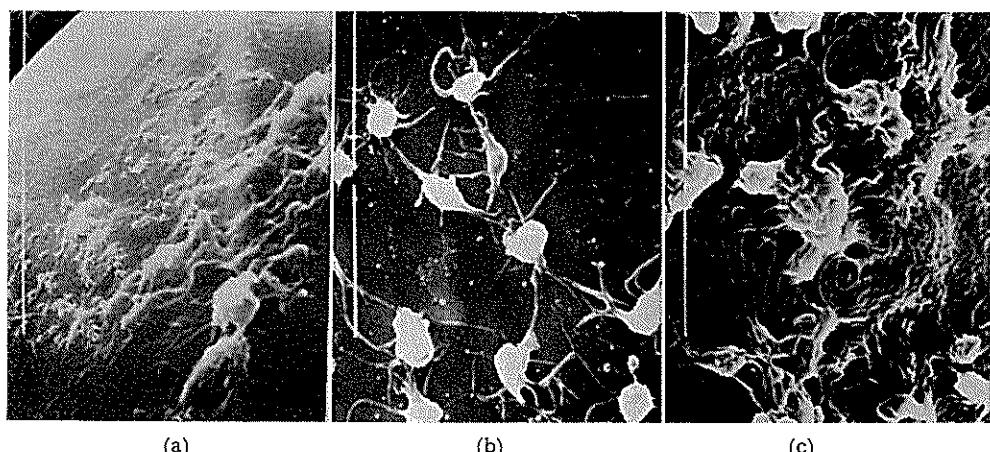


Fig. 22. Scanning electron microscopic views of platelets attached to the surface of:  
(a), PHEMA; (b), HEMA-St ABA type block copolymer containing 0.608 mole fraction of HEMA; (c), Polystyrene.

Table 3. Thrombogenecity of HEMA-St Copolymers

No.	Samples	HEMA mole fraction in copolymer	Block chain ( $\bar{M}_n$ )		Micro-structure	The number of effluent platelets <sup>1)</sup>	Morphology
			HEMA(A)	St(B)			
1.	ABA type block copolymer	0.608	10400	10500	lamella	218,000	round
2.	AB type block copolymer	0.619	12000	5900	lamella	205,000	round
3.	AB type block copolymer	0.629	8130	4030	lamella	210,000	round
4.	Comb type graft copolymer <sup>2)</sup>	0.680	2660	—	lamella	189,000	round
5.	Comb type graft copolymer <sup>3)</sup>	0.694	—	4130	lamella	175,000	aggregation
6.	Comb type graft copolymer <sup>3)</sup>	0.660	—	11100	lamella	166,000	aggregation
7.	Comb type graft copolymer <sup>3)</sup>	0.860	—	11100	St sphere	161,000	aggregation
8.	Random copolymer	0.820	—	—	—	148,000	aggregation
9.	Glass beads	—	—	—	—	155,000	spread out

1) The number of platelets in whole blood, 248,000/mm<sup>3</sup> for 1 min at flow rate of 1.2 mL/min.

2) St(backbone)-HEMA(branch) comb type.

3) HEMA(backbone)-St(branch) comb type.

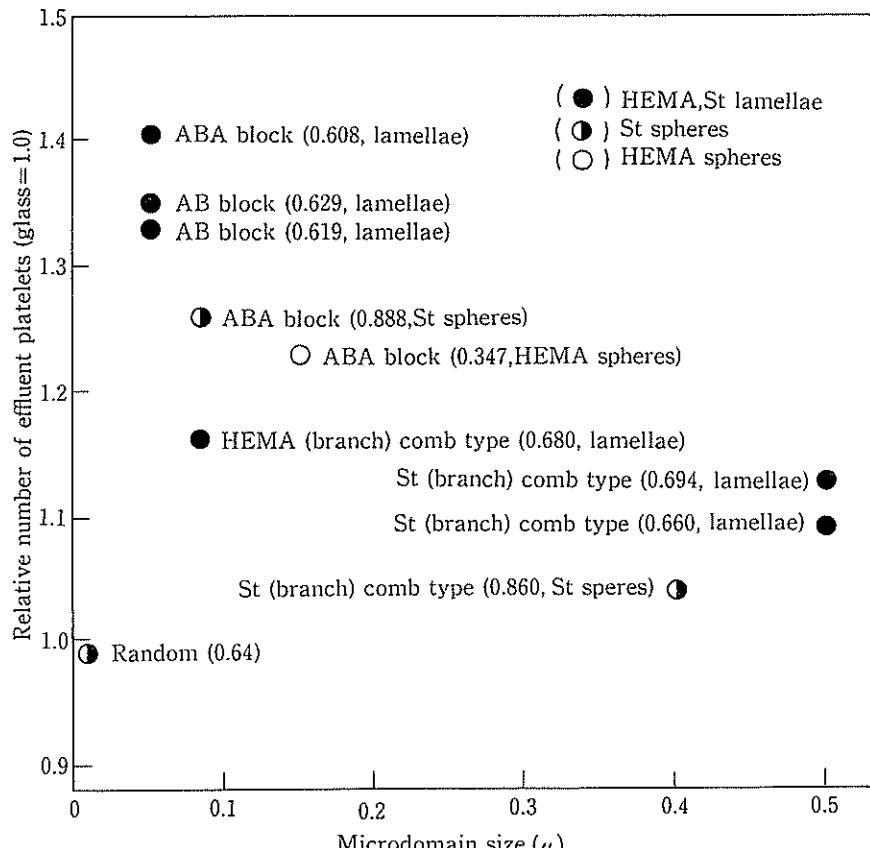


Fig. 23. Relation between microdomain size and platelet adhesion.

Table 4. Antithrombogenicity of Polymer with a Balance between Hydrophilic and Hydrophobic Sites

Polymer	Domain Shape		Domain Size (Å)		Antithrombo-geneicity
	Hydrophilic	Hydrophobic	Hydrophilic	Hydrophobic	
PHEMA	Homogeneous	—	Continuous	—	+
PSt	—	Homogeneous	—	Continuous	±
Random-Copolymer*)	Monomer Level	Monomer Level	~10 <sup>1</sup>	~10 <sup>1</sup>	±
Block Copolymer*)	Island	Sea	10 <sup>2</sup>	Continuous	+++
	Stripe	Stripe	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	++++
	Sea	Island	Continuous	10 <sup>2</sup>	++
Graft Copolymer*)	Island	Sea	10 <sup>3</sup>	Continuous	+
	Stripe	Stripe	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	+
	Sea	Island	Continuous	10 <sup>3</sup>	+

\*) HEMA-St system

Table 5. Adhesion and aggregation of platelet on the surface with hydrophilic-hydrophobic microphase separated structure

Samples	HEMA mole fraction in copolymer	$\gamma_{\text{so}}$ (ergs/cm <sup>2</sup> )	The number of effluent platelets	Deformation of platelets	Trap of erythrocytes
poly-styrene	0	18.2	225,000	Aggregation	—
ABA type block copolymer	0.347	20.1	273,000	Round	—
ABA type block copolymer	0.608	21.2	300,000	Round	—
ABA type block copolymer	0.884	30.8	280,000	Aggregation	+
poly-HEMA	1	49.5	249,000	Aggregation	—
Random copolymer	0.640	24.9	209,000	Aggregation	+
Glass beads		200~400	222,000	Spread out	—

The number of plateles in whole blood, 340,000/mm<sup>3</sup> for 1 min at flow rate of 1.2 ml/min

かじめ血液タンパク質をコートしておいたマイクロスフィアカラムを用いて、血小板—ミクロ相分離ポリマー間相互作用に及ぼすタンパク質のプレコーティング効果を検討した。その結果、アルブミン、 $\gamma$ -グロブリンなどが血小板の材料表面上での粘着挙動をコントロールするという興味深い知見が得られた。実験結果の解釈をまとめて模式的に Fig. 24 に示した。すなわち、親水一疎水型のラメラ状のミクロ相分離構造を有するブロック共重合体に全血が接触した場合、表面の親水性および疎水性ドメインに対応してそれぞれアルブミンおよび $\gamma$ -グロブリンが選択吸着し、“組織化”タンパク質層が形成される。この“組織化”タンパク

質層が血小板の粘着数、および形態変化の抑制に重要な役割を果しているものと考えられた。アルブミンのみをプレコートした場合も、ホモポリマー表面に比べ、ミクロ相分離構造表面では血小板粘着数が少ない事実より、単一タンパク種による不均質な吸着層が血小板の粘着抑制に寄与しているものと推定された。 $\gamma$ -グロブリンをプレコートした場合、異方性構造を有する $\gamma$ -グロブリン分子が親水性の PHEMA 上では親水性の Fab 部分を表面側に向けて吸着し、疎水性の Fc 部分は外側に向いているものと既に判断されている。そこで $\gamma$ -グロブリンの Fc 部分と特異的に結合する Fc レセプターを有している血小板は、PHEMA

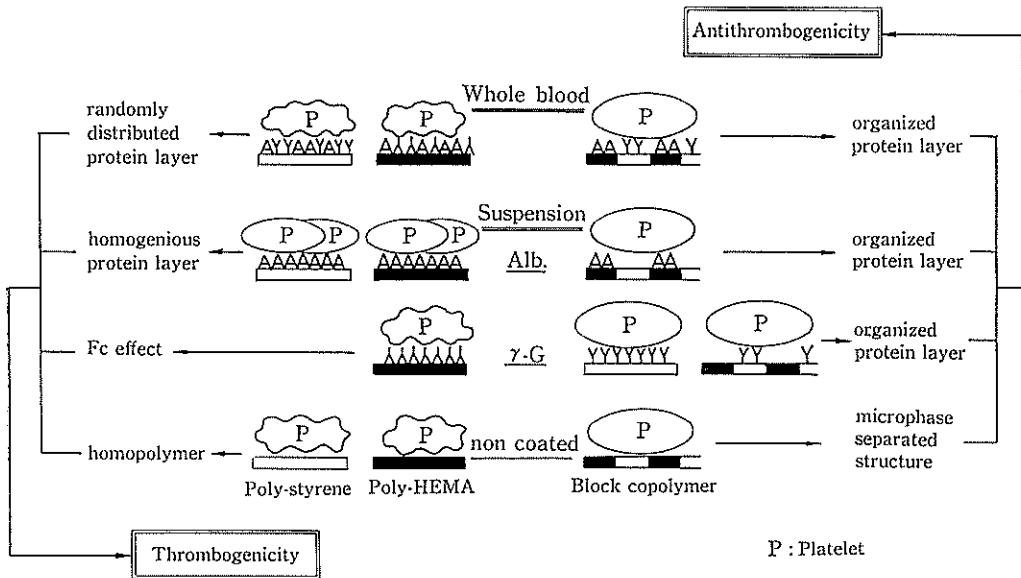


Fig. 24. Schematic representation of platelet adhesion on protein adsorbed surface.

上で Fc 部分と特異的に結合し、形態変化を大きくしたものと考えられた。また血液タンパクの全く存在しない系でも、ホモポリマーに比べ、ブロックコポリマーでは血小板の粘着量、形態変化と共に少なくなっていることから、ミクロ相分離構造を有する表面はそれ自体、血小板との相互作用を小さくする効果を有していることが明らかとなつた。

引き続き、マイクロスフィアカラム法の適用対象を拡張し、ステレンーアミングラフト型コポリマー (Fig. 1 参照)、荷電その他の官能性基を有するポリアミド (Fig. 1) セグメント化ポリウレタン (Fig. 1) などについても、生体適合性に及ぼす荷電、親一疎水ミクロ相分離構造の効果の解析ならびに医用機能性材料の開発の観点から検討を加えた。

#### 4. マイクロスフィア注入法による高分子材料の局所生体反応の解析

現在有機化合物・無機化合物を問わず、直径数百 Å から数百 μm に及ぶ種々のマイクロスフィア (以下 MS と略す) を合成することが技術的に可能となっている。我々は MS が球形という標準化された形状を有し、かつ有効な接触反応面

積が大きいことに注目した。すなわち、MS をコーティング用担体として用いることにより種々の材料物質の生理活性・薬理活性・生体適合性等々を *in vivo* および *in vitro* で解析・評価し、診断・治療にも利用するシステムの開発を試みた (Table 6)。これまでのところは主として細胞レベルの解析に力点を置いてきた。*in vitro* での解析方法は前章で述べた MS-カラム法であり、血小板・リンパ球・好中球・赤血球等々と高分子材料との相互作用の解析、および細胞分離用粘着クロマトグラフィーとして有効性を発揮している。我々はさらに材料特性の *in vivo* 解析法として、MS 注入法の開発を進めてきた。これにより目的とする組織へ比較的無侵襲的に微量の被験材料を埋入し、ごく初期から長期にわたって局所的な生体反応を解析することができるようになった。

これまで、その生体適合性が注目されている、ポリイオンコンプレックス (PIC) および親一疎水ミクロ相分離構造を有するポリマーを中心にとりあげ、前述の観点にたって検討してきた。本報告では、一部の材料についてラットで 14 か月間埋入した結果を含め、本法の応用における利点と問題点を総括する。

Table 6. Microsphere method	
(IN VIVO)	
Microsphere Injection Method	
<u>Analysis and Diagnosis</u>	
Biomaterial Research	
Pharmacology	
Experimental Pathology	
<u>Therapeutics</u>	
Artificial Organs	
Drugs (Antitumor Drugs, Affinity Drugs)	
(IN VITRO)	
Microsphere Column Method	
<u>Analysis and Diagnosis</u>	
Simulation of Foreign Body Reaction	
Evaluation of Drugs	
Cell Separation	
<u>Therapeutics</u>	
Artificial Organs etc.	
Cell Separation, Cell Activation	
Microsphere Carrier Method	
<u>Immunological Microsphere</u>	
Cell Labelling	
Cell Separation	
Aggregation Test (Latex Test)	
Cell Culture	

### ①組織反応の部位別特異性

MS を注入すると、各組織においてフィブリン析出、好中球、リンパ球、形質細胞、マクロファージ、線維芽細胞、巨細胞などの出現と変遷が観察された。注入直後から 14 か月後に至るまで全般的に、どの材料に対しても反応が皮下筋肉 > 肝臓 > 腎臓・(脾臓) > 脾臓の順に弱まるという「生体反応の部位別特異性」が見られた。ただし、腎臓・肝臓・脾臓・脾臓のように高度な組織学的構築を有する臓器では、一つの臓器内においても注入部位・MS の凝聚状態によって細胞反応に微妙な差異が観察された。いずれにせよ、皮下筋肉と脾臓との間に顕著に見られたような「反応の部位別特異性」を考察すれば、異物反応の極端に少ない徐放性マイクロカプセル化医薬の投与、感度の高い細胞の局所的賦活化などが可能となるわけで、興味深い事実であろう。

### ②PIC の荷電バランスと組織反応

Fig. 1 で示した分子構造の PIC の荷電バランスを変えて、最も反応の感度の高い皮下筋肉組織に注入し 2 日後、1 か月後の反応を検討した。2 日後（急性期反応）においてはポリカチオン過

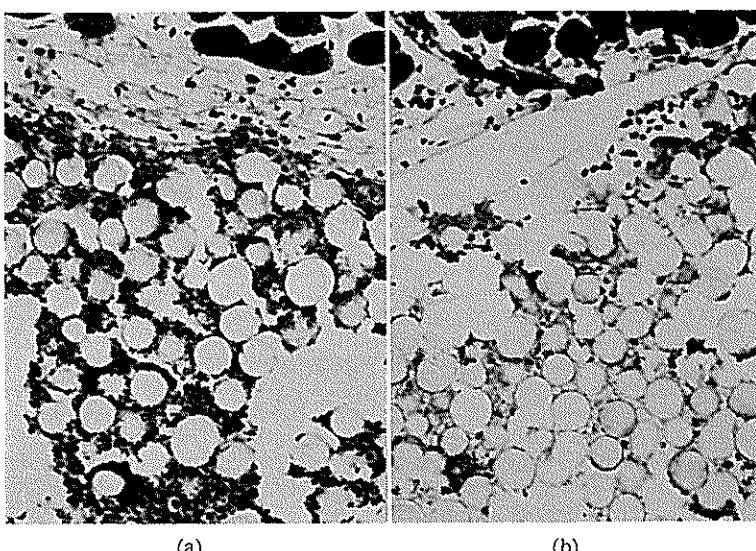


Fig. 25. Microscopic views of the tissue reaction to the implanted microspheres coated with PIC 2 days after implantation in subcutaneous muscles.

(a), 0.5 mol polycation-excess PIC; (b), 0.5 mol polyanion-excess PIC.

Note the pronounced neutrophil-infiltration observed in photograph (a).

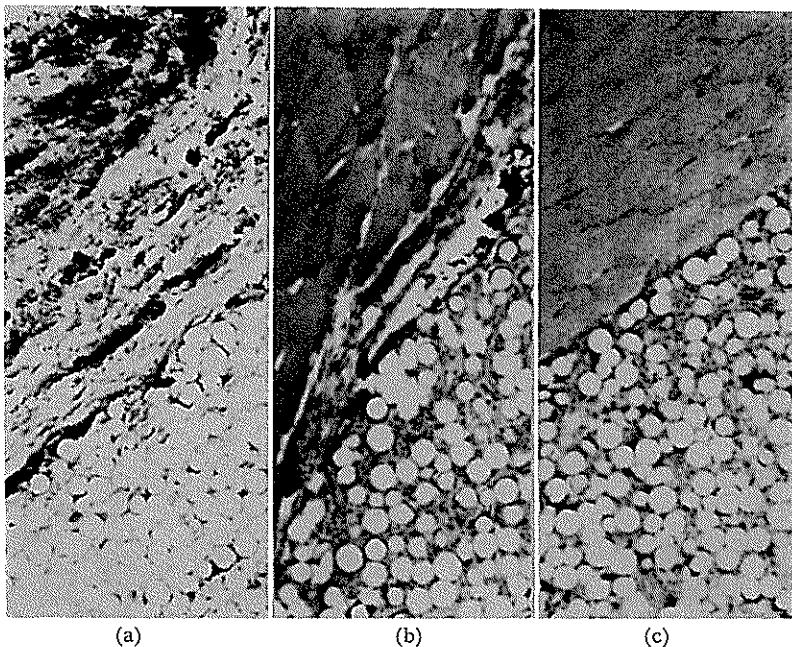


Fig. 26. Microscopic views of tissue reaction to the implanted microsphere coated with PIC 1 month after implantation in subcutaneous muscle.  
 (a), 0.5 mol polycation-excess; (b), neutral; (c), 0.5 mol polyanion-excess.

剰の PIC (+0.5) に著しい好中球（白血球の一種）の浸潤を誘発する作用が見られた。この作用は PIC(+0.5) ≫ PIC(±0) > PIC(-0.5) の順で弱まった (Fig. 25)。さらに1か月後の慢性期の反応を皮下筋肉において観察した結果、各 PIC をコートした MS を取り囲んでいる結合組織成分からなるカプセル膜の厚さが荷電バランスと密接に相関し、PIC(+0.5) ≫ PIC(±0) > PIC(-0.5) の順に薄くなることが判明した (Fig. 26)。MS 凝集塊の周辺および内部におけるマクロファージ・巨細胞・リンパ球・形質細胞等々の細胞反応も同様の順序であった。

以上のように、ポリアニオン過剰および中性の PIC は組織反応が緩やかであるのに対し、ポリカチオン過剰 PIC では好中球浸潤やカプセル膜の肥厚化を含む著しい炎症反応が生起することが分かる。2.で詳述したように材料表面へ吸着した血漿タンパク質層は血栓形成に深くかかわっているが、このことは材料一組織間反応でも同様であると我々は考えている。変性タンパク質が炎症

反応に関係した免疫応答を引き起こすことは一部報告されており、特にコンタクトレンズ上でのタンパク変性が問題となっている。CD-UV 法で明らかにしたように、ポリカチオン過剰 PIC に吸着されたアルブミンは著しい立体構造変化を引き起す。この変性タンパク層が後々の好中球浸潤をも含めた炎症反応の直接的な原因になるのではないかと我々は考えている。

### ③親一疎水性ミクロ相分離構造を有するポリマーの評価

ミクロ相分離構造を有する ABA 型ブロックコポリマー HEMA 組成 30%, 61%, 88% の 3 種および HEMA が枝でステレンが幹となるようなグラフトコポリマー (HEMA 組成は 61%) を用いて MS 注入法を実施した。皮下組織 > 肝臓 > 脾臓の部位別反応差は他の系と同様に観察されたが、1か月後も 3か月後もミクロ相分離構造の違いによる有意の反応特異性は見られず、血小板との *in vitro* 相互作用に見られたようなシャープな差と著しい対比をなした。

以上の実験を通じて医用材料の生体反応評価法としての MS 法は、従来のフィルム切片埋入法に比べ、次のような利点のあることが明らかとなつた。

- 1) 任意の生体組織に材料を簡単に注入することが可能であり、一個体の多数点における生体反応の組織特異性まで解析しうる。
  - 2) 材料の注入に伴う、注入部位の組織に対する侵襲を格段に減少させうる。
  - 3) ある程度任意に MS の粒径を選択することが可能である。
  - 4) MS 自体がプローブとして機能するため、各組織に注入された材料を光頭・電頭によって同定することが容易である。
  - 5) MS は球形であるため埋入材料の形状などによって引き起こされる機械的刺激が小さく、化学的因子が主として効く反応に注目した材料の評価が可能である。
  - 6) 組織(細胞)との有効接触面積が大きい。
  - 7) 少量の各種高分子材料を MS にコーティングし、生体適合性を評価しうるため、被検材料がきわめて少なくてすむ。
  - 8) 小動物を用いて手軽に実験でき、しかも 1 か所に隣接し合って各種材料を注入できるので同一条件の下での材料の評価が可能である。
5. ポリイオンコンプレックスの医用機能性材料への応用

前述の基礎的な検討から P( $\kappa$ -QEAS)-PSSS が比較的良好な抗血栓性を有することが判明してきたので、最終年度はこの PIC の具体的な応用も

並行して進めた。

#### ①PIC による造粒炭のカプセル化とその透過機能

現在、急性肝不全や薬物中毒の治療に、各種の人工吸着剤や肝ミクロソームを用いる血液直接灌流が注目され、吸着剤として石油ピッヂ由來の活性炭が広く使用されているが、微小炭粒の遊離、血液有形成分への損傷などの問題点があり、抗血栓性および溶質透過性に優れた被覆材で活性炭をコートする必要がある。

そこで我々は、P( $\kappa$ -QEAS)-PSSS による造粒炭のカプセル化を行なった。カプセル化後は、炭粉遊離は著しく減少し、また、血小板粘着もほとんど防げることが判明した。一方、血清中からのクレアチニン、尿酸、ビタミン B<sub>12</sub> の吸着能を高速液体クロマトグラフィーを用いて評価したところ、PIC コート炭は未コート炭とほぼ同程度の吸着能を有しており、PIC コート炭が血液直接灌流用として有望であることが結論された。

#### ②ステレンーブタジエンースチレン (SBS) ブロック共重合体上への PIC コート

PIC の欠点は、力学特性に劣ることである。そこで我々は、力学特性に優れている SBS エラストマー上に PIC をコートし、一定強度を有する抗血栓性エラストマーの合成を試みている。すなわち、SBS 表面にスルホン酸基を導入し、それをポリカチオン、引き続いてポリアニオン水溶液に浸漬し、表面に PIC 被覆を形成させる。血小板粘着実験を行なったところ、未処理 SBS 上には、一面に偽足を出した血小板が粘着しているの

Table 7. Adhesion of cells on various polymer surfaces (by column method)

Cell species	Pre-coating of serum	Glass	Poly(methyl methacrylate)	Poly(styrene)	Poly(2-hydroxyethyl methacrylate)
Erythrocyte	×	26%	53%	—	0%
	○	7%	0%	—	0%
Neutrophil	×	63%	52%	63%	5%
	○	—	—	—	—
Lymphocyte	×	72%	—	20%	0%
	○	26%	—	3%	48%

Medium: erythrocyte—physiological saline solution; neutrophil lymphocyte—Hank's BSS..

に対し、PIC 処理 SBS 上には血小板はほとんど観察されなかった。表面処理条件をコントロールすることによって力学特性も良好に保つことが可能であり、また 10 万回までの疲労試験ではコートされた PIC の脱落は観測されなかった。また、PIC コートによりレンチン（フォスフォリピッド）の浸透およびそれに伴う劣化を防止する効果も生ずることが判明した。以上のことから SBS ブロック共重合体の表面構造を制御することにより、抗血栓性を備え、リピッドの浸透による劣化もある程度防ぐ、力学特性の良い材料への転換が可能であることが分かった。

## 6. 高分子一細胞間相互作用

前述のように、高分子の抗血栓性評価の観点から、MS と血小板との相互作用をカラムクロマトグラフィー的手法を用いて解析し、高分子の分子構造や荷電が粘着血小板の数や形態に大きな影響を及ぼすことを明らかにしてきた。本法は抗血栓性評価にとどまらず、高分子一細胞間の相互作用間の解析にも適用でき、この成果は、異物認識機構の解明、生理活性高分子、細胞培養用高分子の合成、細胞分離法の開発などに対する基礎的な知見を与えるものと思われた。

そこで我々は、カラム法を発展させ、各種血液細胞と高分子との相互作用の検討を開始しつつある。結果の一部を Table 4 に示す。犬の赤血球、リンパ球、好中球を対象とし、ポリスチレン、ポリメタクリル酸メチル、ポリ HEMA、およびガラスへの粘着を調べてみると、各細胞で応答がかなり異なることが分かる。また、カラムをあらかじめ血漿でブレコートして測定してみると挙動は大きく変化する。

高分子材料表面上の荷電バランス、親疎水性ドメインなどを制御することは比較的容易である。分子設計された表面のミクロ構造を制御された高分子材料と細胞との相互作用を検討し、パラメータごとに図表化していくことにより、生きた細胞表面を非破壊的に characterization していくことが可能であると我々は考えており、この 3 年間に得られた知識を土台として、さらにこの方面的仕事をおしすすめていくつもりである。

## 謝 詞

医用高分子と生体との反応を分子レベルで解析していくこうとする研究が世界的にぼっ興し始めた、まさにその適切な時期に、3 年間にわたって我々の研究を暖かく見守り、また、惜しみない援助を与えて下さった日産科学振興財團に深く感謝の意を表します。また、施設使用などに御便宜を与えて下さった（財）日本心臓血管研究振興会にも厚く感謝致します。

## 研究報告（報文）

- 1) T. Akaike, K. Takakusa, E. Hiratsuka, K. Urasawa, Y. Sakurai, K. Kataoka, S. Inoue, T. Tsuruta, K. Sakaoku and S. Miyata: The estimation of the bioreactions of polymer materials by the microsphere method. *Jinkō Zōki (Artificial Organs)*, 7, 181 (1978).
- 2) T. Akaike, K. Urasawa, E. Hiratsuka, Y. Sakurai, S. Miyata, K. Sakaoku, T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, K. Kataoka and T. Tsuruta: The estimation of the local bioreactions to polymer materials by microsphere injection method. *Jinkō Zōki (Artificial Organs)*, 8, 251 (1979).
- 3) T. Akaike, Y. Sakurai, K. Kosuge, Y. Senba, K. Kuwana, S. Miyata, K. Kataoka and T. Tsuruta: Study on the interaction between plasma proteins and polyion complexes. *Kobunshi Ronbunshu*, 36, 217 (1979).
- 4) T. Akaike, Y. Sakurai, K. Kosuge, K. Kuwana, A. Katoh, T. Ohwaki, S. Miyata, K. Kataoka and T. Tsuruta: Study on the interaction between plasma proteins and synthetic polymers by circular dichroism. *ACS Polymer Preprints*, 20, 581 (1979).
- 5) Y. Sakurai and T. Akaike: Interfacial phenomenon in Biomaterials Chemistry. *ACS Polymer Preprints*, 20, 337 (1979).
- 6) T. Okano, M. Katayama and I. Shinohara: The influence of hydrophilic and hydrophobic domains on water wettability of 2-hydroxyethyl methacrylate-styrene copolymers. *J. Appl. Polymer Sci.*, 22, 369 (1978).
- 7) T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, T. Akaike and Y. Sakurai: Interaction between plasma protein and microphase separated structure of copolymers. *Polymer J.*, 10, 223 (1978).
- 8) T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, T. Akaike, Y. Sakurai, K. Kataoka and T. Tsuruta: Effect of the microphase separated structure on interfacial interaction between

- platelet and the surface of block copolymers. *Jinkō Zōki (Artificial Organs)*, 8, 292 (1979).
- 9) T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, T. Akaike and Y. Sakurai: Effect of hydrophilicity and hydrophobicity on interaction between polymer and blood protein. *Kobunshi Ronbunshu*, 36, 209 (1979).
  - 10) T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, T. Akaike, Y. Sakurai, K. Kataoka and T. Tsuruta: Role of microphase separated structure on the interfacial interaction of polymer with blood. *ACS Polymer Preprints*, 20, 571 (1979).
  - 11) Y. Nitadori and T. Tsuruta: Synthesis of soluble poly(divinylbenzene) by lithium amide catalyzed anionic polymerization. *Makromol. Chem.*, 179, 2069 (1978).
  - 12) Y. Nitadori and T. Tsuruta: Lithium amide catalyzed anionic polyaddition of divinylbenzene with *N,N'*-diethylethylenediamine. *Makromol. Chem.*, in press (1979).
  - 13) J. Yukawa, K. Kataoka, Y. Nitadori and T. Tsuruta: Synthesis of new monomers by addition reactions of diethylamine to meta-divinylbenzene catalyzed by lithium diethylamide. *Polymer J.*, 11, 163 (1979).
  - 14) Y. Nitadori, M. Maeda and T. Tsuruta: Polyamine macromers by anionic polyadditions of divinylbenzene with diamines. *ACS Polymer Preprints*, 20, 539 (1979).
  - 15) M. Maeda, Y. Nitadori and T. Tsuruta: New functional polymers possessing alkylamino groups (13). Synthesis of new monomers possessing primary or secondary amino groups. *ACS Polymer Preprints*, 20, 880 (1979).
  - 16) K. Kataoka and T. Tsuruta: Polymerization and Quaternization of 1-(2-diethylaminoethyl)-4-vinylbenzene: A new cationic polyelectrolyte. *Makromol. Chem.*, 179, 1431 (1978).
  - 17) K. Kataoka, T. Akaike, Y. Sakurai and T. Tsuruta: Effect of charge and molecular structure of polyion complexes on morphology of adherent blood platelets. *Makromol. Chem.*, 179, 1121 (1978).
  - 18) K. Kataoka and T. Tsuruta: Synthesis and polymerization of 1-(2-N-aziridinoethyl)-4-vinylbenzene. *Polymer Bull.*, 1, 23 (1978).
  - 19) K. Kataoka, N. Ohki, T. Tsuruta, N. Donkai and H. Inagaki: Synthesis of a cationic polyelectrolyte by the successive quaternization of 1,4-bis(2-diethylaminoethyl)benzene. *Makromol. Chem.*, 180, 65 (1979).
  - 20) K. Kataoka, T. Akaike, Y. Sakurai and T. Tsuruta: Biomedical behaviors of synthetic polyion complexes toward blood platelets. *Makromol. Chem.*, accepted.
  - 21) K. Kataoka, T. Tsuruta, T. Akaike, Y. Sakurai, S. Miyata and K. Kosuge: Study on the interaction between polyion complex and blood components. *Jinkō Zōki (Artificial Organs)*, 7, 1070 (1978).
  - 22) K. Kataoka, T. Tsuruta, T. Akaike, Y. Sakurai, I. Gono, S. Miyata and K. Sakaoku: Preparation and properties of polyion complex coated activated charcoal. *Jinkō Zōki (Artificial Organs)*, 8, 296 (1979).
  - 23) K. Kataoka, T. Tsuruta, T. Akaike and Y. Sakurai: Interaction between blood platelets and synthetic polyion complexes. *ACS Polymer Preprints*, 20, 585 (1979).
  - 24) T. Tsuruta: Biomedical polymers having amino group. *ACS Polymer Preprints*, 20, 350 (1979).
  - 25) T. Mastui, S. Tanaka, T. Akaike, Y. Sakurai, Y. Nitadori, K. Kataoka and T. Tsuruta: Study on plasma proteins adsorbed on polymer surfaces by fourier transform infrared spectrometry. *J. Bioengineering*, 2, 539 (1979).

#### 研究発表

- 1) 「マイクロスフィア法による材料の生体反応の解析(I)」, 第14回日本人工臓器学会(1976.11.東京): 講演抄録, p. 17, 赤池, 桜井, 坂奥, 浜島, 宮田, 桑名, 仙波.
- 2) 「ジアルキルアミノ基を有するモノマーからの生体医用ポリマーの合成とその生体適合性」, 第6回医用高分子シンポジウム(1976.11.東京): 講演要旨集, p. 15, 片岡, 鶴田, 赤池, 桜井.
- 3) 「高分子材料と血漿たんぱく質との相互作用」, 第6回医用高分子シンポジウム(1976.11.東京): 講演要旨集, p. 17, 赤池, 桜井, 仙波他.
- 4) 「材料埋植後の異物反応の評価について」, 第6回医用高分子シンポジウム(1976.11.東京): 講演要旨集, p. 29, 赤池, 金崎, 桜井.
- 5) 「マイクロスフィア法による材料の生体反応の解析(II)」, 第26回高分子学会年次大会(1977.5.京都): 講演要旨集, p. 551, 赤池, 桜井, 鶴田, 仙波, 桑名, 坂奥, 浜島, 片岡他.
- 6) 「分光学的手法による高分子—血漿たんぱく質間相互作用の解析」, 第26回高分子学会年次大会(1977.5.京都): 講演要旨集, p. 553, 仙波, 桑名, 宮田, 片岡, 鶴田, 赤池, 桜井.
- 7) 「アルキルアミノ基を有する機能性ポリマー[IV]ジエチルアミノエチルスチレンモノマーの四級化とポリイオンコンプレックス生成条件の検討」, 第26回高分子学会年次大会(1977.5.京都): 講演要旨集, p. 89, 片岡, 鶴田.
- 8) 「コラーゲン止血剤: 第2報」, 第77回日本外科学会総会(1977.4.東京): 日本外科学会学雑誌第78回臨時増刊号, p. 201, 桜井, 赤池, 重広(旧

- 姓金崎), 谷下, 千葉, 宇津尾, 西沢.
- 9) "Methodology in Biomaterials Chemistry", IUPAC Post-Congress Symposium in Kyoto, Session 11A, Biomedical Materials, p. 14 (1977. 9. Kyoto), Y. Sakurai and T. Akaike.
  - 10) 「マイクロスフィア法による材料の生体反応の解析(III)」, 第 26 回高分子討論会 (1977. 10. 東京): 講演予稿集, p. 1466, 赤池, 高草, 平塚, 浦沢, 桜井, 宮田, 坂奥, 片岡, 鶴田.
  - 11) 「分光学的手法による高分子一血漿たんぱく質間の相互作用の解析(II)」, 第 26 回高分子討論会 (1977. 10. 東京): 講演要旨集, p. 1462, 赤池, 桜井, 片岡, 井上, 鶴田, 小菅, 桑名, 仙波, 宮田.
  - 12) 「ポリイオンコンプレックスの分離機能材料への応用」, 第 7 回医用高分子シンポジウム (1977. 11. 東京): 要旨集, p. 11, 片岡, 鶴田, 赤池, 桜井, 宮田, 坂奥.
  - 13) 「マイクロスフィア法による材料の生体反応の解析(IV)」, 第 7 回医用高分子シンポジウム (1977. 11. 東京): 要旨集, p. 17, 赤池, 高草, 平塚, 浦沢, 桜井, 片岡, 井上, 鶴田, 宮田, 坂奥.
  - 14) 「マイクロスフィア法による材料の生体反応の解析」, 第 15 回日本人工臓器学会 (1977. 11. 名古屋): 要旨集, p. 82, 赤池, 高草, 平塚, 浦沢, 桜井, 片岡, 井上, 鶴田, 宮田, 坂奥.
  - 15) 「円二色性によるポリイオンコンプレックスと血漿タンパク質の相互作用の解析」, 第 27 回高分子学会年次大会 (1978. 5. 名古屋): 要旨集, p. 258, 小菅, 桑名, 仙波, 宮田, 赤池, 桜井, 片岡, 鶴田.
  - 16) 「カラム法による高分子材料と血液成分との相互作用の解析」, 第 27 回高分子学会年次大会 (1978. 5. 名古屋): 要旨集, p. 258, 赤池, 桜井, 片岡, 鶴田, 加藤.
  - 17) 「ポリイオンコンプレックスと血小板との相互作用の解析」, 第 27 回高分子学会年次大会 (1978. 5. 名古屋): 要旨集, p. 260, 片岡, 鶴田, 加藤, 赤池, 桜井.
  - 18) 「マイクロスフィア法によるポリイオンコンプレックスの局所生体反応性の解析」, 同: 要旨集 p. 261, 赤池, 高草, 平塚, 浦沢, 桜井, 宮田, 坂奥, 片岡, 鶴田.
  - 19) 「新しいアミンマクロマーからのクシ型ポリマーの合成とそのヘパリン担体としての可能性」, 第 8 回医用高分子シンポジウム (1978. 11. 京都): 要旨集, p. 25, 似鳥, 西村, 前田, 片岡, 鶴田, 赤池, 桜井.
  - 20) 「高分子マイクロスフィア - 細胞間相互作用: 血液細胞を中心として」, 同: 要旨集, p. 27, 片岡, 西村, 前田, 似鳥, 鶴田, 赤池, 桜井.
  - 21) 「親水一疎水型ミクロ相分離構造を有するポリマーの抗血栓性」, 同: 要旨集, p. 31, 岡野, 西山, 黒田, 篠原, 赤池, 桜井, 片岡, 鶴田.
  - 22) 「フーリエ変換赤外分光法による高分子表面に吸着した血漿たんぱく質の識別」, 第 28 回高分子学年次大会 (1978. 5. 名古屋): 要旨集, p. 254, 松井, 田中, 赤池, 桜井, 似鳥, 片岡, 鶴田.
  - 23) 「血液タンパク質吸着に及ぼすポリマー表面の親水性および疎水性の影響」, 同: 要旨集, p. 255, 岡野, 西山, 篠原, 赤池, 桜井, 桑名, 宮田.
  - 24) 「血液タンパク質によるミクロ相分離構造の識別」, 同: 要旨集, p. 256, 岡野, 西山, 篠原, 赤池, 桜井.
  - 25) 「ミクロ相分離構造における血漿タンパク質の吸着挙動」, 第 27 回高分子学会年次大会 (1978. 5. 名古屋): 要旨集, p. 257, 桑名, 小菅, 宮田, 赤池, 桜井, 岡野, 西山, 篠原.
  - 26) 「ポリイオンコンプレックスハイドロゲルと血液成分との相互作用」, 第 16 回日本人工臓器学会, D-24 (1978. 9. 東京), 片岡, 鶴田, 赤池, 桜井, 宮田, 小菅.
  - 27) 「ポリイオンコンプレックス膜によるタンパク質の吸着制御の可能性」, 第 27 回高分子討論会 (1978. 10. 京都): 予稿集, p. 1394, 赤池, 桜井, 小菅, 桑名, 宮田, 片岡, 鶴田他.
  - 28) 「生体と高分子との界面現象の解析」, 第 13 回高分子化学の未解決問題シンポジウム (1978. 2. 東京): 要旨集, p. 13, 赤池.
  - 29) 「高分子一生体間界面現象の解析方法における問題点」, 医用高分子研究会“高分子と生体の界面” (1978. 6. 東京): 要旨集(別刷), p. 1, 赤池.
  - 30) 「マイクロスフィア注入法による材料の局所生体反応の解析」, 第 16 回日本人工臓器学会 (1978. 9. 東京): 抄録, p. 138, 赤池, 桜井, 宮田, 坂奥, 岡野, 篠原, 片岡, 鶴田他.
  - 31) 「高分子の分子構造と血液適合性: 血液成分に及ぼすポリイオンコンプレックスの分子構造の影響」, 第 27 回高分子討論会 (1978. 11. 京都): 要旨集, p. 1398, 片岡, 鶴田, 赤池, 桜井.
  - 32) 「ミクロ相分離構造を有するポリマーの抗血栓性」, 第 16 回人工臓器学会 (1978. 9): 抄録, p. 143, 岡野, 西山, 篠原, 赤池, 桜井, 片岡, 鶴田.
  - 33) 「血漿タンパク質吸着に及ぼす親水一疎水型ミクロ相分離構造の影響」, 高分子討論会 (1978. 11): 要旨集, p. 1390, 岡野, 西山, 赤池, 桜井.
  - 34) 「抗血栓性ポリイオンコンプレックスによる造粒炭のカプセル化とその透過機能」, 第 16 回日本人工臓器学会大会 (1978. 9. 東京): 抄録, p. 143, 片岡, 鶴田, 赤池, 桜井, 宮田, 坂奥.
  - 35) 「ポリイオンコンプレックスハイドロゲルと血液成分との相互作用」, 同, 抄録, p. 86, 片岡, 鶴田, 赤池, 桜井, 宮田, 小菅.
  - 36) 「高分子の分子構造と血液適合性: 血液成分に及ぼすポリイオンコンプレックスの分子構造の影響」, 第 27 回高分子討論会 (1978. 11. 京都): 要旨集, p. 1398, 片岡, 鶴田, 赤池, 桜井.
  - 37) 「フーリエ変換赤外分光法による高分子表面に吸着した血漿たんぱく質の識別」, 第 28 回高分子学

- 会年次大会（1979.5. 東京）：要旨集，p. 255，松井，田中，赤池，桜井，似鳥，片岡，前田，鶴田。
- 38) 「ポリイオンコンプレックス膜—血小板間相互作用におよぼす吸着たんぱく質のコンホーメーションの役割」，同：要旨集，p. 256，加藤，大脇，小菅，宮田，赤池，桜井，片岡，鶴田。
- 39) 「ミクロ相分離構造表面と血小板との相互作用に及ぼす吸着たんぱく質層の影響」，同：要旨集，p. 257，岡野，西山，島田，篠原，赤池，桜井，片岡，鶴田。
- 40) 「表面を化学処理したSBSブロックコポリマーの力学特性と血液適合性」，同：要旨集，p. 258，大脇，加藤，宮田，赤池，桜井，片岡，鶴田。
- 41) 「官能基を有するポリアミドの細胞親和性」，同：要旨集，p. 259，緒方，讃井，田中，高橋，赤池，桜井。
- 42) 「“高分子ミクロスフィア—細胞”間相互作用(2)：各種官能基を有する高分子に対するリンペ球，好中球の粘着挙動と形態変化」，同：要旨集，p. 260，前田，西村，片岡，似鳥，赤池，桜井。
- 43) 「合成分子材料を用いる粘着クロマトグラフィーによる細胞分離の試み」，繊維学会昭和54年年次大会研究発表会（1979.6. 東京）：要旨集，p. 98，片岡，西村，前田，似鳥，鶴田，赤池，桜井。
- 44) 「抗血栓性高分子材料におけるミクロ相分離構造の役割」，同：要旨集，p. 107，岡野，西山，島田，鶴木，篠原，赤池，桜井，片岡，鶴田。
- 45) 「ポリイオンコンプレックスへの血漿たんぱく質の吸着特性の解析」，同：要旨集，p. 110，加藤，実川，大脇，宮田，赤池，桜井，片岡，鶴田。
- 46) 「卵白リゾチームおよび牛血清アルブミンのポリイオンコンプレックス膜への吸着特性の解析」，同：要旨集，p. 97，加藤，実川，大脇，宮田，赤池，桜井，片岡，鶴田。
- 47) "Study on the Interaction between Plasma Proteins and Synthetic Polymers by Circular Dichroism", ACS/CSJ Chem. Cong. (1979. 4. Honolulu): *Polymer Preprints*, 20, 581, T. Akaike, Y. Sakurai, K. Kosuge, S. Miyata, K. Kataoka and T. Tsuruta, et al.
- 48) "Interaction between Blood Platelets and Synthetic Polyion Complexes", ibid.: *Polymer Preprints*, 20, 585, K. Kataoka, T. Tsuruta, T. Akaike and Y. Sakurai.
- 49) "Interfacial Phenomenon in Biomaterials Chemistry", ibid.: *Polymer Preprints*, 20, 337, Y. Sakurai and T. Akaike.
- 50) "Role of Microphase Separated Structure on the Interfacial Interaction of Polymer with Blood", ibid.: *Polymer Preprints*, 20, T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, T. Akaike, Y. Sakurai, K. Kataoka and T. Tsuruta.
- 51) "Effect of Microphase Separated Structures on the Interfacial Interaction between Block Copolymers and Blood Components", 2nd Annual Meeting of International Society for Artificial Organs (1979. 4. New York): Abstract, p. 33, T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, K. Kuwana, S. Miyata, K. Kataoka, T. Tsuruta, T. Akaike and Y. Sakurai.
- 52) 「材料生化学の展望～医用機能性高分子の分子設計をめざして～」，繊維学会第12回夏季セミナー（1979.8. 愛知県西浦）：要旨集，p. 28，赤池，桜井，片岡，岡野。