

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09240

研究課題名(和文) 補助人工心臓ドライブライン感染制御等のための抗菌ポリマーを用いた部材の開発

研究課題名(英文) Development of antibacterial polymeric films for control of ventricular assist device driveline infections

研究代表者

寺澤 幸枝 (TERAZAWA, Sachie)

名古屋大学・医学部附属病院・病院講師

研究者番号：50566990

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：重症心不全患者に対し用いられる植込型補助人工心臓は、駆動電源確保のための「ドライブライン」が皮膚を貫通して存在し、常に感染のリスクを包含している。本研究ではドライブライン感染を予防するため、殺菌性を有するカオチン性ポリマー-Poly(METAC) による部材を開発することを目的とした。METAC基を含有する共重合体を合成し、ポリビニルアルコール(PVA)と熱架橋することでフィルムの成形加工に成功した。このフィルムは、不水溶性、抗菌作用、血液適合性を示し、ドライブライン感染予防のための部材として有用である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

カオチン性ポリマーが抗菌作用を持つことは知られているが、Poly(METAC)による抗菌性医療デバイス開発に向けた研究報告はない。本研究で明らかとなった共重合体合成による一次構造の制御や形成加工、抗菌効果は学術的意義の高い成果である。また、本研究で開発したPVA/Poly(METAC)フィルムはドライブライン感染を予防するだけでなく、創部の場所や状態に合わせてシートやガーゼなど様々な形状へ加工することで、他の皮膚貫通性ライン(体外式VAD送脱血管、中心静脈、IABP、ドレーンなど)へ応用することも可能であることから、臨床的意義の高い研究であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Implantable ventricular assist devices used for patients with severe heart failure have a "driveline" that penetrates the skin to secure a drive power supply, and always involve the risk of infection. This research aimed to develop an infection preventive material using Poly (METAC), which are cationic polymer having antibacterial properties, in order to prevent driveline infection. We synthesized a copolymer containing a METAC group and succeeded in forming a film by thermally cross-linking it with polyvinyl alcohol (PVA). This film showed water-insoluble, antibacterial effects, and blood compatibility, suggesting that this film may be useful for preventing driveline infection.

研究分野：医学

キーワード：感染 ドライブライン ポリマー 抗菌

1. 研究開始当初の背景

植込型補助人工心臓(VAD)は、重症心不全患者の非薬物療法として劇的な治療効果をもたらしてきた。VADシステムには駆動電源確保のための皮膚を貫通した「ドライブライン」があり、それが潜在的に感染リスクを包含しており、この治療の最大の欠点となっている。VAD患者においてドライブライン感染は2年以内約半数に発症し、デバイス感染は生命予後を規定する最も重要な因子の一つで、感染が縦隔炎に進展した場合は致命的となる。さらにポンプ感染に至りデバイス交換を余儀なくされると、ポンプ1台2000万円弱と医療経済的な負担も大きい。ドライブラインをなくすことが感染に対する根本的な解決策ではあるが、それが不可能である現状では、感染を予防制御することが最も重要な課題である。本邦のVAD患者の平均心臓移植待機期間は1000日以上に渡っており、日常の消毒だけで感染を制御するには限界がある。またディステーションセラピーが導入された場合、生涯に渡って感染防御維持が必要となり、その対策は患者にとって死活問題である。長期抗菌性を維持する感染制御材料は、国内外で確立したものはなく、革新的な材料の創出が望まれている。

研究代表者らは、殺菌性・抗菌性を持つとされるカチオン性ポリマー、ポリ([2-(メタクリロイルオキシ)エチル]トリメチルアンモニウムクロリド(poly(METAC))¹)に着目した。カチオン性ポリマーは、静電作用による細菌の細胞膜破壊による抗菌作用を示し耐性菌の発現を抑制するが、その一方で細胞内タンパクと非特異的吸着して細胞の正常な働きを阻害することによる細胞毒性や溶血性も示す。また、高分子一次構造の制御が難しく、高度管理医療機器への応用はハードルが高いとされている。一方、poly(METAC)は化学的安定性を持ち、他モノマーとの共重合や低分子化合物の修飾などの一次構造制御が容易であること、かつ安価であることから、医療用デバイスへの応用が期待できると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、補助人工心臓ドライブライン感染制御等のためのPoly(METAC)を基材とした安定的な抗菌作用を有する新規感染制御材料の創出を試みた。

3. 研究の方法

(1) Poly(METAC)溶液またはpoly(METAC)ゲルの作製と抗菌性評価

METACを共重合しpoly(METAC)溶液を作成した。また、poly(METAC)に架橋剤を用いてpoly(METAC)ゲルを作成した。MIC(最小発育阻止濃度)法により、大腸菌、枯草菌、黄色ブドウ球菌、緑膿菌、出芽酵母およびカンジダに対するpoly(METAC)溶液とPVAとpoly(METAC)ゲルの抗菌濃度を調べた。

(2) PVA-Poly(METAC)共重合体によるフィルム状加工成形と水中安定性試験

フィルム状へ加工成形をするため、ポリビニルアルコール(poly vinyl alcohol:PVA)とベンゾオキサボロール基およびカオチン性基を持つ抗菌性ポリマーpoly(methacrylic acid):poly(MAAc), poly(METAC), poly(5-methacrylamido-1,2-benzoxaborole):poly(MAAmBO)を用いて、熱架橋や可逆的共有結合によりPVAとPoly(METAC)の共重合体(PVA-Poly(METAC))を作製した。また、Poly(METAC)の混合比条件を25 wt%もしくは50 wt%とした。

水中安定性試験では、PVA-Poly(METAC)フィルムを80℃の水中に30分間浸漬し、洗浄・乾燥した。膨潤比は、浸漬前乾燥フィルム面積と浸漬後の膨潤フィルム面積から算出した。水保持量は、浸漬前のフィルムの乾燥重量と浸漬後のフィルムの水重量から算出した。

(3) 溶血性試験

PVA-Poly(METAC)フィルムのウサギ赤血球細胞を用いて、PVA/抗菌性ポリマー溶液と混合もしくはPVA/抗菌性ポリマーフィルム上に滴下して25℃で1時間インキュベートしたのち、溶液を吸光度測定した。Positive control(P.C.)には、ウサギ赤血球細胞と0.4 wt% Triton-Xを、Negative control(N.C.)にはPBSを用いた。

(4) PVA-Poly(METAC)フィルム状の抗菌効果の検討

PVAとPoly(METAC)フィルムの抗菌効果を調べるため、PVA/抗菌性ポリマーのフィルム上に大腸菌を接種し、電子顕微鏡で菌形態を観察した。また、フィルムを浸した培養液に枯草菌を添加し培養したのち、熱量測定装置を用いて菌発熱量を計測した。

4. 研究成果

(1) メチシリン耐性無しまたは有りの黄色ブドウ球菌に対し、Poly(METAC)の固形培地または液体培地で濃度依存性に抗菌作用を示すことがわかった。次にpoly(METAC)のフリーラジカル共重合を行い、固形からゲル状への形状加工を行い、メチシリン耐性無しまたは有りの

黄色ブドウ球菌や大腸菌、カンジダ、出芽酵母に対する抗菌性を調べたところ、抗菌性を示す最低濃度は $370 \mu\text{g/mL}$ 、最高濃度は $10,000 \mu\text{g/mL}$ となり、Poly (METAC) は形状を変化させても抗菌性を有することが分かった。

- (2) PVA と poly(METAC)-(MAAc)-(MAAmBO)) コポリマーの混合水溶液を使用することで、Poly(METAC) のフィルム状への加工成形に成功した (図 1)。水中安定性試験では、PVA-Poly(METAC) フィルムの膨潤比は、混合比 25 wt% で 1.9、混合比 50 wt% で 1.7 だった。また、水保持量は混合比 25 wt% で 1.24 g、混合比 50 wt% で 0.89 g だった。このことから、PVA-Poly(METAC) フィルムは水不溶性を示した。
- (3) 培養 3 時間後において、抗菌修飾フィルムは枯草菌の増殖を認めなかった。しかし、poly(METAC-co-MAAc) は METAC 基の含有量に依存した抗菌効果を示すことがわかった。より高い抗菌効果を持たせるためには、PVA-P(MAAc) 共重合体のフィルムを作成したのち、フィルム表面に poly(METAC) をコーティングするなどの改善が必要であることが判明した。
- (4) ヒト赤血球に対し、PVA-Poly(METAC) フィルムによる溶血は見られなかった (図 2)。しかし、フィルム化に伴って poly(METAC) の含有量が減少し、抗菌性が低下することが明らかとなった。これを解決するため、フィルム表面を poly(METAC) で修飾することに成功した。

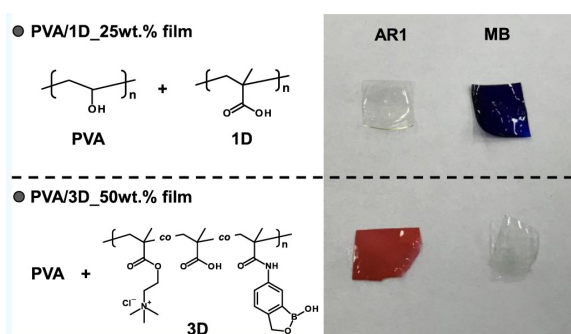


図1. PVA-poly(METAC)フィルム、参考文献2より引用

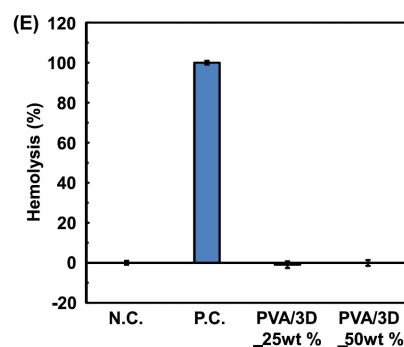


図2. 溶血性試験、参考文献2より引用

抗菌性高分子は、高分子の架橋(硬さ、強度)や表面構造(疎水性/親水性)、共重合・修飾(性質)等による一次構造によって抗菌性に差異が生じる可能性があり、Huang Z らは高分子鎖の親水性/疎水性バランスが抗菌性に関与することを報告している³。本研究では poly(METAC) の分子構造制御により、抗菌性や生体適合性を維持した不溶性のフィルム状へ加工成形することに成功した。本研究で開発して PVA- poly(METAC) フィルムは、補人工心臓ドライブライン感染制御のためのドレッシング材の材料として期待できると考える。

<参考文献>

1. Hassan MM. Binding of a quaternary ammonium polymer-grafted-chitosan onto a chemically modified wool fabric surface: assessment of mechanical, antibacterial and antifungal properties. RSC Advances. 2015;5:35497-35505.
2. Fujimoto K, Yamawaki-Ogata A, Narita Y, Kotsuchibashi Y. Fabrication of Cationic Poly(vinyl alcohol) Films Cross-Linked Using Copolymers Containing Quaternary Ammonium Cations, Benzoxaborole, and Carboxy Groups. ACS Omega 2021;6:17531-17544.
3. Huang Z, Zhang H, Bai H, Bai Y, Wang S, Zhang X. Polypseudorotaxane Constructed from Cationic Polymer with Cucurbit[7]uril for Controlled Antibacterial Activity. ACS Macro Lett. 2016;5:1109-1113.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	成田 裕司 (NARITA Yuji) (60378221)	名古屋大学・医学部附属病院・講師 (13901)	
研究分担者	緒方 藍歌 (OGATA Aika) (70718311)	名古屋大学・医学系研究科・特任講師 (13901)	
研究分担者	小土橋 陽平 (KOTSUCHIBASHI Yohei) (60723179)	静岡理科大学・理工学部・准教授 (33803)	
研究分担者	齋藤 明広 (SAITO Akihiro) (50375614)	静岡理科大学・理工学部・教授 (33803)	
研究分担者	六鹿 雅登 (MUTSUGA Masato) (80447820)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------