

令和 2 年 6 月 6 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2019

課題番号：26462200

研究課題名(和文) クラゲコラーゲンを利用した人工硬膜の作成とその性能評価

研究課題名(英文) Evaluation of the artificial dura produced from the jellyfish collagen.

研究代表者

小寺 俊昭 (Kodera, Toshiaki)

福井大学・学術研究院医学系部門・准教授

研究者番号：10283178

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ミズクラゲ由来コラーゲンに短波長紫外線(UVC)を照射しながら乾燥させ、それを重層させてコラーゲンシートを作成した。市販されているブタ由来コラーゲンでも同様にコラーゲンシートを作成した。

クラゲコラーゲン上でのヒト髄膜細胞培養実験では、ブタコラーゲン上に比べ、ヒト髄膜細胞の生着・増殖は不良だった。

ラット硬膜欠損モデルにコラーゲンシートを移植した動物実験では、クラゲコラーゲン、ブタコラーゲンとも生着は不良であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2014年にこの研究を始めたきっかけは、脳外科手術では閉頭時に代用硬膜を使う機会が多いこと、欧米で汎用されているウシ由来コラーゲンによる人工硬膜は、日本では異常型プリオン感染(ウシ海綿状脳症：狂牛病)を危惧して使用されなかったこと、当時エチゼンクラゲやミズクラゲの大量発生が社会問題となっていたこと、などである。クラゲからコラーゲンを抽出する技術を生かし、クラゲ由来コラーゲンから人工硬膜が作成できれば、プリオン感染のない安全な代用硬膜として期待され、かつ有害で利用価値のないクラゲを有効利用できると考えた。

今回の研究では、クラゲ由来コラーゲンは代用硬膜には適していないという結果になった。

研究成果の概要(英文)： Collagen sheets were formed out of the jellyfish collagen and the swine collagen dried with UVC.

Cultured human meningeal cells grew on the jellyfish collagen sheet less than on the swine collagen sheet.

Neither the jellyfish collagen sheet nor the swine collagen sheet adhered to the rat's recipient dura two weeks after implanted over the rat's dural defect.

研究分野：脳神経外科

キーワード：人工硬膜 コラーゲン ミズクラゲ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 研究の背景 1: 脳外科手術と人工硬膜

脳外科手術では、頭蓋骨を開いた後、硬膜(脳を包む硬い膜)を開いて脳に到達する。脳の病変に対する処置を行った後、手術最終段階の閉頭時に、いったん開いた硬膜を縫合して元の状態に戻さなければ、術後に髄液漏(脳を取り囲む脳脊髄液の漏れ出し)を来すことになる。髄液漏を来すと、通常は密閉され無菌的な状態にある頭蓋内が、常在菌が存在する頭蓋外と交通することになり、細菌感染の危険性が高くなる。細菌性髄膜炎は、命を落とすこともある危険な合併症である。

しかし硬膜は必ずしも密閉できるわけではなく、欠損部ができることもある。例えば、髄膜腫(硬膜から発生する脳腫瘍)などの手術で硬膜ごと摘出した場合、硬膜からの出血が多く凝固止血を十分に行ったため硬膜が縮んだ場合、高齢者で硬膜がもろくなっている縫合時に裂ける場合、脳が腫れていて硬膜が寄らない場合、再手術の場合、などである。その際は人工硬膜で補填することが多い。

硬膜の主成分はコラーゲンであり、欧米ではコラーゲン製の人工硬膜も用いられている。組織適合性や癒合性が高く、最終的には吸収され生体組織で置換されるため、理想的な代用硬膜と考えられる。しかしそれらはウシの腱組織由来であるため、異常型プリオン(脳に特異的に感染して、ウシ海綿状脳症や新型クロイツフェルト-ヤコブ病などを引き起こす病原体)の感染を危惧する日本では用いられていない。

日本で用いられている人工硬膜のほとんどは、非吸収性の合成樹脂であるゴアテックス人工硬膜である。これはプリオン感染などの危険性はないが、癒合性が悪く間隙ができやすいため硬膜の密閉はできず、吸収されることなく頭蓋内に残るため将来の感染源にもなり得る。代用硬膜として、理想的な人工硬膜とは言えない。

(2) 研究の背景 2: 環境被害を及ぼすクラゲの有効利用

エチゼンクラゲは年によって日本海沿岸で大量発生し、漁業に深刻な被害をもたらしている。またミズクラゲの大量発生は、火力発電や原子力発電の取水を止め、電力プラントの機能低下をもたらしている。これら大量発生したクラゲはほとんど利用価値がなく、以前はクラゲ廃棄物として扱われてきた。しかし最近日本では、クラゲからムチンやコラーゲンを抽出する技術が開発されてきている。

クラゲ由来のコラーゲンならば頭蓋内に移植してもプリオン感染の危険性はなく、日本でも本来の硬膜に近いコラーゲン製人工硬膜が使用できると考えられる。

またクラゲ由来コラーゲンによる人工硬膜が、ウシ腱組織由来コラーゲンによるものと同様の性能を持つことが証明されれば、これまで環境被害をもたらすだけで利用価値のなかったクラゲを、廃棄処分することなく有効に利用できると考えられる。

2. 研究の目的

クラゲからコラーゲンを抽出する技術を生かし、クラゲ由来コラーゲンから人工硬膜を作成する。この人工硬膜が、プリオン感染のない安全な代用硬膜として使用可能か、性能を評価する。

3. 研究の方法

(1) 人工硬膜に適したコラーゲンシートの作成

- ・材料としてはミズクラゲ由来のコラーゲンを使用し、形態としては 厚めの風乾コラーゲンシート、凍結乾燥コラーゲンシートを作成する。
- ・コラーゲンシートの強度を増すために、
短波長紫外線である UVC を照射する。UVC の強度を変えて、最適強度などの照射条

件について検討する。

電子線照射についても再検討する。その際、照射線量は 5 kGy までの小線量とする。ミズクラゲコラーゲンにデンプンを添加することにより、電子線照射によるシートの収縮・硬化を防止できないか検討する。

(2) コラーゲンシートの適性評価(in vitro 実験)

硬膜としての適性を in vitro で評価する。

- ・UVC の強度を変えて照射・作成したコラーゲンシート上で、ヒト髄膜細胞を培養する。
- ・小線量の電子線を照射して作成したコラーゲンシートや、デンプンを添加して作成したコラーゲンシート上でも、ヒト髄膜細胞を培養する。
- ・1、2、3、4 週間後にコラーゲンシートを取り出し、ホルマリン固定する。コラーゲンシートの横断面が観察できるよう切片を作成する。
- ・ヒト髄膜細胞の生着性、増殖性、コラーゲン器質の変化などについて組織学的に観察。コラーゲン器質の変化については、免疫組織学的にも観察する。

(3) コラーゲンシートの適性評価(動物実験)

- ・動物頭部の硬膜欠損部にコラーゲンシートを移植

SD ラットの頭部を開創し、頭蓋骨を一部開いて硬膜を露出させる。5 mm 径の硬膜欠損部を作成する。

(1)で作成したミズクラゲコラーゲンシートを薄切して、硬膜欠損部に置き、フィブリン糊で固着させる。皮膚を開創する。

2、4、8 週間後に、再開創する。

- ・コラーゲンシートと周囲組織の肉眼的観察

SD ラット頭部の皮膚を再開創し、髄液瘻の有無、皮膚との癒着、硬膜との癒合の程度、脳表との癒着などについて、肉眼的に観察する。

- ・コラーゲンシートと周囲組織の組織学的観察

移植したコラーゲンシートを、皮膚、頭蓋骨、脳組織とともに取り出し、ホルマリン固定する。

脳に対して冠状断となるように切片を作成する。

硬膜との癒着性、脳やクモ膜との癒着の有無、異物・炎症反応、組織新生の程度、コラーゲンシートの変化(吸収の有無など)、その他組織学的な変化について観察する。

新生組織や周囲組織の変化については、免疫組織学的にも観察する。

- ・他の代用硬膜との比較

硬膜欠損部に、ゴアテックス人工硬膜を置いた場合、ウシコラーゲン製人工硬膜を置いた場合、もともとの硬膜を戻した場合、何も置かない場合、においても上記と同様に肉眼的、組織学的に観察し、比較する。

4 . 研究成果

クラゲコラーゲン上でのヒト髄膜細胞培養実験では、ブタコラーゲン上に比べ、ヒト髄膜細胞の生着・増殖は不良だった。

ラット硬膜欠損モデルにコラーゲンシートを移植した動物実験では、クラゲコラーゲン、ブタコラーゲンとも生着は不良であった。

今回の研究では、クラゲ由来コラーゲンは代用硬膜には適していないという結果になった。

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
--	---------------------------	-----------------------	----