

令和 元年 6 月 21 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K05915

研究課題名(和文)形状材料としてキチンナノ繊維メッシュを活用した医用接着・治癒剤の開発

研究課題名(英文)Development of medical adhesive based on chitin and its nanofiber

研究代表者

齋本 博之 (SAIMOTO, Hiroyuki)

鳥取大学・工学研究科・教授

研究者番号：20186977

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：1. 医用接着剤の開発を目指し、カニ殻由来のキチン質の生体適合性に着目し、各種重合性基を導入することで、接着機能、シーリング機能を付与する研究を実施した。
2. 接着強度アップを目指し、各種キチン質ナノファイバーとの複合化に成功した。
3. 世界で初めて「オゾン/グリセロール溶液」を重合開始剤成分として光重合し、これまでの過酸化水素水と同等以上の迅速かつ高い接着性を達成することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

1. 怪我や外科手術においては、傷口の迅速かつ安全な接着またはシーリングが求められている。また、臓器など、元々、縫合困難な部位もある。本研究では、生体親和性と生体内消化性を併せ持つ「キチン質(カニ殻由来)」を活用し、秒単位の迅速な接着と、回復後には生分解されるという二つの長所を併せ持つ方法を開発した。さらに、グリセロールが生体適合性であることから、重合開始剤としてオゾン/グリセロール溶液を用いた試験を、世界で初めて達成した。
牛・豚由来等の組織や血液製剤等を用いないので、狂牛病やエイズなどの感染の危険が無い。

研究成果の概要(英文)：1. Novel biological adhesives made from chitin methacrylate derivatives and various chitin nanofibers were prepared and evaluated for their adhesive properties and biocompatibility. Quick adhesion and introduction of inflammatory cells migration were observed. These findings mean that the composites prepared in this study are promising materials as new biological adhesives.

2. As polymerization initiator, we found that ozone/glycerol solution was very useful.

3. In this study, we used biocompatible materials such as chitins and glycerol.

研究分野：生体関連高分子

キーワード：キチン キトサン ナノファイバー 生体接着剤 生体シーリング材 生体親和性 生体内消化性 キチン質複合材料

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 背景となる研究:

天然材料の機能化による医用材料の開発とその作用メカニズムの解明

キチン、キトサンはカニ殻、エビ殻などに由来する構造構築能を有する天然多糖である。即ち、巨木を形成する際に中心的役割を分担しているセルロース(植物分野)に相当する動物分野での天然材料という素質を有する。配向性の繊維径当たりの強度は、鋼鉄にも匹敵する。我々は工業材料の研究開発と同時に、キチン、キトサンに特有の生物活性にも注目し、本学農学部獣医学科および医学部との連携により、キチン、キトサンが優れた生体適合性を示すことと、その創傷治癒機構の解明を行った。これらの研究成果は、キチン、キトサンを用いた世界初の創傷治癒材料の開発実績(エーザイ・明治製菓)につながった。

(2) バイオマスの化学修飾、複合材料化およびナノファイバー創製の基礎研究:

化学修飾や複合材料化による機能化

キチン、キトサンの側鎖に機能性官能基を導入することで、新たな機能を有するキチン、キトサン誘導体の合成に成功した。

多糖の水熱処理法による低分子化

本手法により、接着に有用な硫酸基を有する多糖を天然の構造を保持したままで低分子化、低粘度化することに成功した。これらは、動物実験において生体適合性のチェックがなされていることから、本研究計画の中で予想外の問題が生じた際の、第2、第3のチョイスを与える。

カニ殻、エビ殻からキチンナノファイバーの創製

本手法は「通常は生理食塩水等の医療用の溶液にできないキチン」に関して、繊維径10~20nmの微細繊維にすれば、溶液に代わる懸濁液として利用可能であることを証明し、広範囲の臨床利用への道を切り開いた。

(3) キチン、キトサンの化学修飾およびナノファイバー懸濁液との複合化研究:

本研究の基礎となった接着・シーリング剤の開発を指向した研究である。重合性キチン誘導体単独の場合に不足していた接着強度を、キチンナノファイバー懸濁液との複合化で改善できることを見出した。しかし、この複合化だけでは臨床応用で要求される「形状対応が困難」という課題が残った。

2. 研究の目的

従来、生体接着剤の例はあるが、「接着強度、接着速度」、「取り扱いの簡便性」、「生体内消化性」、「ウイルス感染の危険が無い」、「形状の保持」という要件を全て満足するものは無い。そこで、キチンを素材とした医用接着・治癒材料において以下の三つの条件を満足する材料開発を目的とした。

「十分な生体接着性」と秒~分単位での「迅速な硬化性」の両立

縫合が不可能な臓器での利用を想定し、「成形性」の確保

キチン、キトサンの本来の長所である「生体内消化性や生体親和性の保持」

3. 研究の方法

(1) 硬化・接着性を有するキチン誘導体の合成

カルボキシメチルキチン(CM-キチン)にグリシジルメタクリレートを反応させることによりアクリル基を有するCM-キチン誘導体(HMA-CM-キチン)を合成した。

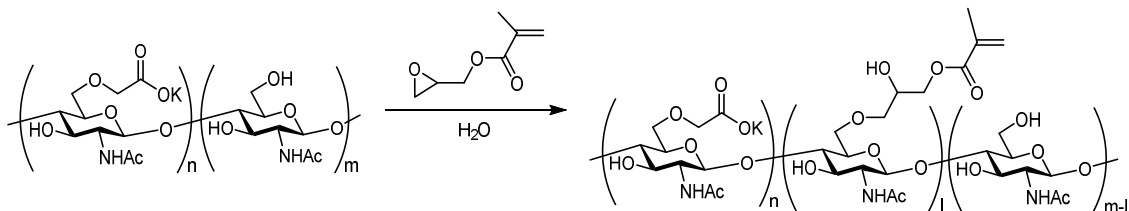


図1. 重合性官能基を有するカルボキシメチルキチン誘導体(HMA-CM-キチン)の合成

(2) HMA-CM-キチン/キチンナノファイバー複合シートの調製

形状保持、成形性を考慮し、我々の研究グループが開発したキチンナノファイバーシート(CNF)を基材とする接着性シートの開発を試みた。

CNF分散液より作成したCNFシートをアスコルビン酸(重合助剤)を含むHMA-CM-キチン水溶液(1wt%)に30分間浸漬した後、減圧乾燥又は凍結乾燥することで複合シートを調製した。さらに、浸漬-乾燥を4回繰返すことでも調製した。

(3) 光重合開始剤による光硬化性接着剤への応用

現在、開発中の接着剤/接着シートは硬化剤(過酸化水素水)を滴下する、いわゆる二液系の接着剤である。しかしながら、接着剤を塗布した後、さらに硬化剤を滴下する操作を必要とするため、適応範囲に制限がある。そこで、適応範囲を拡大するため光照射による硬化性(光硬化性)の可能性について検討した。

従来の開始剤(開始反応)であるアスコルビン酸/過酸化水素水を水溶性光重合開始剤に置き換えることでの接着性について検討した。本研究で用いた光重合開始剤は lithium phenyl (2,4,6-trimethylbenzoyl) phosphinate (L0290)。

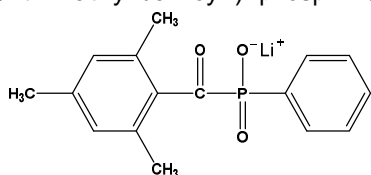


図2. 本研究で用いた水溶性光重合開始剤

(4) オゾン/グリセリン溶液の硬化剤への応用

オゾン/グリセリン($O_3/HOCH_2CH(OH)CH_2OH$)溶液は口腔洗浄剤として開発され、オゾンを長期に保存できることが報告されている。オゾンはUV照射などによりラジカルを生成することも知られていることから、このオゾン/グリセリン溶液を生体に優しい硬化剤としての利用が期待できる。

(5) 接着性評価

本研究は生体組織モデルとして用いたコラーゲンフィルムの破裂圧により接着性を評価した。

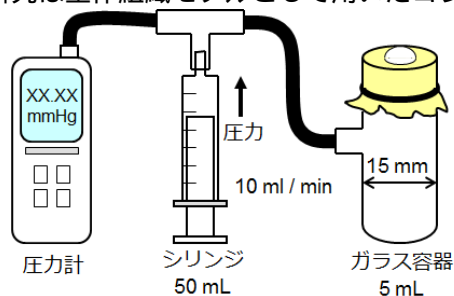


図3. 本研究で用いた破裂圧測定装置

4. 研究成果

(1) HMA-CM-キチン/キチンナノファイバー複合シートの接着性

CNFシートにHMA-CM-キチン水溶液を含浸させ、乾燥させることで複合シートが調製できた。調製法、CM-キチン誘導体含有量、破裂圧の結果を表1にまとめた。HMA-CM-キチン含有量は浸漬回数に依存して多くなった。なお、これ以上含浸-乾燥操作を行うと、シート強度が低下した。

表 1 . HMA-CM-キチン/キチンナノファイバー複合シートの接着性

複合シート作成法	HMA-CM-chitin 含有量/mg	破裂圧/mmHg
1 回浸漬-減圧乾燥	0.69±0.11	11.7±4.58
4 回浸漬-減圧乾燥	3.07±0.36	7.64±6.31
1 回浸漬-凍結	0.78±0.31	24.6±9.21
4 回浸漬-凍結乾燥	4.53±0.08	197±47.5 *
H ₂ O ₂ aq./Ascorbic acid	4.12±0.09	147±8.86

4 回浸漬-凍結乾燥を行うことで、従来法である過酸化水素水/アスコルビン酸での破裂圧を超える接着性が見られた。一方、減圧乾燥ではそのような向上は見られず、シート内での HMA-CM-キチンの偏りによりシート強度のバラつきを生じ、破裂圧が低下したものと考えている。なお、接着強度が高かった 4 回浸漬-凍結乾燥の結果のバラつきは大きかった。これは HMA-CM-キチンが増加することによるシートの柔軟性の低下によりシート形状に歪が生じやすくなったことによると考えている。そのため、シートの柔軟性を低下させない工夫が必要となる。

(2) 光硬化性の付与

HMA-CM-キチン水溶液に光重合開始剤を 1.4mg/g (b)、3.mg/g (c)、6.8mg/g (d)、13mg/g (e)を加え、UV スポット光源 (300-500nm) により、照射距離 1cm、照射時間 30 秒間光照射による接着性を評価した。結果を図 4 に示す。

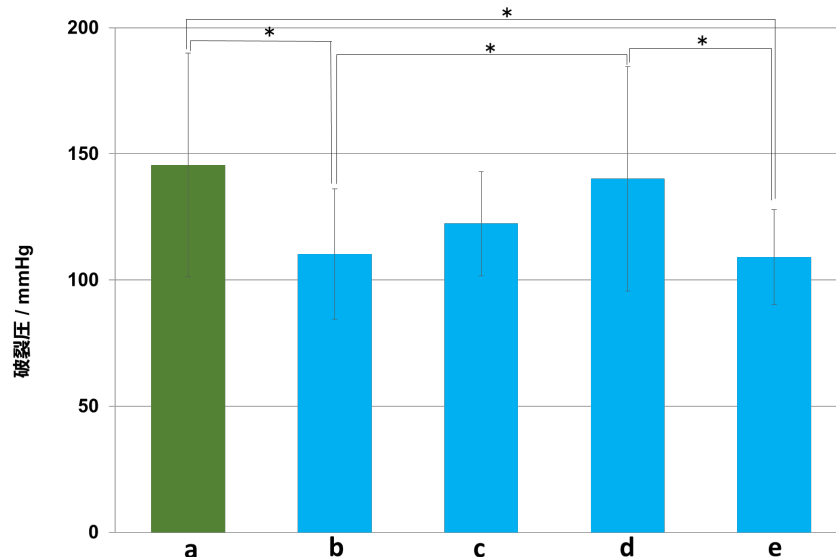


図 4 . 光重合開始剤が接着強度におよぼす効果

(a) H₂O₂/AA 開始剤、(b) 1.4mg/g、(c) 3.mg/g、(d) 6.8mg/g、(e) 13mg/g

本研究で用いた HMA-CM-キチンは光重合開始剤により光接着性を有することが示された。また、その接着性は 30 秒の光照射でも従来法である過酸化水素水/アスコルビン酸の値に匹敵した。なお、これ以上の光照射時間では接着性の低下がみられた。

この結果は本研究で開発した接着剤の適応範囲を広げることが可能であることを示しており、例えば、内視鏡を通じた塗布、光照射により、内臓深部への適応が期待できる。

(3) オゾンによる接着

HMA-CM-キチン水溶液にオゾン/グリセリン溶液を 15wt%及び 30wt%になるように加え、そこに UV スポット光源により光照射を 10 秒及び 30 秒間行った結果を図 5 に示す。

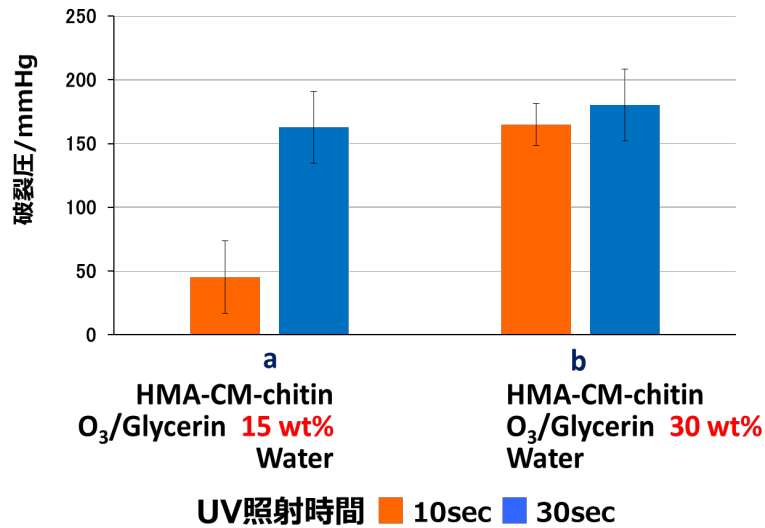


図5 . オゾン/グリセリン溶液を開始剤として光硬化性

この結果、オゾン/グリセリン溶液でも過酸化水素水/アスコルビン酸、光重合開始剤と同様、HMA-CM-キチンを硬化・接着性を付与することができ、その接着強度はそれらの開始剤と同程度であった。さらに、その硬化反応について検討するため、ラジカル禁止剤 (cupferron) 存在下での光照射を行った。

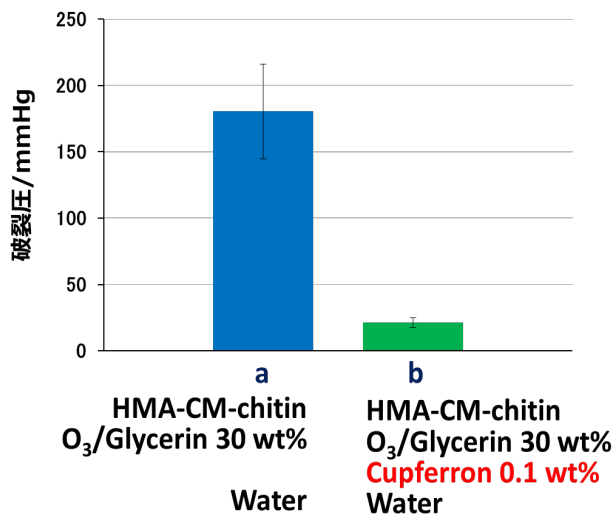
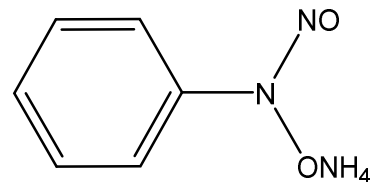


図7 . ラジカル禁止剤存在下での光硬化性
ラジカル禁止剤 : cupferron (右図)



その結果、ラジカル禁止剤により著しく接着強度が低下したことから、ラジカル反応により硬化・接着性を示すことが明らかとなった。このことは、オゾン/グリセリン溶液がラジカル開始剤として働くことを示唆しており、ラジカル重合反応への応用も期待できる。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 16 件)

Hair growth-promoting activities of chitosan and surfacedeacetylated chitin nanofibers, K. Azuma, R. Koizumi, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, T. Osaki, N. Ito, M. Yamashita, T. Tsuka, T. Imagawa, Y. Okamoto, T. Inoue, S. Ifuku, Int. J. Biol. Macromol., 126, 11-17 (2019).

Preparation and biocompatibility of a chitin nanofibre/gelatin composite film, Y. Ogawa, K. Azuma, H. Izawa, M. Morimoto, K. Ochi, T. Osaki, N. Ito, Y. Okamoto, H. Saimoto, S. Ifuku, Inte. J. Biol. Macromol., 104, 1882-1889 (2017).

Chitin nanofibrils suppress skin inflammation in atopic dermatitis-like skin lesions in

NC/Nga mice, R. Izumi, K. Azuma, H. Izawa, M. Morimoto, M. Nagashima, T. Osaki, T. Tsuka, T. Imagawa, N. Ito, Y. Okamoto, H. Saimoto, S. Ifuku, Carbohydrate Polymers, 146, 320-327 (2016).

〔学会発表〕(計9件)

光硬化性キチン誘導体を用いた生体接着剤の開発、沢田篤志、橋本淳子、井澤浩則、森本稔、伊福伸介、齋本博之、第67回高分子年次会、名古屋国際会議場、2018年5月23日

Biological adhesive using carboxymethyl chitin derivatives, A. Sawada, J. Hashimoto, H. Izawa, M. Morimoto, S. Ifuku, H. Saimoto, 12th Asia-Pacific Chitin and Chitosan Symposium (APCCS), Kansai Univ., Suita, 28th Aug. 2018.

〔図書〕(計2件)

森本 稔、齋本博之、キチン，キトサンを基材とした生体接着剤の開発、バイオマス由来の高機能材料、エヌ・ティー・エス、pp.199-206 (2016年)

東 和生、大崎智弘、岡本芳晴、齋本博之、伊福伸介、キチンナノファイバーの生体機能、キチン・キトサンの最新科学技術 - 機能性ファイバーと先端医療技術 -、技報堂出版、pp.239-252 (2016年)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

6. 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名：東 和生

ローマ字氏名：AZUMA, Kazuo

研究協力者氏名：岡本 吉晴

ローマ字氏名：OKAMOTO, Yoshiharu

研究協力者氏名：森本 稔

ローマ字氏名：MORIMOTO, Minoru

研究協力者氏名：伊福 伸介

ローマ字氏名：IFUKU, Shinsuke

研究協力者氏名：大崎 智弘

ローマ字氏名：OSAKI, Tomohiro

研究協力者氏名：井澤 浩則

ローマ字氏名：IZAWA, Hironori

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。