

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月24日現在

機関番号：15301
研究種目：若手研究（B）
研究期間：2011 ～ 2012
課題番号：23792045
研究課題名（和文） 新開発した自己集合性ペプチドゲルの創傷治癒における有効性
研究課題名（英文） The wound healing effect of newly developed self-assembling peptide gel.

研究代表者
小松 星児（KOMATSU SEJI）
岡山大学・岡山大学病院・助教
研究者番号：40423305

研究成果の概要（和文）：

新規医療材料として、自己集合性ペプチドゲルが近年注目されている。しかし、従来の自己集合性ペプチドゲルは pH が約 3～4 と酸性であり周辺への細胞傷害性が指摘されていた。岡山大学において世界初の中性の自己集合性ペプチドゲルが開発された。新開発した自己集合性ペプチドゲルが、従来の自己集合性ペプチドゲルと比べて創傷治癒における有効性があるか確認した。

研究成果の概要（英文）：

Self-assembling peptide gels are now the focus of public attention as new medical materials. However, conventional self-assembling peptide gels have a very low pH (about 3-4) retaining the potential to harm inner cells. Okayama University has developed the world's first neutral self-assembling peptide gel. I compared the wound healing effect of newly developed self-assembling peptide gel and conventional self-assembling peptide gels.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：形成外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：自己集合性ペプチドゲル、創傷治癒、局所止血剤

1. 研究開始当初の背景

(1) 自己集合性ペプチドゲルの概要

再生医療において新たに生体組織を作り出すとする場合、細胞が立体的な構造物を作るように誘導するためには、スキャフォールドが必要である。スキャフォールドに求められるのは、安全性と力学的特性である。現在スキャフォールドとして主に用いられているコラーゲンは、優れた生体適合性と力学的特性を有するものの、安全性に問題がある。これはコラーゲンが主に動物由来であり、未知の感染症の危険性を排除できないためである。より安全な生体組織の再生のために、動物由来成分を含まず、コラーゲンと同等以上の生体適合性と力学的特性の検討が可能なスキャフォールドの開発が求められていた。

その素材として注目されたのが、“自己集合性ペプチド”である。自己集合性ペプチドは、20 アミノ酸残基程度のペプチドで、水中ではβシート構造を取り、それらが会合してナノファイバーを形成する。このナノファイバー同士が絡み合い、ゲルとなる。

自己集合性ペプチドゲルは細胞培養のスキャフォールドのみならず、様々な用途が期待されている。その一つとして、創傷治癒を促進させると期待されている。創傷被覆材が創傷治癒を促進させるメカニズムは、湿潤環境保持や止血作用によるものである。また、自己集合性ペプチドゲルは、外科用止血剤として実用化される程の強力な止血作用を有する (Rutledge G. Ellis-Behnke, et al. *Nanomedicine*, 2006)。また、含水率は99%以上であり、湿潤環境の保持も可能である。それらに加えて、創傷治癒の過程において遊走する細胞の足場となり得る。このように、自己集合性ペプチドゲルは、創傷治癒においても優れた特性を持つと考えられている。

(2) 既存の自己集合性ペプチドゲル

既存の自己集合性ペプチドゲルとしては、PuraMatrix™ (スリーディーマトリックス社製) が代表的である。外科用止血剤として製造承認を申請中であり、2014年度の承認を目指している。PuraMatrix™を含有する創傷被覆材についても有効性が確認され、同社が特許出願中である (特願 2009-072556)。

しかし、既存の自己集合性ペプチドゲルは中性での溶解性が低く、pHを酸性に保つ必要があり、周辺への細胞傷害性が指摘されている (Michael E. Davis, et al. *Circulation*, 2007)。中性に調整することも可能だが、約1週間を要する上にゲルの強度低下が起きてしまう。このように、既存の自己集合性ペプチドゲルは、未だ解決すべき問題点を抱えている。

(3) 新開発した自己集合性ペプチドゲル

岡山大学では、中性領域で強い力学的強度を保持できる自己集合性ペプチドゲルの開発に世界で初めて成功した (物質特許出願中：特願 2009-54983)。従来の自己集合性ペプチドゲルの「親水性と疎水性アミノ酸の繰り返し」配列を変更し、中心部に疎水性アミノ酸を並べることによって実現できた。現在、PanaceaGel™の名称で市販されている。

2. 研究の目的

動物実験等により、次の点を明らかにしたいと考えた。第一に、局所止血作用が従来の物より優れているかを確認した。第二に、皮膚欠損創に対し創傷被覆材として使用し、創傷治癒を促進させるか確認した。第三に、縫合創の創内に滴下し、癒痕形成を抑制するか

確認した。最終的にはヒトへの臨床応用すなわち実用化を目指している。

PanaceaGel™は中性であり、酸性である従来の自己集合性ペプチドゲルに対して優位性があり、同等以上の結果を期待した。

将来的に実用化された場合の経済効果も非常に大きいと考えた。日本における市場規模は、創傷被覆材が約70億円、外科用止血剤(フィブリン糊)が約140億円とされている。今後、動物由来成分フリーの医療用ゲルとして有効性が確認されれば、使用用途の拡大が期待される。自己集合性ペプチドゲルは、従来の医療材料に取って替わる可能性を持っている。今後実用化された場合は日本に限っても数百億円の市場規模に上るものと期待される

3. 研究の方法

(1) 局所止血作用

実験動物として、ラット(Wistar)を用いた。麻酔下で開腹し、肝臓の表面をメスで切開し、出血させた。創内にPanaceaGel™を滴下し、止血されるまでの時間を測定した。PuraMatrix™及び生理食塩水でも同様の実験を行い、止血時間を比較した。

処置後7日目に再開腹し創傷を観察し、癒着や瘢痕形成について評価した。また、組織学的観察により、肝臓への組織傷害性なども確認した。組織切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色およびマッソン・トリクローム染色で観察した。

また、止血に至るメカニズムを解明するため、止血直後の出血面を透過型電子顕微鏡で観察した。

(2) 皮膚欠損創における創傷治癒

実験動物として、皮膚観察が容易になるよう、ヘアレスマウス(Hos:HR-1)を用いた。

ヘアレスマウス頭部をメスで切開し、皮膚欠損創を作成した。処置群は、PanaceaGel™新開発した自己集合性ペプチドゲルを創面に塗布した。対照群は創面をワセリンガーゼで被覆した。

処置後は経時的に創傷を観察し評価した。肉眼的観察と組織学的観察に基づいて行った。さらに、創傷および周囲皮膚を切除し、組織切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色およびマッソン・トリクローム染色で観察した。

4. 研究成果

(1) 局所止血作用

実験期間中は主に止血作用についての研究を行った。生理食塩水を滴下した場合は、止血まで約300秒を要した。一方、PanaceaGel™を滴下すると約10秒以内で止血が完了した。PuraMatrix™は約20秒必要であった。PanaceaGel™はPuraMatrix™と比較して、高い止血効果を有することが確認できた。

再開腹して観察したところ、癒着や瘢痕形成に関しては明らかな差は認められなかった。組織学的観察の結果、自己集合性ペプチドゲルの小片が瘢痕組織内に残存していたが、強い異物反応は認められなかった。

透過型電子顕微鏡で観察した結果、肝臓と自己集合性ペプチドゲルの境界において自己集合性ペプチドゲル内のナノファイバーがネットワーク構造を形成していることが判明した。このネットワーク構造が出血面を覆うため止血するものと考えられた。

(2) 皮膚欠損創における創傷治癒

創傷の治癒速度については、明らかな有意差は認められなかった。組織学的観察の結果、自己集合性ペプチドゲルの小片が瘢痕組織内

に残存していたが、強い異物反応は認められなかった。

以上の結果より、PanaceaGel™は単なる創傷被覆材としては有効性が確認できなかったが、局所止血剤としては非常に有望だと考える。今後は大動物での実験などで有効性を確認する予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計1件)

- ① 小松星児、新しい局所止血剤 ～自己集合性ペプチドゲル(PanaceaGel)～、第73回日本臨床外科学会総会、2011年11月19日、東京(京王プラザホテル)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小松 星児 (KOMATSU SEJI)
岡山大学・岡山大学病院・助教
研究者番号：40423305

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし