

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25410227

研究課題名(和文)天然ナノ複合材料を用いた医用接着・シーリング剤の開発

研究課題名(英文)Development of new biological adhesive based on chitin derivatives and chitin nanofibers

研究代表者

齋本 博之 (SAIMOTO, HIROYUKI)

鳥取大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20186977

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)：医用接着・シーリング材の開発をめざして、重合性キチン誘導体(水に可溶性均一成分)と4種類のキチン質ナノファイバー(水に不溶性、補強材成分)とをブレンドすることにより、新規な4種類の複合材料を調製した。それらの、接着性能試験と、ラットを用いた生体適合性の試験を行った結果、キチンナノファイバーまたは、表面脱アセチル化(表面キトサン化)キチンナノファイバーを用いた複合材料において、重合性キチン誘導体のみを用いた場合に比べて、接着性能を大きく改善することができた。また、これらの場合、生体適合性についても良好な結果を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：Novel composite materials were made from chitin methacrylate derivatives and various chitin nanofibers. The adhesive strength of the chitin methacrylate derivatives was much improved when they were blended with chitin nanofibers or surface-deacetylated chitin nanofibers. Moreover, these composite materials showed good biocompatibility. These findings indicate that the composites prepared in this study are promising materials as new biological adhesives.

研究分野：天然有機材料

キーワード：キチン キトサン 医用接着剤 シーリング材料 生体適合性

1. 研究開始当初の背景

- (1) 外科領域では、切開部分の縫合が行われてきたが、手技が複雑であるため「より迅速な接着、シーリング手法」が求められている。
- (2) 近年、患者への負担を軽減するために内視鏡を用いた手術が増加しており、内視鏡でも利用可能な接着技術が要望されている。
- (3) 従来の生体接着としては、血液製剤を応用したものがあるが、ウィルス感染の危険があり、より安全な材料が求められている。
- (4) 合成樹脂を用いた生体接着も開発されているが、生体内消化性が無いため、生体内に残留するなどの問題があった。

2. 研究の目的

- (1) 縫合に比較して、手技が単純で迅速に処置することが可能な生体接着・シーリング材料の開発。
- (2) ウィルス感染の危険性が無く、しかも天然高分子の長所を生かした生体内消化性の新材料の開発。
- (3) 天然高分子材料であるキチン、キトサン由来の各種ナノファイバーと複合化させることにより、補強効果を検証する。

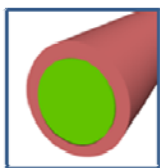
3. 研究の方法

- (1) 我々は、カニ殻、エビ殻等から得られるキチン、キトサンについて、相互の化学変換や、生体内消化性、生体親和性について知見を蓄積してきており、本研究の主材料として活用する。これまでに、創傷治癒効果や抗菌作用等、医用材料分野で有用性を示してきたが、キチン、キトサンそのものは中性の水に溶解しないので、水溶性を改善した誘導体を基材として利用する。準備研究において、硬化性を付与するための重合性の官能基を導入した各種誘導体を調製し、接着性能を検討しており、本研究に活用する。
- (2) 上記(1)の誘導体の接着性能の向上をめざし、本研究では以下の図1に示す A から D の4種類のナノ繊維を調製し、キチン誘導体との複合材料化を図り、ナノ繊維による補強効果を比較検討する。

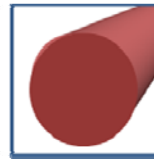


A: キチンナノファイバー (CNF) 繊維長 数 μm

B: キチンナノクリスタル (CNC) 繊維長が短い: 約 $1\mu\text{m}$ 前後



C: 表面キトサン化キチンナノファイバー (S-DACNF)
(キチンナノファイバーの表面分子のみを脱アセチル化反応処理することにより、表面はキトサン型で、内部はキチン型とする。)



D: キトサンナノファイバー (CSNF)

図1. 補強材として用いるナノ繊維

(3) それぞれの複合材料の接着性能の評価に関しては、下記の図2に示した「コラーゲン膜モデルによる破裂圧試験」で比較検討した。これは、モデルとして使用したコラーゲン膜に一定の長さの傷(切開部分)を作成し、その部分を本研究開発材料を用いてシーリングした後、圧力を加える方法である。破裂時点での圧力を比較することにより、接着・シーリング性能を評価した。その他、引っ張り試験も実施。これは、2枚のコラーゲン膜を本研究開発材料を用いて接着したサンプルを用意して、両端を引っ張る力を徐々に強くした場合に、破断するときの力を比較する方法である。次に、20年以上の共同研究実績のある獣医外科学教室の協力のもとに、生体での評価を実施して、その結果を材料設計にフィードバックすることにより、新材料の最適化を図る。

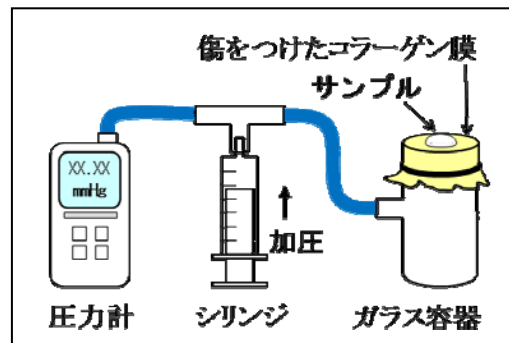


図2. コラーゲン膜をモデルによる破裂圧試験

4. 研究成果

(1) 硬化性キチン誘導体の調製および接着性、溶解性の評価: 本研究が目指すナノ複合材料において、硬化性キチン誘導体は、均一に溶解する成分であり、不溶性の補強材成分であるキチン質ナノファイバーと均一に混合できることが最重要であるため、準備研究において水溶性を確認した HMA-CM-キチン(重合性の基と、水溶性基を両方導入したキチン誘導体)をできるだけ複合材料化の前にその都度調製し、いずれの場合も良好な水溶性を確認できた。次に、本研究で比較検討する4種類のキチン質ナノファイバー分散液(A: キチンナノファイバー, B: キチンナノクリスタル, C: 表面キトサン化キチンナノファイバー, D: キトサンナノファイバー)を調

製し、硬化性キチン誘導体と、それぞれ複合化したところ、均一な複合分散剤の確認をすることができた。

(2) 硬化性キチン誘導体と、上記の4種類のキチン質ナノファイバー補強材 A, B, C, D との複合材料の接着性の評価：硬化性キチン誘導体 (HMA-CM-キチン) と図1の4種類の4種類のキチン質ナノファイバー補強材との複合材料の接着性能について、上記の「図2. 破裂圧試験」をじっし予備試験したところ、ナノファイバー補強材としては、A キチンナノファイバーおよび C 表面キトサン化キチンナノファイバーの2例が良好な接着性を示した。そこで、補強材としては、A キチンナノファイバーおよび C 表面キトサン化キチンナノファイバーの2例にしぼり、繰り返し比較実験を行ったところ、図3に示したように、ナノファイバー無添加の場合と比較して、補強材として A キチンナノファイバーまたは C 表面キトサン化キチンナノファイバーの2例を用いた複合材料の場合に、破裂圧が大きく向上し、接着性能を格段に改善するという成果が得られた。また、生体内消化性の無い樹脂を用いた市販接着剤との比較では、大きな差は見られなかった。さらに、引っ張り強度試験においても、同様の傾向が見られた。

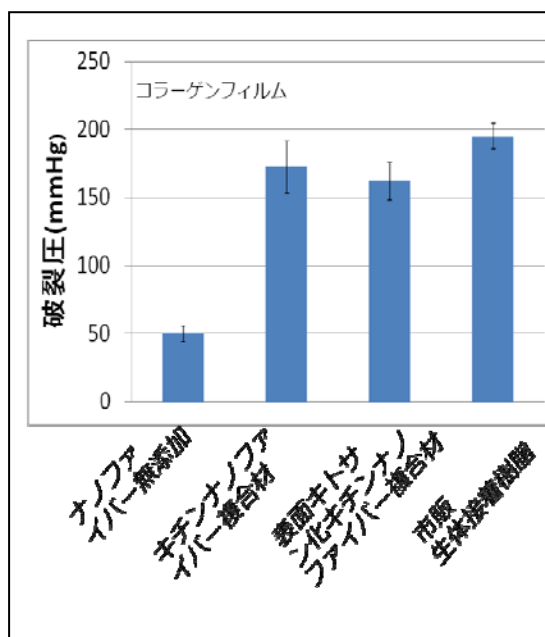


図3. 硬化性キチン誘導体とナノファイバーとの複合材料を用いた破裂圧試験

(3) キチン誘導体とキチン質ナノファイバーとの複合材料の接着性に関する獣医外科領域での評価：生体モデルとしてコラーゲン膜を用いた場合と同様に、ラット皮膚に対してカルボキシメチル化キチン誘導体のみを用いた場合と、補強材として A キチンナノファイバーまたは C 表面キトサン化キチンナノファイバーを用いて複合材料化した場合を比較したところ、複合材料化した場合が良好

な接着性とシーリング効果を示した。さらに、雑菌などを攻撃する免疫細胞も活性化しており、新規な生体接着剤として優位性を確認することができた。

(4) 国内外における位置づけ：上記の成果は、通常では均一分散液を調製することができないキチンを、「ナノファイバー化」して用いることにより、補強剤としての機能を活用できた上、操作面でも、あたかも均一溶液であるかのように扱うことが可能になったことで、初めて実現できた。このようなキチン質ナノファイバー複合材料の成果を発信することは大きなインパクトがあり、キチン、キトサン分野の国際会議 (環太平洋キチン・キトサン国際会議 (APCCS), India, 2016年9月) から発表要請があった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計20件)

- ① Biom mineralization of calcium phosphate crystals on chitin nanofiber hydrogel for bone regeneration material, M. Kawata, K. Azuma, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, S. Ifuku, *Carbohydr. Polym.*, **136**, 964-969 (2016). 査読有, Doi: 10.1016/carbpol.2015.10.009
- ② Preparation of a protein-chitin nanofiber complex from crab shells and its application as a reinforcement filler or substrate for biomineralization, S. Ifuku, T. Urakami, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, *RSC Advances*, **5**, 64196-64201 (2015). 査読有, Doi: 10.1039/C5RA12761K
- ③ Characterization of chitosan nanofiber Sheets for Antifungal Application, M. Egusa, R. Iwamoto, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, H. Kaminaka, S. Ifuku, *International J. Molecular Sci.*, **16**, 26202-26210 (2015). 査読有, Doi: 10.3390/ijms161125947
- ④ Effects of oral administration of chitin nanofiber on plasma metabolites and gut microorganisms, K. Azuma, R. Izumi, M. Kawata, T. Nagae, T. Osaki, Y. Murahata, T. Tsuka, T. Imagawa, N. Ito, Y. Okamoto, M. Morimoto, H. Izawa, H. Saimoto, S. Ifuku, *International J. Molecular Sci.*, **16**, 21931-21949 (2015). 査読有, Doi: 10.3390/ijms160921931
- ⑤ Effects of surface-deacetylated chitin nanofibers in an experimental model of hypercholesterolemia, K. Azuma, R. Izumi, M. Kawata, T. Nagae,

- T. Osaki, Y. Murahata, T. Tsuka, T. Imagawa, N. Ito, Y. Okamoto, M. Morimoto, H. Izawa, H. Saimoto, S. Ifuku, *International J. Molecular Sci.*, **16**, 21931-21949 (2015). 査読有, Doi: 10.3390/ijms160817445
- ⑥ Preparation of zwitterionically charged nanocrystals by surface TEMPO-mediated oxidation and partial deacetylation of alpha-chitin, S. Ifuku, T. Hori, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, *Carbohydr. Polym.*, **122**, 1-4 (2015). 査読有, Doi: 10.1016/j.carbpol.2014.12.060
- ⑦ Chitin, Chitosan, and Its Derivatives for Wound Healing: Old and New Materials, K. Azuma, R. Izumi, T. Osaki, S. Ifuku, M. Morimoto, H. Saimoto, Saburo Minami, Y. Okamoto, *J. Functional Biomaterials*, **6**, 104-142 (2015). 査読有, Doi: 10.3390/jfb6010104.
は⑧ (257) ¥160527
- ⑧ Facile preparation of silver nanoparticles immobilized on chitin nanofiber surfaces to endow antifungal activities, S. Ifuku, Y. Tsukiyama, T. Yukawa, M. Egusa, H. Kaminaka, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, *Carbohydr. Polym.*, **117**, 813-817 (2015). 査読有, Doi: 10.1016/j.carbpol.2014.10.042.
- ⑨ Biological adhesive based on carboxymethyl chitin derivatives and chitin nanofibers, K. Azuma, M. Nishihara, H. Shimizu, Y. Ito, O. Takashima, T. Osaki, N. Ito, T. Imagawa, Y. Murahata, T. Tsuka, H. Izawa, S. Ifuku, S. Minami, H. Saimoto, Y. Okamoto, M. Morimoto, *Biomaterials*, **42**, 20-29 (2015). 査読有, Doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.11.043.
- ⑩ Preparation of chitosan nanofibers from completely deacetylated chitosan powder by a downsizing process, Y. F. Akilog, A. K. Dutta, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, S. Ifuku, *International J. Biol. Macromol.*, **72**, 1191-1195 (2015). 査読有, Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.10.042.
- ⑪ Facile preparation of surface N-halamine chitin nanofiber to endow antibacterial and antifungal activities, A. K. Dutta, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, S. Ifuku, *Carbohydr. Polym.*, **115**, 342-347 (2015). 査読有, Doi: 10.1016/j.carbpol.2014.08.094
- ⑫ Surface maleylation and naphthaloylation of chitin nanofibers for property enhancement, S. Ifuku, N. Suzuki, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, *Reactive & Functional Polym.*, **85**, 121-125 (2014). 査読有, Doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2014.06.008
- ⑬ Novel preparation of chitin nanocrystals by H_2SO_4 and H_3PO_4 hydrolysis followed by high-pressure water jet treatment, A. K. Dutta, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, S. Ifuku, *J. Chitin Chitosan Sci.*, **2**, 179-184 (2014). 査読有, Doi: 10.1166/jcc.2014.1067
- ⑭ Surface phthaloylation of chitin nanofiber in aqueous media to improve dispersibility in aromatic solvents and give thermo-responsive and ultraviolet protection properties. S. Ifuku, N. Suzuki, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, *RSC Advances*, **4**, 19246-19250 (2014). 査読有, Doi: 10.1039/c4ra01975j
- ⑮ Control of mechanical properties of chitin nanofiber film using glycerol without losing its characteristics, S. Ifuku, A. Ikuta, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, *Carbohydr. Polym.*, **101**, 714-717 (2014). 査読有, Doi: 10.1016/j.carbpol.2013.09.076
- ⑯ Evaluation of the effect of chitin nanofibris on skin functions using skin models, I. Ito, T. Osaki, S. Ifuku, H. Saimoto, Y. Takamori, S. Kurozumi, T. Imagawa, K. Azuma, T. Tsuka, Y. Okamoto, S. Minami, *Carbohydr. Polym.*, **101**, 464-470 (2014). 査読有, Doi: 10.1016/j.carbpol.2013.09.074
- ⑰ Depolymerization of sulfated polysaccharides under hydrothermal conditions. M. Morimoto, M. Takatori, T. Hayashi, D. Mori, O. Takashima, S. Yoshida, K. Sato, H. Kawamoto, J. Tamura, H. Izawa, S. Ifuku, H. Saimoto,

Carbohydr. Res., **384**(3), 56-60 (2014).
査読有, Doi: 10.3390/j.carres.2013.11.017

- ⑱ Simple Preparation of Chitin Nanofibers from Dry Squid Pen β -chitin Powder by the Star Burst System. A. K. Dutta, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, S. Ifuku, *J. Chitin Chitosan Sci.*, **1**(3), 186-191 (2013). 査読有, Doi: 10.1166/jcc.2013.1023
- ⑲ Preparation of high-strength transparent chitosan film reinforced with surface-deacetylated chitin nanofibers. S. Ifuku, A. Ikuta, M. Egusa, H. Kaminaka, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, *Carbohydr. Polym.*, **98**, 1198-1202 (2013). 査読有, Doi: 10.1016/j.carbpol.2013.07.033
- ⑳ Simple preparation of chitosan nanofibers from dry chitosan powder by the Star Burst system. A. K. Dutta, N. Kawamoto, G. Sugino, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, S. Ifuku, *Carbohydr. Polym.*, **97**, 363-367 (2013). 査読有, Doi: 10.1016/j.carbpol.2013.05.010

[学会発表] (計11件)

- ① 泉良太郎、東和生、井澤浩則、森本稔、齋本博之、伊福伸介、表面脱アセチル化キチンナノファイバーの創傷治癒促進効果、第29回日本キチン・キトサン学会大会、2015年8月21日、東海大学熊本キャンパス、熊本。
- ② 吉橋雅、伊福伸介、森本稔、齋本博之、井澤浩則、N-硫酸化シクロデキストリングラフトキトサンの調製、第29回日本キチン・キトサン学会大会、2015年8月20日、東海大学熊本キャンパス、熊本。
- ③ Yihun.F.Akilog, Ajoy K. Dutta, 井澤浩則、森本稔、齋本博之、伊福伸介、完全脱アセチル化キトサンからの粉砕によるナノファイバーの調製、第29回日本キチン・キトサン学会大会、2015年8月20日、東海大学熊本キャンパス、熊本。
- ④ 東和生、大崎智弘、今川智敬、柄武志、伊藤典彦、村端悠介、井澤浩則、齋本博之、南三郎、岡本芳晴、伊福伸介、表面脱アセチル化キチンナノファイバーの抗肥満効果、第28回キチン・キトサンシンポジウム、2014年8月8日、順天堂大学、東京。
- ⑤ A. K. Dutta, 江草真由美、井澤浩則、森本稔、齋本博之、伊福伸介、Fascile N-chlorination of chitin nanofibers

for endowinf anti-fungal and bacterial properties、第28回キチン・キトサンシンポジウム、2014年8月7日、順天堂大学、東京。

- ⑥ 小川陽子、齋本博之、井澤浩則、森本稔、伊藤典彦、伊福伸介、第28回キチン・キトサンシンポジウム、2014年8月7日、順天堂大学、東京。
- ⑦ A. K. Dutta, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, S. Ifuku, Preparation of chitin and chitosan nanofibers from dry chitin and chitosan powder by using star burst system, 10th Asia-Pacific Chitin & Chitosan Symposium, Oct. 8, 2013, Yonago Convention Center, Yonago, Japan.
- ⑧ S. Ifuku, A. Ikuta, M. Egusa, H. Kaminaka, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, Preparation of high-strength transparent film reinforced with surface-deacetylated chitin nanofibers, 10th Asia-Pacific Chitin & Chitosan Symposium, Oct. 6, 2013, Yonago Convention Center, Yonago, Japan.
- ⑨ Y. Ito, H. Shimizu, M. Nishihara, O. Takashima, H. Izawa, S. Ifuku, M. Morimoto, T. Osaki, Y. Okamoto, S. Minami, H. Saimoto, Development of tissue adhesive using carboxymethyl chitin derivatives, 10th Asia-Pacific Chitin & Chitosan Symposium, Oct. 6, 2013, Yonago Convention Center, Yonago, Japan.
- ⑩ T. Yoneda, S. Ifuku, H. Saimoto, Y. Omura, Method for replacing water in chitin nanofibers with organic solvent, 10th Asia-Pacific Chitin & Chitosan Symposium, Oct. 6, 2013, Yonago Convention Center, Yonago, Japan.
- ⑪ M. Nishihara, T. Osaki, Y. Ito, H. Shimizu, O. Takashima, H. Izawa, M. Morimoto, S. Ifuku, H. Saimoto, K. Azuma, T. Imagawa, T. Tsuka, Y. Okamoto, S. Minami, Development of biological adhesive agents by using chitin nanofibers, 10th Asia-Pacific Chitin & Chitosan Symposium, Oct. 5, 2013, Yonago Convention Center, Yonago, Japan.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://saimotolab.sakura.ne.jp/index.ht>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋本 博之 (SAIMOTO, Hiroyuki)
鳥取大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：20186977

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

岡本 芳晴 (OKAMOTO, Yoshiharu)
鳥取大学・農学部・教授
研究者番号：50194410

森本 稔 (MORIMOTO, Minoru)
鳥取大学・生命機能研究支援センター・准教授
研究者番号：10273880

伊福 伸介 (IFUKU, Shinsuke)
鳥取大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：70402980

大崎 智弘 (OSAKI, Tomohiro)
鳥取大学・農学部・准教授
研究者番号：40431332

(4) 研究協力者