

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：37128

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26750152

研究課題名(和文) “スマート” ナノファイバーを用いたアミノ酸再吸収能を示す透析膜の開発

研究課題名(英文) Smart nanofiber for blood purification

研究代表者

滑川 亘希 (Namekawa, Koki)

純真学園大学・医療工学科・助教

研究者番号：60638568

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：現在行われている慢性腎不全に対する透析療法は透過性の高い透析膜を使用しているために栄養物質の多くが体外へ漏出してしまい、患者の低栄養が課題であった。本申請課題では、慢性腎不全患者の低栄養状態を改善するための新規透析膜の開発に取り組んだ。特に、毒素/栄養素を選択的に吸着させるナノファイバーを作製することで、有用なアミノ酸漏出を阻止し、かつ優れた尿毒素除去性能を示す透析膜の開発を行った。

研究成果の概要(英文)：In this study we developed high performance nanofibers for end-stage renal-failure patients with malnutrition. The fiber was demonstrated the ability to capture the protein-bound uremic toxins or nutrients such as amino acid.

研究分野：生体医工学

キーワード：ナノファイバー 血液浄化 尿毒素

### 1. 研究開始当初の背景

慢性腎不全に対する透析療法は、造血抑制因子や痒み因子と想定される低分子量タンパク質(分子量 10000-60000 程度)の除去を重要なターゲットとしており、透過性の高い透析膜が広く使用されてきた。しかし、現行の透析技術では腎臓と異なり再吸収機能を持たないために、栄養物質のアミノ酸の大部分が体外へ漏出してしまふ。最近の研究から、透析患者の低栄養と痩せ(筋力低下)の原因の一つが、透析治療中のアミノ酸の喪失(一回の透析治療により、総アミノ酸量が平均で 7.4 g 喪失し、そのうち 5.4 g は筋肉など細胞内より喪失)である報告がなされている [D. Fouque et al, *Kidney Int* 80 348-357 (2011), 牟田ら、腎と透析別冊 241-245 (2005)]。さらに、低栄養(アルブミンレベル 3.5 g/dL)の透析患者に対し、経口栄養補給法により生命予後が改善することが明らかになった [E.Lacson Jr et al, *Am J Kidney Dis* 60 591-600 (2012)]。また、これらの病態はタンパク結合性尿毒素との関連が疑われており、これらの除去が求められている。こうした背景から、優れた低分子量尿毒素の除去性能に加え、アミノ酸の漏出を抑制し再吸収機能を有する新規透析膜の開発が急務であった。

### 2. 研究の目的

本研究では、アミノ酸の漏出を抑制する吸着型透析膜の開発を目的とする。特に分子認識特性や流体力学特性など、優れた機能を有するナノファイバーに、合目的に精密設計したナノ粒子を組み込むことで、分子選択的な尿毒素吸着能を実現する。

### 3. 研究の方法

(1) ナノファイバーメッシュの作製には、複数の高分子やナノ粒子を自由に混合できる電界紡糸法(エレクトロスピニング法)を用いる。ファイバーのベースとなる高分子には、医療材料として実績のあるエチレンビニルアルコール(EVAL) 生体由来材料としての血清アルブミン を用いる。吸着剤としてゼオライトや活性炭などの無機粒子のほか、ファイバー自体に吸着能を付加することを検討する。

(2) ナノファイバーの形状を決めるパラメーターとして、高分子の濃度、電圧、噴出速度、電極間の距離を調節し、本研究の目的にあった最適のナノファイバーを得る。

(3) 作製したナノファイバーは TEM や AFM を用いて直径や長さ、TG/DTA を用いてナノ粒子の含有量を評価する。また、尿毒素/アミノ酸の吸着挙動を検討する。この際、ファイバーの径(表面積)やナノ粒子の含有量と吸着能を網羅的に調べることで、最適なナノファイバーメッシュの作製条件を検討する。

### 4. 研究成果

EVAL を素材とする尿毒素吸着ナノファイバーはこれまでも開発が検討されてきたが、吸着量が低値であることが課題であった。本研究においては、製膜条件を厳密に検討した結果、これまで報告されたファイバーより3倍多いクレアチニン吸着量を実現した(図1)。また、吸着剤をナノファイバーに加工することで細胞毒性が極めて低く抑えられることが明らかになった(図2)。

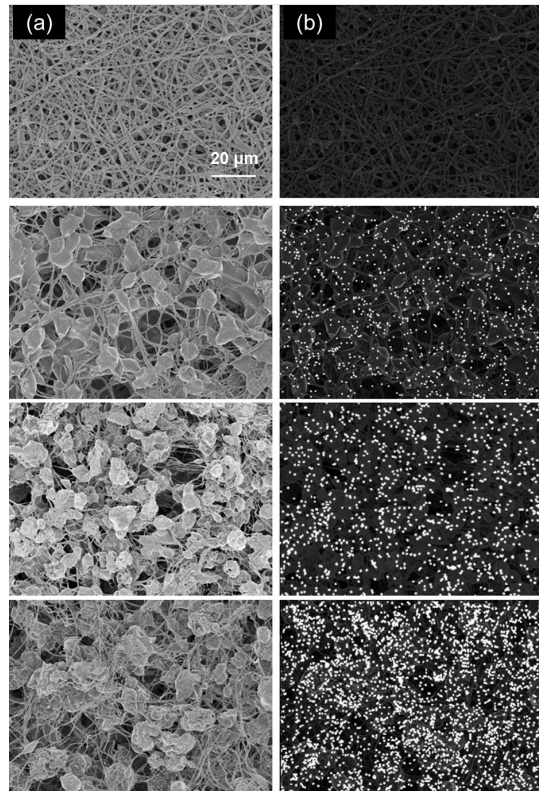


図1. (a) 作製したナノファイバーの走査型電子顕微鏡像(0, 9, 33, 47 wt% in feed) (scale bar: 20  $\mu$ m) (b) Si マッピング。吸着剤の位置を示している。

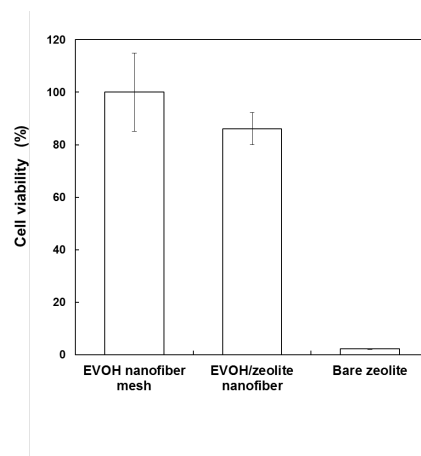


図2. 作製したファイバーに対する細胞毒性

また、ファイバー+吸着剤という組合せだけではなく、ファイバー自身に機能を持たせる観点から、生体タンパク質の血清アルブミンを用いたナノファイバーを作製した。アルブミンは物質輸送能力を担っており、様々な生理活性物質/尿毒素を吸着/脱着することができる。しかしながらアルブミンは球状タンパク質であったため、きわめて厳密な製膜条件により安定なナノファイバーを作製した(図3)。水中で安定させるためにはメルカプトウンデカノールを用いて架橋(変性)処理を行った。製膜後は、タンパク結合性尿毒素であるインドキシル硫酸を用いて吸着実験を行った(図4)。作製したアルブミンナノファイバーによりタンパク結合性尿毒素の除去に成功した。架橋変性処理を行うとファイバーは安定化される一方で、インドキシル硫酸の吸着能力が低下する傾向がみられた。

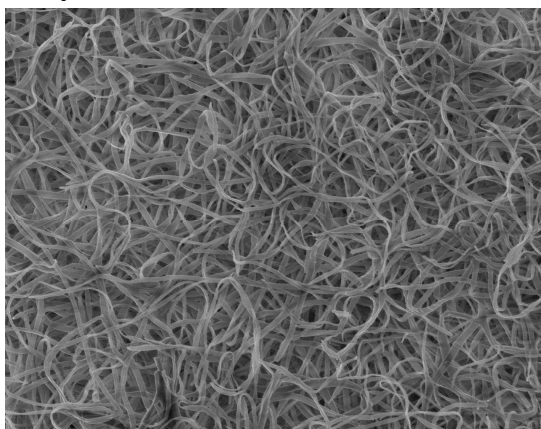


図3 . 架橋アルブミンナノファイバーの走査型電子顕微鏡像

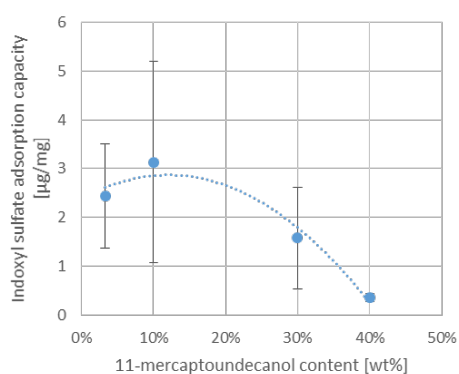


図4 . アルブミンナノファイバーのインドキシル硫酸吸着特性

ナノファイバーを母体とする血液浄化材料は、条件を綿密に検討することでシンプルな合成法ながら多くの機能を付与でき、新規デバイスとして有用と考えられる。

## 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)

〔雑誌論文〕(計 4件)

1. Ryo Takai, Rio Kurimoto, Yasuhiro Nakagawa, Yohei Kotsuchibashi, Koki Namekawa, Mitsuhiro Ebara. "Towards a Rational Design of Zeolite-Polymer Composite Nanofibers for Efficient Adsorption of Creatinine" *Journal of Nanomaterials* (in press, Article ID: 5638905 (2016))
2. Makoto Fukuda, Kengo Yoshimura, Koki Namekawa, Kiyotaka Sakai. "Technical characterization of dialysis fluid flow and mass transfer rate in dialyzers with various filtration coefficients using dimensionless correlation equation" *Journal of Artificial Organs* (2017)
3. Makoto Fukuda, Koki Namekawa, Kiyotaka Sakai. "Identical dependence of dialysate-side mass transfer coefficient on Reynolds number using dimensionless correlation based on the mass transfer model in newly developed dialyzers and a downsized dialyzer" *Advanced Biomedical Engineering* 5,118-123 (2016)
4. 山本健一郎、滑川亘希、峰島三千男 「生体適合性の評価法 (4) in vitro 評価法: 透析膜表面構造と蛋白親和性の評価」臨牀透析 32 (5) 551-555 (2016)

〔学会発表〕(計 1件)

1. 滑川亘希、青柳隆夫、荏原充宏: ナノファイバーコンポジットの作製と尿毒素の選択的除去、第43回日本血液浄化技術学会、岡山 (Apr 2016) 奨励賞受賞
2. K. Namekawa, MT. Schreiber, T. Aoyagi, M. Ebara. Fabrication of zeolite-polymer composite nanofibers for removal of uremic toxins from kidney failure patients, *Annual meeting of Society for Biomaterials*, Denver USA (Apr 2014)
3. 滑川亘希、所真人、荏原充宏、青柳隆夫: ゼオライト配合ナノファイバーコンポジットの作製と尿毒素吸着特性、第63回高分子年次大会、名古屋 (May 2014)

〔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〕

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

滑川 巨希 (NAMEKAWA, Koki)  
純真学園大学 保健医療学部  
医療工学科 助教

研究者番号：60638568

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

なし