

組織接着性バイオマテリアルの開発

国立研究開発法人物質・材料研究機構機能性材料研究拠点

西口 昭広, 田口 哲志

Akihiro NISHIGUCHI, Tetsushi TAGUCHI



西口 昭広



田口 哲志

1. はじめに

超高齢社会に突入した我が国においては、患者および術者に対する肉体的・精神的負担を低減する低侵襲医療の発展がますます重要となっている。低侵襲治療が広く普及することで、入院期間の短縮や医療費の削減が進むと期待できる。一方で、内視鏡技術が大きく進歩しているにもかかわらず、術後の合併症は依然として臨床において大きな課題となっている。たとえば、術後癒着は、手術創部と周辺の臓器が、組織修復の過程で一体化する術後合併症であり、開腹手術を受けた患者の90%以上で発生する。術後癒着によって、腸閉塞や不妊症、腹部痛が引き起こされるため、術後QOLの低下や在院期間の延長、再手術の原因となる。そのため、術後の合併症を予防可能な治療方法や医療材料の開発が必要とされている。なかでも、組織接着剤に代表される医療材料は、創部の物理的保護やシーリング、迅速な止血、臓器・組織の術後癒着の防止など、様々な用途に用いられる¹⁾。たとえば、液剤型の組織接着剤は、縫合が困難な軟らかい組織にも適用することが可能であり、スプレーするだけでシーリングできるため、手術時間を短縮することができる²⁾。液剤型の組織接着剤としては、シアノアクリレート系接着剤³⁾やフィブリン糊⁴⁾などが臨床で使用されている。特にフィブリン糊は、その高い生体適合性から広く使用されているが、組織接着性が低く、また血液製剤であるため感染のリスクがある。一方、化学反応をベースとした接着剤では、高い組織接着性が得られるが、毒性

が強く、炎症反応を誘起することが課題である。そのため、生体適合性と十分な組織接着性を兼ね備えた医療材料の開発が重要であり、多くの研究が進められている。

本稿では、術後合併症の予防に向けた、組織接着性を有する生体材料(組織接着性バイオマテリアル)の設計と医療機器としての展開について、当グループの研究成果を中心に紹介する。

2. 生体組織接着に向けた材料設計

生体組織は、水を多量に含んだゲル状の構造体である。そのため、組織表面には水和層が存在しており、材料を直接組織に接着させることは非常に困難である。また、消化管や血管などにおいては、組織液や血液による液剤成分の希薄化が起きるため、接着強度が低下する傾向がある。湿潤環境における生体組織接着を可能とする接着様式としては、生体組織と直接結合を形成する化学結合を駆動力とする接着と、物理相互作用を駆動力とする構造接着に分類される。化学結合を駆動力とする組織接着性バイオマテリアルとして、ポリエチレングリコール系接着剤⁵⁾やアルデヒド化多糖の接着剤^{6),7)}が報告されている。これらは生体組織のタンパク質などと化学結合を形成し、アンカリングするため、高い組織接着性を示す。一方で、用いられる化学反応は非特異的であり、細胞毒性や炎症反応を引き起こす原因となる。化学結合に加えて、水素結合⁸⁾や疎水性相互作用^{9),10)}などの物理的な相互作用を複合化することで、生体適合性と組織接着性を両立することが可能である。

当グループでは、生体高分子であるゼラチンを疎水性官能基で分子修飾した疎水化ゼラチンを用いることで、優れた接着性を有する組織接着剤が開発できることを報告している^{9),10)}。一方で、物理相互作用を駆動力とする組織接着

■ 著者連絡先

国立研究開発法人物質・材料研究機構機能性材料研究拠点
(〒305-0044 茨城県つくば市並木1-1)

E-mail: NISHIGUCHI.Akihiro@nims.go.jp

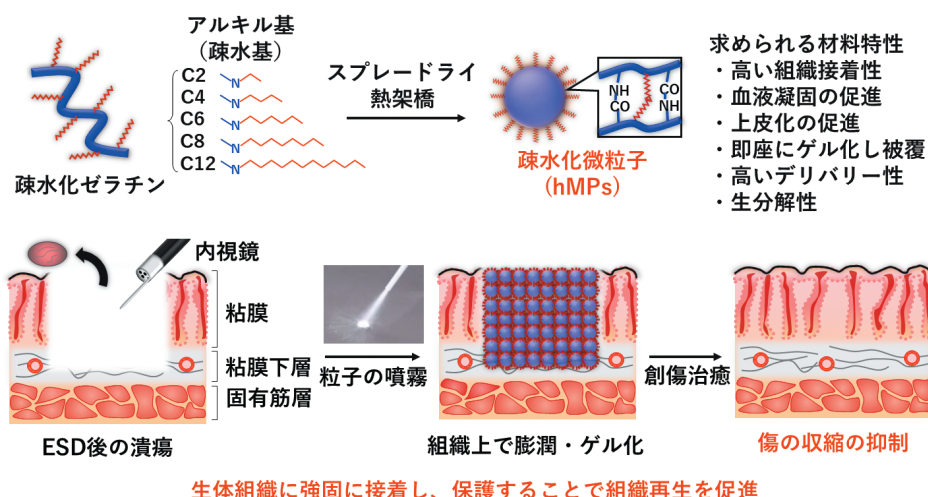


図1 組織接着性を有する創傷被覆粒子を用いたESD後の合併症予防のイメージ(文献19より転載)

性バイオマテリアルとして、ヤモリを模倣したナノ階層構造¹¹⁾やナノ粒子を利用した構造接着¹²⁾が挙げられる。これらは、ナノ材料—生体分子間の多点でのファンデルワールス力によって物理的に接着するため、湿潤環境下でも接着が可能であり、化学反応を用いないため生体適合性も高い。その一方で、接着強度が低いことが課題である(10 J/m²以下)。このほかにも組織接着性を向上させる試みとして、基材であるゲルのバルク強度と界面接着を向上させた接着性ゲル¹³⁾や、界面の水和層を除去して迅速に化学的に接着するシート¹⁴⁾が報告されている。今後、生体組織—材料界面の接着メカニズムに対する理解の深化によって、生体適合性と組織接着性に優れたバイオマテリアルの開発が期待される。

3. 内視鏡術後の合併症

このような背景の下、当グループでは、内視鏡手術後の創部に接着し、保護することができる、術後合併症を予防するための組織接着性バイオマテリアルの開発を進めている。内視鏡的粘膜下層剥離術(endoscopic submucosal dissection, ESD)は、食道や胃、大腸などにおける早期消化管がんを内視鏡を用いて切除する低侵襲な治療法として、大きな注目を集めている¹⁵⁾。ESDは、開腹手術を行うことなく、内視鏡によってがん組織を切除することができるため、がん組織を含む粘膜組織のみを切除し、粘膜下層および筋層を温存することができる低侵襲な治療法である。その一方で、組織の剥離後、剥離部位で生じる炎症反応によって、狭窄や出血、穿孔などの合併症が起こることが課題となっている。たとえば、食道においては、4分の3

周ESDを行った場合に、90%以上の高い確率で狭窄が起こることが報告されている¹⁶⁾。

ESD後の合併症を予防する標準治療として、バルーン拡張やステント留置、ステロイドの内服・局注が行われているが、これらの対処療法では狭窄を完全に防ぐことは困難であり、ステロイドの長期服用(4か月以上)に伴う副作用も懸念される。このほかにも、再生医療アプローチとして、培養口腔粘膜上皮細胞シートを用いて粘膜組織を再生する研究¹⁷⁾も行われており、食道狭窄を予防する治療法として期待されている。一方で、細胞調製にコストと時間がかかり、またシートを適切な位置に送達するには熟練した技術が必要である。これらの課題を解決するために、術後の合併症を予防可能な医療機器として、組織用の創傷被覆材の開発が検討されている。創傷被覆材をESD後の創部に貼付することで、消化液などの刺激に曝される創部を物理的に保護し、炎症を抑制することが可能であると考えられる¹⁸⁾。しかしながら、臨床で使用されている創傷被覆材は、組織接着性が低い点、分解に伴う炎症が生じる点、創傷部への送達が難しい点などに課題があるため、ESD後の合併症を予防する創傷被覆材の開発が求められている。

4. 術後合併症を予防する組織接着性バイオマテリアル

当グループでは、組織接着性・生体適合性・操作性に優れた噴霧型創傷被覆粒子の開発を進めている(図1)¹⁹⁾。創傷被覆材とは、創部を被覆することで保護し、湿潤環境を保つことで組織再生を促進する医療材料である。生体高分子であるゼラチンに、疎水的な分子を修飾した疎

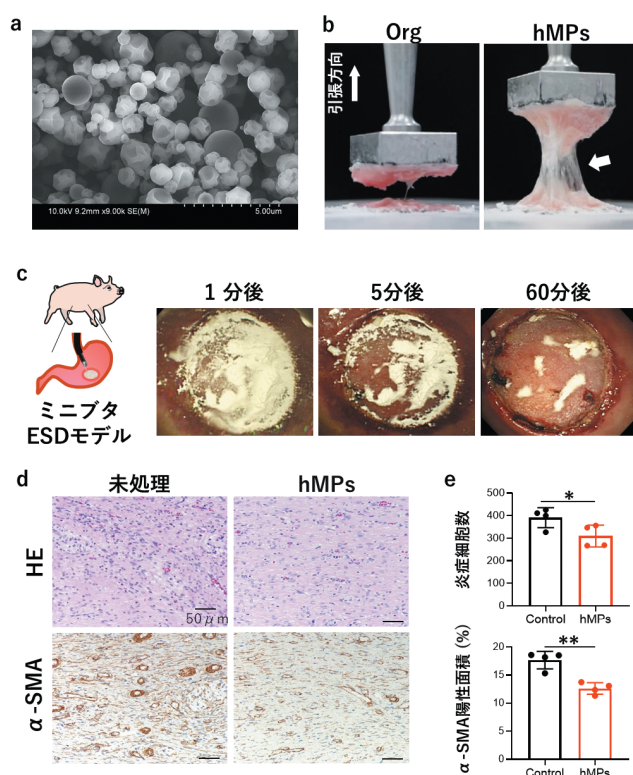


図2 (a) hMPsのSEM画像, (b) Org粒子とhMPsの組織接着試験, (c) ミニブタ胃ESDモデルの人工潰瘍に噴霧されたhMPsの内視鏡画像, (d) 14日後の未処理群およびhMPs群のHEおよび α -SMA染色画像, (e) 炎症細胞数および α -SMA陽性面積の定量結果。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, Student's t -test ($n = 4$) 19).

ESD, endoscopic submucosal dissection; HE, hematoxylin-eosin; hMPs, hydrophobized microparticles; Org, original; SEM, scanning electron microscope; SMA, smooth muscle actin.

水化ゼラチンからなるマイクロ粒子 (hydrophobized microparticles, hMPs) を作製し, 創傷被覆粒子としての機能解析を進めている。hMPsは, 疎水性相互作用を駆動力として, 生体組織に強固に接着し, また, 粒子状であるため内視鏡デバイスで容易に創部へ噴霧可能である。噴霧された粒子は, 創部の浸出液で膨潤, ゲル化することで創部を保護し, 組織再生を促すことで, 術後の合併症の予防に寄与すると考えられる。

高い生体適合性と生分解性を有するブタ由来ゼラチン ($M_w = 100$ kDa) に対して, 疎水性分子である脂肪族アルデヒド (C2~C12) を2-ピコリンボラン存在中で反応させ, ゼラチン分子の疎水性を制御した疎水化ブタゼラチンを合成した。スプレードライ法によって粒子化し, 減圧下, 150°C で3時間の熱架橋処理を行うことでhMPsを作製した。走査型電子顕微鏡 (scanning electron microscope, SEM) 観察を行ったところ, 粒子は球状の形状を有しており, 直径は

約 $2\ \mu\text{m}$ 程度であった (図2a)。hMPsの組織接着性はブタ胃粘膜組織を用いた接着試験によって評価したところ, hMPsは, 未修飾 (オリジナル, Org) ゼラチン粒子と比較して, 接着強度が大きく向上した (図2b)。また, hMPsは, 何も塗布しない場合や市販の組織補強材と比較して, 約10倍の接着強度を示した。さらに, 接着試験の引張過程において, 粒子が融合した融合膜の形成も観察されており, 噴霧するだけで創部をゲル層で被覆できることが明らかになった。

hMPsの組織接着性は, 疎水基の導入率と鎖長に依存しており, 粒子の親-疎水バランスの精密な設計が組織接着に重要であることが分かっている。hMPsは, 表面に露出した疎水基が細胞や細胞外マトリックス (extracellular matrix, ECM) 成分と疎水性相互作用によって強く相互作用することで界面接着を向上させており, また, hMPsの疎水基同士の疎水性相互作用によって粒子同士が強く凝集することでバルク強度が増大し, 接着強度が向上したと考えられる。ESD後の創傷治癒の促進効果を評価するために, 内視鏡によって胃に人工潰瘍を作製したミニブタ胃ESDモデルを用いた。hMPsは, 内視鏡下で容易に噴霧することができ, 噴霧されたhMPsは滲出液によって膨潤し, 組織表面でゲル化した (図2c)。ESDから14日後には, 両群において上皮化が確認されたが, 一方で組織切片観察を行った結果, 粘膜下層組織において, 未処理群では炎症細胞浸潤によって強い炎症反応が起きていたのに対して, hMPsで潰瘍を保護した群では, 免疫細胞の浸潤が少なく, 線維化が有意に抑制されていた (図2d, 図2e)。これらの結果より, hMPsは創部に接着し, 外部刺激から創部を保護することで, 炎症反応を抑え, 組織再生を促進することが示された。

この他にも, タラゼラチンから成るより単分散なhMPsの開発²⁰⁾やhMPsの止血機能²¹⁾, 穿孔閉鎖効果²²⁾の解析を進めており, ESD後の合併症を予防する創傷被覆材として有用であると期待される。

5. おわりに

本稿では, 低侵襲医療を支える組織接着性バイオマテリアルの最近の進歩について紹介した。塗るだけ, 貼るだけで迅速かつ簡便に使用できるバイオマテリアルは, 術後の合併症を予防する医療材料として, 今後ますます発展すると期待される。当グループが開発したhMPsは, 内視鏡で容易に創部に送達でき, 組織表面を被覆することによって消化管がん手術後の瘢痕拘縮や狭窄, 穿孔, 出血などの合併症を予防し, さらに, 穿孔治療や止血, 癒着防止など様々

な応用展開ができると期待される。

謝辞

本稿で述べた研究において、動物実験を行うにあたってご協力いただいた、井戸章雄教授、佐々木文郷講師（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科消化器疾患・生活習慣病学）に厚く御礼申し上げます。本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金・若手研究（18K14099）および国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の橋渡し研究戦略的推進プログラム（シーズpreB）の助成を受けて遂行しました。

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。

文 献

- 1) Taboada GM, Yang K, Pereira MJN, et al: Overcoming the translational barriers of tissue adhesives. *Nat Rev Mater* **5**: 310-29, 2020
- 2) Yu L, Ding J: Injectable hydrogels as unique biomedical materials. *Chem Soc Rev* **37**: 1473-81, 2008
- 3) Leonard F, Kulkarni RK, Nelson J, et al: Tissue adhesives and hemostasis-inducing compounds: the alkyl cyanocrylates. *J Biomed Mater Res* **1**: 3-9, 1967
- 4) Radosevich M, Goubran HI, Burnouf T: Fibrin sealant: scientific rationale, production methods, properties, and current clinical use. *Vox Sang* **72**: 133-43, 1997
- 5) Wallace DG, Cruise GM, Rhee WM, et al: A tissue sealant based on reactive multifunctional polyethylene glycol. *J Biomed Mater Res* **58**: 545-55, 2001
- 6) Nakajima N, Sugai H, Tsutsumi S, et al: Self-Degradable Bioadhesive. *Key Eng Mater* **342-343**: 713-6, 2007
- 7) Ito T, Yeo Y, Highley CB, et al: The prevention of peritoneal adhesions by in situ cross-linking hydrogels of hyaluronic acid and cellulose derivatives. *Biomaterials* **28**: 975-83, 2007
- 8) Lee H, Lee BP, Messersmith PB: A reversible wet/dry adhesive inspired by mussels and geckos. *Nature* **448**: 338-41, 2007
- 9) Mizuno Y, Mizuta R, Hashizume M, et al: Enhanced sealing strength of a hydrophobically-modified Alaska pollock gelatin-based sealant. *Biomater Sci* **5**: 982-9, 2017
- 10) Yamaoka M, Maki N, Wijesinghe A, et al: Novel Alaska Pollock Gelatin Sealant Shows High Adhesive Quality and Conformability. *Ann Thorac Surg* **107**: 1656-62, 2019
- 11) Geim AK, Dubonos SV, Grigorieva IV, et al: Microfabricated adhesive mimicking gecko foot-hair. *Nat Mater* **2**: 461-3, 2003
- 12) Rose S, PrevotEAU A, Elzière P, et al: Nanoparticle solutions as adhesives for gels and biological tissues. *Nature* **505**: 382-5, 2014
- 13) Li J, Celiz AD, Yang J, et al: Tough adhesives for diverse wet surfaces. *Science* **357**: 378-81, 2017
- 14) Yuk H, Varela CE, Nabzdyk CS, et al: Dry double-sided tape for adhesion of wet tissues and devices. *Nature* **575**: 169-74, 2019
- 15) Gotoda T: Endoscopic resection of early gastric cancer. *Gastric Cancer* **10**: 1-11, 2007
- 16) Funakawa K, Uto H, Sasaki F, et al: Effect of endoscopic submucosal dissection for superficial esophageal neoplasms and risk factors for postoperative stricture. *Medicine (Baltimore)* **94**: e373, 2015
- 17) Yamaguchi N, Isomoto H, Kobayashi S, et al: Oral epithelial cell sheets engraftment for esophageal strictures after endoscopic submucosal dissection of squamous cell carcinoma and airplane transportation. *Sci Rep* **7**: 17460, 2017
- 18) Takimoto K, Toyonaga T, Matsuyama K: Endoscopic tissue shielding to prevent delayed perforation associated with endoscopic submucosal dissection for duodenal neoplasms. *Endoscopy* **44**: E414-5, 2012
- 19) Nishiguchi A, Sasaki F, Maeda H, et al: Multifunctional Hydrophobized Microparticles for Accelerated Wound Healing after Endoscopic Submucosal Dissection. *Small* **15**: e1901566, 2019
- 20) Nishiguchi A, Kurihara Y, Taguchi T: Underwater-adhesive microparticle dressing composed of hydrophobically-modified Alaska pollock gelatin for gastrointestinal tract wound healing. *Acta Biomater* **99**: 387-96, 2019
- 21) Nishiguchi A, Kurihara Y, Taguchi T: Hemostatic, Tissue-Adhesive Colloidal Wound Dressing Functionalized by UV Irradiation. *ACS Appl Bio Mater* **3**: 1705-11, 2020
- 22) Ito S, Nishiguchi A, Sasaki F, et al: Robust closure of post-endoscopic submucosal dissection perforation by microparticle-based wound dressing. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* **123**: 111993, 2021