

学位論文題名

天然多糖  $\beta$ -キチンの創傷治癒促進機構解析とその臨床効果

学位論文内容の要旨

キチンの創傷治癒促進効果の機序とその臨床効果を解明する目的で、ムラサキイカの軟甲より精製した $\beta$ -キチンを粉碎器を用いて粉碎したもの（以下キチン-フレークと略す）、スポンジ状に加工したもの（以下キチン-スポンジと略す）、ポリエステル製不織布にキチンを含浸させたもの（以下キチン-NWF/Pと略す）、綿状に加工したもの（以下キチン-コットンと略す）およびポリエステル製不織布（以下NWF/Pと略す）を用いて、キチンの犬実験的開放創に対する創傷治癒促進効果と皮下埋設時の周囲組織の反応ならびにその生体内消長、キチンの多形核白血球遊走能および化学発光能に及ぼす影響とキチンの生物活性物質産生効果について実験動物として犬を用いて検討し、さらにそれらの臨床的応用方法と効果について犬、猫及び牛等の臨床例で検討し、以下の結果を得た。

1. キチンの実験的開放創に対する創傷治癒促進効果と皮下埋設時の周囲組織の反応ならびにその生体内消長

1) 実験的開放創に及ぼすキチンの影響

キチンの存在により術後4日および7日目に対照群に比べて滲出液の増量、創縁の肥厚がみられ、28日目にはキチン群では全例上皮形成が完了していた。しかし対照群では、4例中2例しか完了していなかった。組織学的には、4日目にキチン群の創傷深部で対照群に比べて線維芽細胞および新生血管の増殖がみられた。合成されたコラーゲン線維の太さは対照群に比べてキチン群の方が細い傾向を示した。

2) キチン-スポンジの皮下組織への影響とその消長

埋設後14日目で5例中4例においてキチン-スポンジは完全に消失し、スポンジ接触面に赤色の肉芽組織が形成された。29日目においては埋設部位に結合組織の増生所見はみられず、組織学的にも正常な組織構築が観察された。

3) キチン-NWF/Pの皮下組織への影響とその器質化

キチン-NWF/P群において埋設後2日目に埋設部皮膚にわずかな発赤を認めたが、同時期NWF/P群でみられた熱感および疼痛はみられなかった。埋設後18日目にはキチン-NWF/P

は完全に皮下組織で取り囲まれ、埋設片へ侵入する新生血管が明瞭にみられた。一方、NWF/P群ではその周辺に白色を呈した肉芽組織が観察され、埋設片への新生血管は肉眼的にはみられなかった。組織学的には、埋設後2日目に埋設片周囲に炎症性細胞の集簇がキチン-NWF/P群において著明にみられた。キチン-NWF/P群では埋設後4日目には埋設片周囲に肉芽組織が観察されたが、この時期対照群では観察されなかった。両群より採取された滲出液中には新鮮な炎症性細胞がみられ、その液を細菌培養したが、細菌は検出されなかった。

## 2. キチンの生物活性効果

### 1) 多形核白血球遊走能に及ぼすキチンの影響

キチン-フレークをさらに粉碎した微粉末キチン(平均粒径 $1\mu\text{m}$ )をハンクス液に懸濁した液(以下キチン懸濁液と略す)に対し、多形核白血球は遊走活性を示し、Checkerboard Assayにより検討した結果、キチンは化学走化性および化学運動性の双方の性質を有していることが明らかとなった。その遊走能は同種血清を添加することにより増強された。また、キチン懸濁液の遠心上清は多形核白血球の遊走能を増強させなかった。

### 2) 多形核白血球化学発光能に及ぼすキチンの影響

10%同種血清添加状態での多形核白血球のルミノール依存性化学発光強度(CL)はザイモザンを100%とした時、微粉末キチンは約30%であった。しかし、同種血清未添加あるいは非動化した同種血清を添加しても化学発光はほとんど起こらなかった。新鮮同種血清を微粉末キチンで処理(37°C, 20分間)した遠心上清を用いて、ザイモザンに対するCLを検討した結果、未処理同種血清を添加した場合よりもCLは約2倍増強された。

### 3) キチン-NWF/Pにより誘導された滲出液中の生物活性物質

キチン-NWF/Pを犬の皮下に埋設することによりNWF/Pに比べて3~7倍の滲出液がその周囲に貯留した。その滲出液中には線維芽細胞増殖因子(FGF)様およびインターロイキン(IL-1)様物質が含まれ、さらにプロスタグランド $\text{E}_2$ ( $\text{PGE}_2$ )が血清中の約10倍含まれていた。

## 3. キチンの獣医臨床への応用方法の検討とその効果

キチン製材を使用した全例において副作用はみられなかった。

### 1) キチン-スポンジ

キチン-スポンジを、ヘルニア、血腫、膝蓋脱臼、抜歯および去勢の手術時に生じた創腔30例の充填材、外傷25例、膿瘍24例および感染性蹄皮炎7例の組織欠損部への充填材あるいは創面被覆材として計86例に使用した結果、77例(90%)が良好な治癒経過を示した。特に腫瘍摘出部に生じた創腔20例に対して充填材として使用したところ、術後再発した例は1例のみであった。

## 2) キチン - NWF/P

キチン - NWF/P を、感染性蹄皮炎12例の創面被覆材、外傷 2 例の組織欠損部への充填材、腫瘍、ヘルニアおよび血腫の手術時に生じた創腔 6 例の充填材、さらには臍ヘルニア12例のヘルニア輪縫合部の補強材として計32例に使用した結果、26例（88%）が治癒あるいは再発防止効果がみられた。臍ヘルニアにおいては術後半年を経過した後も再発はみられなかった。しかし、外傷への応用例および感染を併発した会陰ヘルニア整復例においてはキチン - NWF/P を除去することにより治癒した。

## 3) キチン-コットン

キチン-コットンを、外傷 8 例および膿瘍12例の計20例の組織欠損部への充填材あるいは創面被覆材として使用した結果、18例（90%）が1回から数回の治癒で良好な治癒経過をたどった。

## 4) キチン-フレーク

キチン-フレークを外傷 9 例の組織欠損部への充填材あるいは創面被覆材として使用した結果、8 例（89%）が創面に速やかに痂皮を形成することにより治癒した。

以上の結果を総合すると、キチンの存在により炎症性細胞の浸潤が亢進し、血管に富む肉芽組織が速やかに形成され、しかも滲出液の貯留はあるもののいわゆる炎症の局所症状はほとんど示さないことが明らかとなった。さらに、キチンは生体内で2週間以内に速やかに消化されることも明らかとなった。また、キチンは創傷治癒の一段階の主要な構成細胞である多形核白血球の遊走および貪食能を亢進させ、肉芽組織形成に関与する FGF 様および IL - 1 様物質ならびに PG<sub>2</sub> を間接的または直接的に誘導することが明らかとなった。臨床応用とその効果については、キチン-スポンジは組織欠損部あるいは手術時生じた創腔に対する充填材あるいは創面被覆材、キチン - NWF/P は感染性蹄皮炎患部の創面被覆材、手術時に生じた創腔に対する充填材あるいは組織補強材、キチン-コットンは組織欠損部の充填材あるいは創面被覆材、およびキチン-フレークは創面被覆材として応用することが適当と考えられ、その創傷治癒効果は従来の治療方法によるものに比べて優れていた。

## 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 藤 永 徹  
副 査 教 授 前 出 吉 光  
副 査 教 授 板 倉 智 敏  
副 査 教 授 齊 藤 昌 之

本研究は、ムラサキイカの軟甲より精製した $\beta$ -キチンを用いてキチンの創傷治癒促進効果の機序の解明とその臨床効果を判定するために行われたものであり、その内容は以下のように要約される。

1. イヌを用いた実験的創傷作出部において、キチンの存在は炎症性細胞の浸潤を亢進させ、血管に富む肉芽組織を速やかに形成し、しかも炎症の局所症状はほとんど示さなかったこと、およびキチンは生体内で2週間以内に速やかに吸収されることを明らかにした。

2. キチンは創傷治癒の第一段階の主要な構成細胞である多形核白血球遊走能および貪食能を亢進させ、さらに肉芽組織形成に関与する線維芽細胞成長因子様物質、インターロイキン-1様物質ならびにプロスタグランジン $E_2$ を間接的または直接的に誘導することを明らかにした。

3. イヌ、ネコおよびウシ等の臨床例について、種々に加工したキチンの臨床的応用方法とその効果について検討し、スポンジ状に加工したキチンは組織欠損部あるいは手術時に生じた創腔に対する充填材あるいは創面被覆材として、キチンを含浸させたポリエステル不織布は感染性蹄皮炎患部の創面被覆材や創腔に対する充填材あるいは組織補強材として、綿状に加工したキチンは組織欠損部の充填材あるいは創面被覆材として、粉碎器を用いた粉碎したキチンは創面被覆材として応用することが適切であり、その創傷治癒効果は従来の治療法に比べて優れていることを認めた。

以上のように申請者は、キチンの創傷治癒促進効果の機序とその臨床応用方法ならびに創傷治癒効果を明らかにした。この研究成果は獣医臨床外科学の治療法の改善に大きく寄与する。よって、審査員一同は岡本芳晴氏が博士（獣医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。