

学 位 論 文 題 名

Studies on the Regenerated Chitosan as
a Biomedical Material

(生医学材料としての再生キトサンに関する研究)

学位論文内容の要旨

キトサンは、自然界にセルロースに次いで豊富に存在するキチンをアルカリ加水分解して得られる β 1-4結合を有するムコ多糖でC-2位に反応性の高いアミノ基を有しており、タンパク質や金属イオンとの親和性が強いことが知られている。またキトサンは酢酸や乳酸などの有機酸に容易に溶解することから繊維、フィルム、その他の形態への再生の試みがなされ、その用途展開に対して大きく注目されている。

本研究の目的はさまざまな形態に成形加工された再生キトサンを生医学材料として用いるにあたり、その特性を十分に活かせる形態と応用部位との最適条件を見い出すことにある。加えて院内感染を惹き起こすMRSAや乳幼児にとって深刻な問題であるアトピー性皮膚炎に対して、再生キトサンとポリノジックレーヨンの混合繊維であるキトポリイの特性を十分に引き出せる材料設計を行い、抗菌性や抗アレルギー性などの効果を検証して、生活環境の改善に少なからず貢献することである。

1章はキトサンを精製し再生キトサンとして繊維、フィルム、多孔質ビーズ、微粒子への成形加工を行った。キトサンはカニ・エビ殻を出発物質とし、脱カルシウム、脱色素、除タンパクにより得られたキチンから熱濃アルカリによる脱アセチル化反応によって得られるため、不純物、酸不溶物その他の汚染物質が多く存在する。精製工程における残留金属イオンの推移からも、生医学材料として研究を進めるにあたり精製工程を経た再生キトサンが必要となることは明らかである。このようにして得られた再生キトサンをマウスに投与したところ、その一部が消化吸収されて血中濃度に現れ胃、腎臓をはじめ多くの臓器に蓄積されるが、そのほとんどが48時間以内に代謝されることが分かった。また再生キトサンの懸濁液をマウスに静脈注射して標的細胞障害性マクロファージの誘導活性を評価し腹腔マクロファージの活性化能を確認した。さらに再生キトサンは細菌・真菌類に対して抗菌・抗カビ性を示すことを最小生育阻止濃度の測定で明らかにした。土壌微生物に加え生活環境の中で見られる雑菌から皮膚常在菌まで含めての測定により黄色ブドウ球菌、大腸菌、雪腐病菌、斑点病菌、そして白癬菌にまで効果が確認できた。

2章では、この多機能性を有する再生キトサン繊維に血漿タンパクを固定化させたり、ビーズを用いた全血灌流や薬剤の徐放溶出の試み、さらにはフィルムによる創傷治癒の効

果確認も実施した。アミノ基を持つ再生キトサン繊維は他の天然、合成繊維と比較して血漿タンパクの固定化量は群を抜いて多かった。次にアフィニティリガンドとしてProtein-Aを固定化したカラムに全血を灌流して免疫グロブリンを中心に吸着除去することから、免疫吸着体カラムとして体外循環システムでの治療法が示唆された。さらには抗ガン剤アドリアマイシンを吸着させて徐放溶出させるなどドラッグデリバリーシステムのための徐放薬物用担体としての検討を行い、最初の60分で44%の薬剤放出を確認した。

3章は上述のように再生キトサンを外科的手法により創面、組織内にて用いる場合とは異なり皮膚科領域での応用に関して検討した。すなわち皮膚表面で用いる場合にはキトサン量1%(W/W)以内での使用において感作、アレルギーの心配のないことが臨床的に得られたため、同じ β 1-4結合であるセルロースの化学構造を持つポリノジックレーヨンに対して1%(W/W)濃度の再生キトサン微粒子をビスコース段階で混練した混合繊維キトポリイを得た。キトポリイは同じセルロースのコットンと比べ吸放湿性に優れ、土壌中や貯水槽内での微生物分解性が得られた。

数年前に病院・老人医療施設・在宅介護などで多剤耐性菌のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)を原因とする院内感染が拡がり、抗生物質が効かず、塩素系殺菌剤も効果が得られず院内環境が悪化して死亡者が出るまでに至った。MRSA臨床分離株に対するキトポリイの抗菌効果を大阪府立公衆衛生研究所他で確認し、患者用肌着、パジャマ、タオル、シーツから病室のカーテン、パーティションなどへの応用が始まっている。またMRSA保菌者が入院する病棟へ出入りする看護婦用の不織布によるアイソレーションガウンを用いた7日間の臨床着用試験でも看護業務で表面にMRSAが付着しても内部に浸透することがなく感染防御が可能であった。キトポリイはキトサンの抗菌性、ポリノジックの保湿性に加えて感作・アレルギー性がなく高い安全性が得られたことから子供用の肌着を作ってアトピー性皮膚炎の患者を対象に3週間の着用試験を実施したところ多くの症状において改善効果が見られ71.7%の改善率が得られた。その後も継続着用した結果「環状・貨幣状湿疹」「水疱・膿疱」は100%改善し、「靴皸」「掻痒」「発赤」などのその他症状も70~90%の改善率であった。

本研究に用いた再生キトサンは急性・亜急性・慢性毒性試験および変異原性試験、アレルギー試験などによって裏付けされた安全性の高い素材であり、生医学材料として生活環境の改善や院内環境の保全に役立たせることで環境負荷を減少させ、ひいては地球環境保護に結びつくものと確信している。

さらに、この再生キトサンを化学修飾して抗菌スペクトルを拡大させたり、キトポリイに甘草エキス(グリチルリチン酸ジカリウム)、アロエエキス(アロイン)などの消炎作用やスキンケア機能を持つ薬剤を固定化することで、かぶれなど皮膚疾患の治療および予防することが期待できる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 則 雄
副 査 教 授 坂 入 信 夫
副 査 教 授 西 村 紳一郎 (理学研究科)
副 査 教 授 林 壽 郎 (大阪府立大学先端科学研究所)

学 位 論 文 題 名

Studies on the Regenerated Chitosan as a Biomedical Material

(生医学材料としての再生キトサンに関する研究)

キトサンは、廃棄されているカニ殻、エビ殻中等に豊富に存在するキチンをアルカリ加水分解して得られるムコ多糖である。この多糖は反応性の高いアミノ基を有しており、タンパク質や金属イオンとの親和性が強いことが知られている。またキトサンは酢酸などの有機酸に容易に溶解することから繊維、フィルム、その他の形態への再生が可能で、その用途展開が注目されている。

本研究の目的はさまざまな形態に生形加工された再生キトサンを生医学材料として用いるにあたり、その特性を十分に活かせる形態と応用部位との最適条件を見出すことにある。加えて院内感染を引き起こす MRSA や乳幼児にとって深刻な問題であるアトピー性皮膚炎に対して、再生キトサンとポリノジックレーヨンの混合繊維であるキトポリイオンの特性を十分に引き出せる材料設計を行い、抗菌性や抗アレルギー性などの効果を検証して、生活環境の改善に貢献することである。

1 章ではキトサンを精製し再生キトサンとして繊維、フィルム、多孔質ビーズ、微粒子への成形加工を行った。キトサンはカニ・エビ殻を出発物質とし、脱カルシウム、脱色素、除タンパクにより得られたキチンから熱濃アルカリによる脱アセチル化反応によって得られるため、不純物、酸不溶物その他の汚染物質が多く存在する。精製工程における残留金属イオンの推移からも、生医学材料として研究を進めるにあたり精製工程を経た再生キトサンが必要となる。このようにして得られた再生キトサンをマウスに投与したところ、その一部が消化吸収されて血中濃度に現れ、胃、腎臓をはじめ多くの臓器に蓄積されるが、そのほとんどが48時間以内に代謝されることが分かった。また再生キトサンの懸濁液をマウスに静脈注射して標的細胞障害性マクロファージの誘導活性を評価し腹腔マクロファージの活性化能を確認した。さらに再生キトサンは細菌・真菌類に対して抗菌・抗カビ性を示すことを明らかにした。土壌微生物に加え生活環境の中で見られる雑菌から皮膚常在菌までの測定により黄色ブドウ

球菌、大腸菌、雪腐病菌、斑点病菌、そして白癬菌にまで効果が確認できた。

2章では、この多機能性を有する再生キトサン繊維に血漿タンパクを固定化させたり、ビーズを用いた全血灌流や、薬剤の徐放溶出の試み、さらにはフィルムによる創傷治癒の効果確認も実施した。アミノ基を持つ再生キトサン繊維は他の天然、合成繊維と比較して血漿タンパクの固定化量は群を抜いて多かった。次にアフィニティリガンドとして Protein - A を固定化したカラムは免疫吸着体カラムとして体外循環システムでの治療法が示唆された。さらには抗ガン剤アドリアマイシンを吸着させて徐放溶出させるなどドラッグデリバリーシステムのための徐放薬物用担体としての検討を行い、好結果を得た。

3章では上述のように再生キトサンを外科的手法により創面、組織内にて用いる場合とは異なり皮膚科領域での応用に関して検討した。すなわち皮膚表面で用いる場合にはキトサン量 1% (W/W) 以内での使用において感作、アレルギーの心配のないことが臨床的に得られたため、同じβ1 - 4 結合であるセルロースの化学構造を持つポリノジックレーヨンに対して 1% (W/W) 濃度の再生キトサン微粒子をビスコース段階で混練した混合繊維キトポリイを得た。キトポリイは同じセルロースのコットンと比べ吸放湿性に優れ、土壤中や貯水槽内での微生物分解性が得られた。

数年前に病院・老人医療施設などで多剤耐性菌のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) を原因とする院内感染が拡がり、抗生物質が効かず、塩素系殺菌剤も効果が得られず院内環境が悪化して死亡者が出るまでに至った。MRSA 臨床分離株に対するキトポリイの抗菌効果を大阪府立公衆衛生研究所他で確認し、患者用肌着、パジャマ、タオル、シーツから病院のカーテン、パーティションなどへの応用が始まっている。また MRSA 保菌者が入院する病棟へ出入りする看護婦用の不織布によるアイソレーションガウンを用いた 7 日間の臨床着用試験でも看護業務で表面に MRSA が付着しても内部に浸透することがなく感染防御が可能であった。また、子供用の肌着を作ってアトピー性皮膚炎の患者を対象に 3 週間の着用試験を実施したところ多くの症状において改善効果が見られた。

本研究に用いた再生キトサンは急性・亜急性・慢性毒性試験および変異原性試験、アレルギー試験などによって裏付けされた安全性の高い素材であり、生医学材料として生活環境の改善や院内環境の保全に役立たせることで環境負荷を減少させ、ひいては地球環境保護に結びつくものと考えられる。

このように著者は再生キトサンによる、人間と環境に優しい生医学材料に関して多くの知見を得た。

よって、著者は博士 (地球環境科学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。