

学 位 論 文 題 名

Study of Honeycomb-patterned Films for Medical Devices

(医療用ハニカム構造フィルムに関する研究)

学位論文内容の要旨

我々の体には、創傷治癒と呼ばれる体の傷を治そうとする生理的な作用が存在する。しかし、治癒の過程で、本来結合していない組織同士が接着し、新たな結合が生じることがあり、これを癒着と呼んでいる (Fig. 1)。癒着は、臓器の本来の動きを抑制することから、イレウス、疼痛、不妊症など二次的な症状を引き起こす、また、再手術を困難にさせるなど大きな問題になっている。現在、癒着を防止するために、癒着防止材が販売されている。日本でもっとも売れている癒着防止材は、ヒアルロン酸ナトリウムとカルボキシメチルセルロースナトリウムからなるフィルム状の商品である。患部に貼付すると体液や血液を吸収し、ゲル化することを特徴としている。しかし、柔軟性に欠け、濡れた手術手袋などに付着するなど問題点も有しており、より使い勝手のよい癒着防止材が求められている。癒着防止材に求められる性質としては、線維芽細胞の遊走を防ぐバリアとして働くこと、近年増加傾向にある非侵襲性手術（内視鏡手術）に対応できる柔軟性があること、縫合せずにその場に貼付できること、取り扱い性がよいこと、癒着が形成される間バリアとして働き、その後生体内に分解されていくことなどが挙げられる。

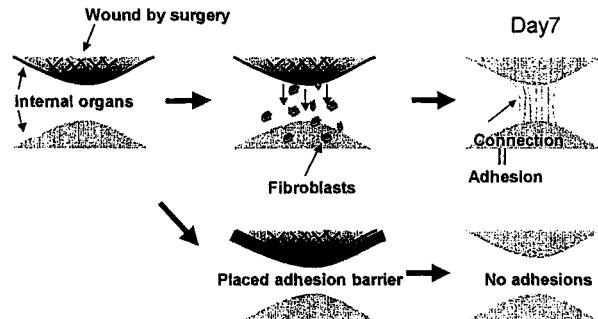


Fig. 1 Mechanism of adhesion and adhesion prevention.

これらの要件に見合うものとして、ハニカム構造フィルムに着目した。このフィルムは、Fig. 2 に示すような均一な孔を片面に有し、裏側は、穴の開いていないフラットな構造を取っている。孔はフィルム内で隣り合う6つの孔と連通している。この孔の内部に体液や血液が入り込み、毛管力によって組織に接着すると考えた。また、穴はフィルムを貫通していないため、線維芽細胞の遊走を抑制すると予測した。さらにフィルムの厚みは 10 μ m 前後と非常に薄膜で柔軟性に富んでいる。しかし、これまでに報告があったハニカム構造フィルムはいずれも、体外で使用することを目的に作製されたものであり、生分解を有していなかった。そこで本研究では、生体内で使用することを目的に、生体親和性の高い界面活性剤を用いたハニカム構造フィルムの作製を検討し、得られたフィルムが実際に癒着防止材として有効か否かラットの盲腸癒着試験で検証した。



Fig. 2 Structure of the honeycomb-patterned film.

第 2 章では、細胞膜の成分であるリン脂質の中で、ある特定のリン脂質のみ、ハニカム

構造フィルムを形成できることを見出し、リン脂質の中でのハニカム形成の可否が存在する理由について検討した。ハニカム構造フィルムは水滴を鋳型としているため、ポリマー溶液と水滴との界面が重要であると考え、表面張力および界面張力を測定した。測定の結果、表面張力はほとんど変化がないのに対し、界面張力は、ポリマー溶液が濃縮されていくとともに、低下し、ある濃度以上では、一定になることが明らかとなった。また、ハニカム構造フィルムを形成するリン脂質は、形成できないリン脂質に比べて、界面張力が高いことが明らかとなった。水滴の形を模擬的に観察したところ、ハニカム構造が形成できなくなりリン脂質では、溶媒濃縮に従って、水滴はレンズ状に広がる様子が観察された。このことから、界面張力の低い溶液中で水滴はレンズ状に広がり、隣り合う水滴と合一し、ハニカム構造を形成できなかったと思われる。

第3章では、このようにして得られた生分解性のハニカム構造フィルムの癒着防止材としての有効性を確認した。まず初めに、リン脂質からなるフィルムの生体親和性を確認するため、線維芽細胞を用いて代謝活性試験を行った。その結果、細胞死は観察されず、既存の界面活性剤を用いたフィルムに比べて、より高い代謝活性を示し、高い生体適合性を有していることが明らかとなった。

次にフィルムの特異な構造から、このフィルムは通常の加工されていない平滑なフィルムに比べて高い接着力を有すると予想し、生体組織への接着力を *in vitro* で測定した。生体組織としては、トリ胸肉を用い、接着力としては引き剥がしに必要な力を測定した。この結果、ハニカム構造フィルムは、平滑なフィルムに比べて高い接着力を示した。これは、ハニカム構造にすることによって比表面積が増大したことによる接着の仕事量の増加、ハニカム構造内への粘液の侵入による引き剥がし時の毛管力の発生、ハニカム構造によるアンカー効果、これらの積み重ねにより発生した接着強さだと考えられる。通常、生体内で医療用材料を用いる場合、縫合または接着剤による貼付が必要となるが、医療用材料そのものに接着力を有していれば、これらの処理が不要になり、生体に対してより親和性がある。

癒着防止材としての有効性は、ラット盲腸癒着モデルにて評価を行った。方法としてはラットの盲腸にガーゼにて擦傷し、点状出血を起こす。擦傷部位にハニカム構造フィルムを貼付し、一週間後に癒着の程度を確認する。評価群は、1. ハニカム構造フィルム、2. 平滑フィルム、3. コントロール（擦傷のみ）。その結果、コントロール群では全例に癒着が認められたが、ハニカム構造フィルムではコントロール群に比べて癒着を減少させることが分かった。ハニカム構造フィルムは、一週間後でも盲腸にフィルムが貼付されている様子が確認されたが、平滑フィルムは盲腸から外れ、移動している姿が観察された。この結果から、ハニカム構造フィルムの接着力は、盲腸に貼付し留まるだけの力を有していること、癒着防止材としての効果を有していることが分かった。

このハニカム構造フィルムは、細胞培養基材として様々な研究が行われている。生分解性のハニカム構造フィルムは再生医療用の足場材としてより有効である。第4章では、足場材としての可能性を確認するため、軟骨細胞の培養評価を行った。軟骨細胞は、細胞培養基材上で培養すると脱分化し、細胞の形状が球状から扁平になるという問題がある。ハニカム上で培養した結果、細胞は、球状の形状を保持し、より多くの細胞外基質を産生することが確認された。軟骨はハニカム構造フィルムを三次元の足場として認識したとものと考えられる。

以上より、生分解性ハニカム構造フィルム作製のための新規な界面活性剤として生体膜成分であるリン脂質が有用であることを見出した。フィルム作製のメカニズムについて詳細に検討し、フィルムの鋳型となる水滴の安定保持のために最適な界面張力範囲があることを明らかにし、フィルム作製の設計指針を得た。また、得られたフィルムを用いて、癒着防止材としての有効性を動物実験にて明らかにし、癒着防止材に求められる生分解性、薄膜性、柔軟性、線維芽細胞の遊走抑制、生体接着性を満たす新規な癒着防止材を開発した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 居 城 邦 治

副 査 教 授 村 越 敬

副 査 教 授 坂 口 和 靖

副 査 教 授 下 村 政 嗣 (東北大学多元物質科学

研究所)

学 位 論 文 題 名

Study of Honeycomb-patterned Films for Medical Devices

(医療用ハニカム構造フィルムに関する研究)

我々の体には、創傷治癒と呼ばれる体の傷を治そうとする生理的な作用が存在する。しかし、治癒の過程で、本来結合していない組織同士が接着し、新たな結合が生じることがあり、これを癒着と呼んでいる。癒着は、臓器の本来の動きを抑制することから、イレウス、疼痛、不妊症など二次的な症状を引き起こす、また、再手術を困難にさせるなど大きな問題になっている。癒着を防止するための癒着防止材には、使い勝手の悪さなど改善の余地があり、より良い癒着防止材が求められている。

本論文では、生分解性のハニカム構造フィルムの作製とそのフィルムの医療応用として癒着防止材と再生医療用の足場材としての検討を行った。生分解性ハニカム構造フィルム作製のための新規な界面活性剤として生体膜成分であるリン脂質が有用であることを見出した。フィルム作製のメカニズムについて詳細に検討し、フィルムの鑄型となる水滴の安定保持のために最適な界面張力範囲があることを明らかにした。また、得られたフィルムを用いて、癒着防止材としての有効性を動物実験にて明らかにし、癒着防止材に求められる生分解性、薄膜性、柔軟性、線維芽細胞の遊走抑制、生体接着性を満たす新規な癒着防止材を開発した。さらに、その他の医療応用として、再生医療用の足場材としてハニカム構造フィルムを用い、軟骨細胞を培養し、ハニカム構造フィルム上で軟骨細胞は脱分化せずに、軟骨の球状を保ち、細胞外マトリックスの産生が増進することを明らかにした。これらの結果により、生分解性ハニカム構造フィルム作製における液液界面での界面活性剤の働きに関する新たな知見を得るとともに、癒着防止材および再生医療用の足場材としての新規ハニカム構造フィルムの可能性・有用性を見出したことを意味している。

よって著者は、北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格あるものと認める。