

1. フコイダンを利用した創傷被覆保護材の研究開発

食品技術科 ○青木 央
防衛医科大学校 防衛医学研究センター 石原雅之

1.はじめに

硫酸化多糖類のフコイダンは、褐藻類から取れるアルギン酸とは異なり、フコースを構成糖とした基本骨格を持ち、その水酸基の一部が硫酸エステル化された化学構造を持つ天然高分子化合物である。このフコイダンは、ガゴメ昆布には、マコンブより2倍程度多く含まれ、食物繊維としての生理的な基礎機能を持つ以外に、特有の機能性を持つとされる。フコイダンは、採血で抗血液凝固作用を利用するヘパリンという動物性の硫酸化多糖類と同様に、FGFの細胞増殖活性を高める機能があることが知られている(図1)。FGFは繊維芽細胞増殖因子として知られている物質で、いくつかのタイプ(型)がある。

アルギン酸は、褐藻類が持つ共通の成分として、アミノ酸の発見よりも古くからその存在が知られ、医療分野では、歯科印象材やX線胃部バリウム検査などで広く需要がある。さらには、創傷部への外科用治療材料として、すでに実用化された製品が流通している。このため、アルギン酸を抽出する昆布類から多少の工夫により、抽出できるフコイダンの医療分野への応用として、創傷被覆保護材への適用を研究開発し、地域の特産品である昆布類の高度利用の可能性を報告する。

創傷被覆保護材は、外傷の深さの程度で4段階、治癒の経過により、3段階にわけられ、12段階(4×3)に応じた製品が開発されている。アルギン酸系の材料は、創傷部の細胞増殖期(中期)を中心にⅢ度のやや深い傷を治療する場合に最適な材料として分類されている。本件の研究では、このアルギン酸系保護材のカバーするいわゆる難治性潰瘍をモデルにして、より高性能の創傷被覆保護材を製造することに成功した。この製造にあたり、フコイダンを100%で製造すると、創傷部への過剰投与となるおそれがあるので副原料の使用を決めた。副原料として、カニ、エビの甲羅で知られるキチンとキトサンを用いた。キトサンとフコイダンは、一定比率で共存するとFGFの安定化に寄与することが知られている²⁾。以上を踏まえて、フコイダンの細胞増殖活性を付与したあたらしい創傷治療材料の開発が可能であることを示すことができた。

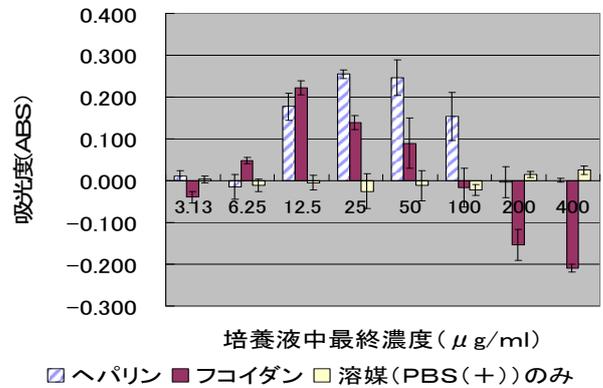


図1 正常ヒト繊維芽培養細胞への増殖効果¹⁾

2.方法

2.1 創傷被覆保護材 ACF-HS の製造方法

アルギン酸 Na:キチン:キトサン:フコイダン(製造特許登録査定済)(60:20:2:4)混合粉末を、支持シートとなる70mm径の円形濾紙に0.770g粉末で塗布した。目付け量200g/m²となる。蒸留水に浸したあと、2Mの塩化Ca溶液に20秒間浸し、スパイクングを行った後、酢酸溶液と続いて水酸化Na溶液に浸してpHシフト操作を行った。再び、塩化Ca液で再イオン性架橋を施した後に、エチレングリコールジグリシジルエーテルで化学架橋した。脱水処理後、真空パックし20秒短時間熱水ブランチングで滅菌した。(W02010/109588(PCT/JP/055760)特許申請中、写真1)

2.2 ラット難治性潰瘍モデルによる性能試験

マイトマイシンC(CAS No. 50-07-7)を利用したラット難治性創傷モデルを用いた。ラット背部に創られた直径15mmの皮膚全創傷部に、1mg/mlのマイトマイシンC溶液を塗布、10分間放置後、創部を滅菌水で洗浄した。マイトマイシンCを塗布しない場合は完全上皮化までの治癒期間が1週間程度であるが、この塗布処理により、同等の治癒に要する期間は3週間以上を必要とする難治性創傷モデルを作成した。すでに「医療機器承認番号を取得した医療用品」のカルトスタット(コンパテック社)を比較片として創傷部(ラット、オス、8週齢)に1週間被覆し、その後の治癒経過を観察した。

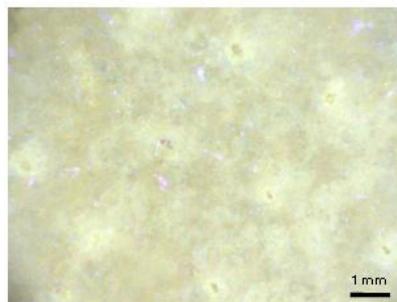


写真1 ACF-HSの概観と表面の様子(下)

3. 試験結果

3.1 機械的な物性、吸水特性

ACF-HSは、柔軟で曲げがきき、裏打ち構造を持つので十分な強度を持っていた。比較片のカルトスタットはアルギン酸Caの不織布系創傷被覆保護材で、吸水特性が平坦であった。一方、ACF-HSは吸水特性が右肩あがり、飽和点が高いという特徴があった。自重の2倍以上の吸水効果を示し、細胞浸出液の吸収に高い性能を示すことが期待された。(図2)

3.2 創傷部の治癒所見

マイトマイシン C は抗腫瘍性抗生物質であるが、皮膚の変性作用があり、創傷面に塗布すると難治性の症状を呈する。ACF-HS によるこの難治性創傷部の被覆手当てにより、2週間以内に完全に上皮化することが観察された。被覆片を処置しなかった対象群と比較すると1週間程度治癒が早かった。(写真2)

3.3 組織解剖学的な所見 (肉芽層と血管数)

2週間後の創傷治療部の肉芽層の厚さを比較した観察の結果、ACF-HS は、対象群と比較して肉芽組織に厚みのある回復が認められ、治癒効果の差が有意に認められた。また、比較片と比べても、ACF-HS は肉芽組織により厚みのある回復が認められた。(ACF-HS 2.5mm強/比較片 2.0mm弱/)

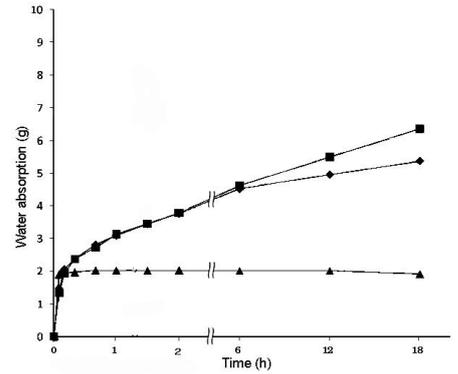


図2 ACF-HSの吸水特性

■：等張性リン酸緩衝液のACF-HS,
◆：血清含有培養液のACF-HS,
▲：等張性リン酸緩衝液のカルトスタット(比較片)

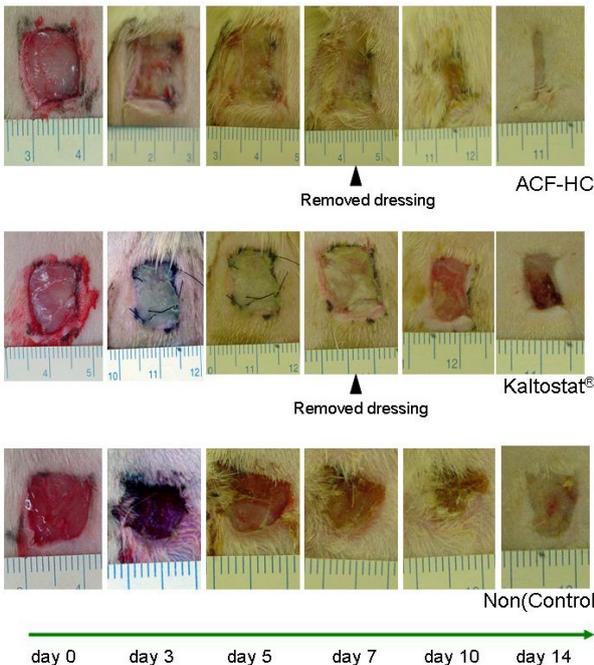


写真2 治癒の経過観察

上段：ACF-HS, 中段：比較片(カルトスタット),
下段：対象群

2週間後の治療部肉芽層にできた毛細血管の数を計測した結果、ACF-HSは、比較片や対象群と比較して新生血管の数が多く、血流の改善が期待できる有意な差が観察された。特に、比較片と比べて、2倍以上の新生血管数(視野あたりでACF-HS 28本前後/比較片 13本前後)の増加が認められた。

4. まとめ

以上の創傷部の治癒経過の観察結果から、ACF-HSは、ラット難治性創傷に対して治癒促進効果を有することが確認された³⁾。

ACF-HSは、アルギン酸Caによる表面の一時的固定化を施した後、いわゆるエポキシ架橋による強い構造を部分的に施すことで必要な強度、物性を確保している。構成多糖類の部分構造を完全につぶさないために、多糖類の既知の機能性を活用するよう製造された湿式の創傷被覆保護材である。このため、フコイダンが持つ細胞増殖活性のエンハンサーとしての機能と、そしてキトサンとの複合化による成長因子の安定化、固定化作用を巧に生かすことができる設計であるので、先行のアルギン酸系被覆保護材よりも優れた性能を示す結果になったと考えられる。

【参考文献】

- 1) 青木央: 昆布の健康機能成分-アルギン酸とフコイダン、日本味と匂学会誌 (2007) 14 巻, 2 号, 145-152
- 2) Shingo Nakamura, Hiroshi Aoki, Masayuki Ishihara 他: Effect of Controlled release of fibroblast growth factor-2 from chitosan/fucoidan micro complex-hydrogel on in vitro and in vivo vascularization, J. Biomedical Materials Research (2008), 85A, 619-627
- 3) Kaoru Murakami, Hiroshi Aoki, Masayuki Ishihara 他: Hydrogel Blends of Chitin/chitosan, fucoidan and alginate as healing-impaired wound dressings, Biomaterials (2010), 31, 83-90

* 本件の研究開発は、文部科学省都市エリア産学官連携促進事業(発展型、H18-H20年度)の資金を受けています。関係者の皆様にはご支援感謝申し上げます。