

●ポリアクリル酸をベースとした新規止血材の開発

Development of novel hemostatic materials based on polyacrylic acid

大内 彩歌
Ayaka Oouchi

Key Word : Bioadhesive Polymers, Medical Device, Hemostatic Material

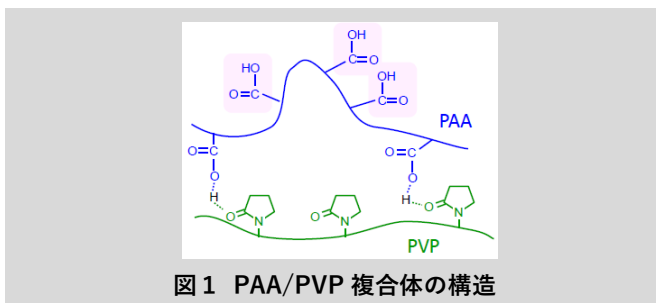
1 緒言

近年、高血圧や脂質異常症、糖尿病などの生活習慣病、喫煙、過度な飲酒、不整脈といった、さまざまな病理や習慣の変化にともない、抗凝血剤を服用する患者が増加している。

一方で、抗凝血剤は血液凝固を阻害するため、抗凝血剤を服用している患者の抜歯や注射、外科手術など、出血をともなう医療行為後の止血処置は非常に困難となる場合がある。そこで、優れた止血性能を持つ「止血材」が求められている。

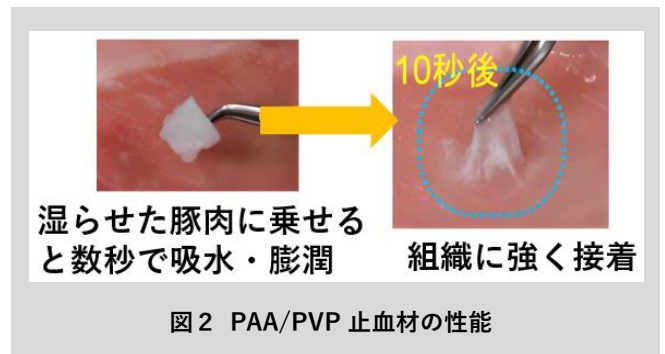
しかし、現行の止血材は、その性能やハンドリング性、材質などに依然として課題がある。例えば、従来の止血材には、その原料として、生体由来の高分子であるフィブリンやその周辺の血液凝固因子、コラーゲンなどが用いられているが、これらの生体由来材料には、感染のリスクや供給不安、品質安定性などの点で懸念がある。また、これらの素材には生体組織への接着性が全くないため、そのままでは止血性能を発揮しづらく、使用時に縫合するなど手間のかかる追加の処置が必要となることが多い。

このような背景の中、小山らは、安全性の高い合成高分子であるポリアクリル酸 (PAA) とポリビニルピロリドン (PVP) を特殊な条件下で接触させることで、新しい生体組織接着性材料を開発した¹⁾。(図1)



この高分子複合体は、血液や水を吸水して即座に膨潤し、ハイドロゲルを形成するとともに、生体に強く接着するという

特徴を持っており、従来の止血材の課題を克服する画期的な素材となり得る。(図2)



当社では、本材料の新たな用途開発および本技術の新規用途への展開に向けた設計改良の検討を行っている。

本稿では、この新規止血材の基本特性、性能、および各種用途展開について紹介する。

2 実験

(1) PAA/PVP 複合体の作製

PAA と PVP、ヒアルロン酸ナトリウムを特殊な条件下で混合して得た複合体を常圧乾燥し、フィルム状の複合体を得た。また、凍結乾燥により、スポンジ状の複合体を得た。さらに、このスポンジを粉砕することにより、複合体の粉末を得た。

(図3)



(2) 複合体の接着性評価

得られた複合体の生体組織への接着性を確認するために、疑似皮膚であるプロテインレザー(イデアテックス ジャパン社製、プロテインレザー-PBZ13001-BK)に対する各形状の複合体の面接着強度を測定した。

まず、50 mL 遠沈管の蓋に 30 mm 角のプロテインレザーを瞬間接着剤(東亜合成社製、アロンアルファ(登録商標))によって貼り付けたものを 2 本作製した。それぞれのプロテインレザーに綿棒で水を適量塗布し、各複合体サンプルを間に挟み込んだ後、300 g の錘を乗せて 1 分間放置し、プロテインレザーと複合体サンプルを接着させた。錘を取り除いてから 1 分後に、引張試験機(インストロンジャパン社製、インストロン)を用いて、25°C、120 mm/min の条件で引っ張りを行い、発生する最大応力を測定した。

(3) スポンジの吸水性評価²⁾

得られた複合体の吸水性を確認するために、疑似体液としてリン酸緩衝液(0.1 mol/L、pH7.2、富士フィルム和光純薬社製)を用いた吸水性評価を実施した。

始めに得られた各形状の複合体を 150°C で 60 分間常圧乾燥させ、質量を測定した。次いで、乾燥後の複合体サンプルをリン酸緩衝液中に 1 時間浸漬し、濾過後のサンプルの質量を測定し、下記数式(1)により吸水率を算出した。

$$\text{吸水率} = W_2/W_1 \quad \dots (1)$$

W_1 = 150°C で 60 分間乾燥させた後の質量 (g)

W_2 = リン酸緩衝液により 1 時間膨潤させた後の質量 (g)

(4) 徐放性評価³⁾

複合体のタンパク徐放性能を確認するため、複合体スポンジを用いて血清タンパクの徐放挙動を評価した。

マウスを麻酔下で開胸し、ヘパリンをコーティングしたシリンジで心臓から血液を採取した。これを 20 μ L 吸収させた複合体スポンジを、24 ウェルプレート上で固めた 2% アガロースゲル/PBS 100 μ L の上に乗せ放置した。所定時間経過ごとにスポンジサンプルを除去し、アガロースゲルを全量回収して粉碎し、PBS を加えて激しく攪拌した後冷蔵庫で 30 分以上静置してタンパクを溶出させた。その後、遠心分離(3000 g \times 15 分)を行い、上清を回収した。

回収した上清 100 μ L に 0.025 % CBB 溶液を 500 μ L 加え、10 分間放置した後 595 nm の吸光度を測定し、ウシ血清アルブミンを用いて作成した検量線によってアガロースゲル中に徐放されたタンパク濃度を算出した。また、放出された上皮成長因子(EGF)を、EGF ELISA アッセイキットを用いて定量した。

(5) マウスでの止血性評価⁴⁾

複合体の止血性能を、マウスにて評価した。

マウス(BALB/c、7 週齢、メス)の尾静脈より体重 20 g あたり 20 μ L の低分子ヘパリンを注射した。その後、麻酔下でマウスの脚部の表皮を切開して大腿部静脈を露出させ、シリンジ針で血管を傷つけて出血させた。脱脂綿で出血部位を軽く拭き、複合体スポンジ(10 mm 角、厚み 0.5 mm)、複合体粉末(20 mg)、または現行の透析用止血材で止血処置を行った。現行透析用止血材と複合体スポンジでの止血処置では、各サンプルを出血部位に当て、上から指で軽く 10 秒間圧迫した。また、複合体粉末での処置では、出血部位にサンプルを振りかけたのみで、圧迫は行わなかった。止血処置後 20 分間放置し、止血状態を観察した。

3 新規止血材の基本性能

(1) 接着性および吸水性

複合体の形態ごとの接着性を表 1 に示す。

表 1 複合体の面接着強度

PAA/PVP 複合体形状	接着力 (N/cm ²)
スポンジ	5.96
フィルム	4.87
粉末	2.37

複合体はいずれの形状でも疑似皮膚に対して強い接着力を示した。

続いて、複合体の形態ごとの吸水性を表 2 に示す。

表 2 複合体の吸水性

PAA/PVP 複合体形状	吸水率 (g/g)
スポンジ	8.7
フィルム	9.2
粉末	8.5

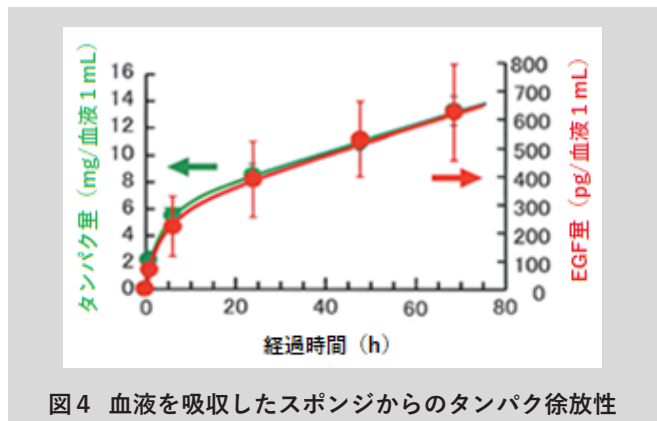
複合体はいずれの形状でも疑似体液に対して高い吸水性を示した。

本複合体は、特殊な製法により、PAA のカルボキシル基と PVP のピロリドン基が一部未反応のまま残されている。これにより、2 者間に適度な架橋構造が形成され、上記のような優れた吸水・膨潤性能を示すと考えられる。

また、PAA のカルボキシル基が一部 PVP と未反応のまま残っているため、これが生体組織と水素結合を形成し、高い接着力を生み出したと思われる。

(2) 徐放性

複合体スポンジの徐放性試験結果を図4に示す。



血液を吸収したスポンジ複合体から、タンパクおよびEGFが72時間以上にわたって徐放されたことが確認された。

EGFには上皮細胞の増殖を促す効果があることが知られているため、このスポンジ複合体を実際の創部に適用すると、創部から血液を吸収し、EGFを徐放することで、創部の治癒が促進される効果が期待される。

(3) マウスでの止血性評価

各サンプルでの止血性評価結果を図5に示す。



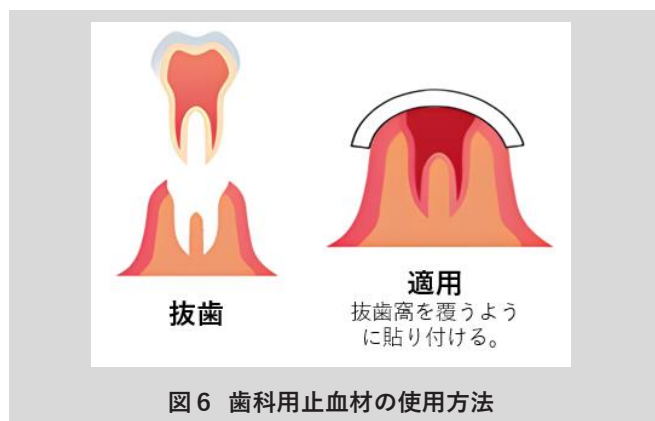
現行の透析用止血材で処置したマウスは、10秒間の圧迫では止血が完了せず、出血多量により20分後に死亡した。一

方、複合体スポンジは10秒間の圧迫により、強く組織に接着し、速やかに止血が完了した。また、20分後も再出血は起こらなかった。20分経過後に、スポンジを注意深く剥がすと、傷口に血餅が形成されている様子が確認できた。また、複合体粉末は、圧迫なしで即座に血液を巻き込んでハイドロゲルを形成し、速やかに止血が完了した。こちらも、20分間再出血は起こらず、複合体の高い止血性能が示唆された。

これは、本複合体がその高い吸水性により、即座に血液を吸収し、また強い接着性によって創部に強く密着して血管の損傷部位を塞ぐことで得られた効果だと推測される。

4 歯科用止血材への応用

国内の抜歯件数は年間1460万本、そのうち80万本は抗凝血剤服用患者であり、抜歯後の止血材のニーズは非常に高い。そこで当社ではまず、抜歯後の歯科用止血材を開発した。(図6、図7)



本製品の薬事申請に先立って、本品のイヌの抜歯窩に対する止血能力の評価を行った。(図8)

5 結論

本研究では、PAA と PVP からなる新規止血材を開発し、その性能を評価した。この新規止血材は、強い組織接着性と吸水性を持ち、生体においても強い止血性を示すことが確認された。

本複合体材料は、歯科用止血材の他、透析用止血材や外傷の保護、癒着防止材や体内用組織接着材など、幅広い用途への応用が期待される。今後は、この優れた性能を利用し、さらなる用途展開を目指す。

6 謝辞

本研究は、小原病院研究所 小山義之博士、伊藤智子博士との共同研究として実施した。各評価にあたり、多大なるご協力、ご助言を頂いた同氏らに感謝の意を表す。

引用文献

- 1) 小山義之, 伊藤智子, 江里口正純, *BIO INDUSTRY*, **34**, 6, 42-53 (2017).
- 2) T. Ito, N. Otani, K. Fujii, K. Mori, M. Eriguchi, Y. Koyama, *J Biomed Materoc Res.*, 1-10 (2019).
- 3) 伊藤智子, 中村賢一, 大内彩歌, 片平泰弘, 長谷川英哲, 溝口出, 善本隆之, 小山義之, “ポリアクリル酸/ポリビニルピロリドンからなる自己調製型生体組織接着性タンパク徐放材の創傷被覆材への応用と治癒促進効果”, 第 39 回日本 DDS 学会学術集会予稿集, p.52 (2023).
- 4) T. Ito, M. Eriguchi, Y. Koyama, *MRS Communications*, **5**, 2, 291-295 (2015).

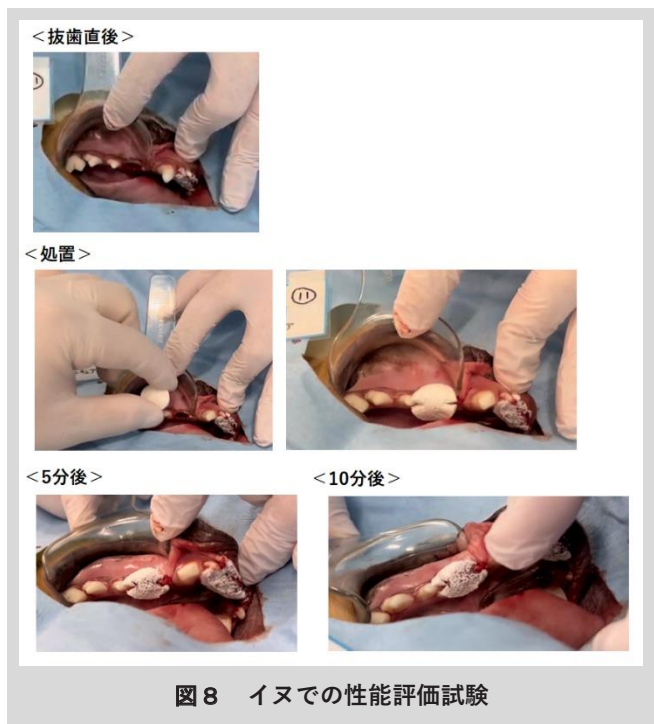


図8 イヌでの性能評価試験

本製品を乾いたピンセットで袋から取り出し、抜歯窩を覆うように適用し、周囲を軽く押さえると、本品が血液や唾液を吸収してハイドロゲルとなり、創部に粘着することで、速やかに止血が完了した。その後10分間観察を行ったが、血液の漏出は認められなかった。また、本品は適用後、唾液などで次第に溶解し、一定期間後創部から消失することを確認した。

本製品の主な特徴としては、以下の3点が期待される。

①短時間で止血が完了

本製品は速やかに創部に接着して止血が完了するため、処置時間が短縮でき、患者や歯科医師の負荷を低減する効果が期待できる。

②血餅（凝血塊）の保護

ハイドロゲル化した本品によって抜歯窩に蓋をした状態が作り出されるため、抜歯窩に血液がとどまり、血餅の形成がサポートされる（血餅形成は術後の治癒に効果的に働く）。

③安全に消失

ハイドロゲル化した本品は、止血後に唾液によって徐々に溶解し、数日（又は数時間）以内に創部から消失する。本品の原料はいずれも体内で分解吸収されない合成高分子であるため、消化管で吸収されることなく安全に体外に排出される。

本製品は、2024年4月に高度管理医療機器（クラスⅢ）として薬事承認を得た。今後も、本品の新たな特徴を見出し、販売促進に繋げていきたい。