

動物毛由来の再生繊維を利用した生体材料への応用

1. 研究の目的

(1) 研究背景

レーヨンに代表される再生繊維は、構成成分が原材料と同じため、その構成成分に由来する特性を活かしつつ、さらに種々の付加価値を付与することが可能となる。従って、天然繊維そのものに比べて応用価値は高い。現在のところ再生繊維としての実用化は、上に述べたレーヨンやテンセル等、植物由来のセルロースを利用したものが中心である。

それに対し、動物由来タンパク質は、ミルクカゼインやシルクフィブロイン等、一部で研究例があるものの、実用的な応用には至っていない。そのような中、本研究では動物毛を構成する構造たんぱく質であるケラチンに着目している。ケラチンを主成分とする動物毛の中でも、特に(紡績・製織時の)羊毛屑や毛髪は大量に廃棄されており、殆どリサイクルされていない。本申請者らは、以前の研究においてそれらの有効活用を目指し、動物繊維である“羊毛”から構成タンパク質のケラチンを抽出し、エレクトロスピンニング法によりナノファイバーとして再生繊維化する検討を実施した。また、抽出ケラチンをフィルムや多孔質スポンジへと加工し、ナノファイバーと共に、バイオマテリアル応用化を検討することも実施した。

一連の研究により得られた成果は、既に国内外の学術論文および学会にて報告を終えている。本申請者が、一連の当該研究テーマに着想した経緯には、廃棄される動物繊維タンパク質のリサイクルという意味合い以外に、バイオマテリアル応用した際の、汎用素材(コラーゲン)と比較した場合の生体に対する高い安全性が挙げられる。コラーゲンは生体を構成する構造タンパク質であり、優れた生体親和性を示す反面、BSE等による安全性の危惧、複雑な精製工程、高コスト等の課題を有する。

一方、同じく構造タンパク質であるケラチンを成分とする動物毛は、非血管性由来でありBSEの危険性が無い。さらに、ケラチンは細胞接着性因子として知られるアミノ酸配列を分子内に複数セグメント含んでおり、細胞との高い親和性も有する。加えて、安価で大量に安定入手が可能ということも特筆すべき利点である。

(2) 先行研究と比較した本研究の特徴

このようなケラチンたんぱく質の特性を活かし、本研究では本申請者の先行研究成果を発展させる。即ち、まず原材料の点において原素材を“羊毛”から“ヒト毛髪”へと応用すること、及び抽出手段を“酸化的”から“還元的”へと応用展開する。原素材にヒト毛髪を用いることで得られる利点は、異種(羊)由来から同種(ヒト)由来の材料となることで移植時の生体への安全性が飛躍的に高まることである。さらに、“酸化抽出ケラチン”が天然構造から変性しているのに対し、“還元抽出ケラチン”は天然構造に近い。その結果、生理学的特性の維持や、化学架橋を施すことなく力学的特性を再現できる利点も有する。一方、解決すべき課題も生じる。羊毛とヒト毛髪では含有アミノ酸組成差も大きく、色素含有の有無も異なる。また、年齢・性別・人種等による相違も想定され、それらは溶媒への溶解性や物性への影響とも深く関わっていると想定される。従って、上記利点を得るためには、それらの影響を幅広くスクリーニングすることが必要となる。尚、本研究では応用対象がバイオマテリアルであることを勘案し、生体構造と同じくナノスケールで構造制御が可能な、ナノファイバー作成に焦点を絞った検討を実施する。

2. 研究の計画

(1) 達成目標

本研究は「ヒト毛髪由来還元抽出ケラチンのナノファイバー化技術を確立し、それらの生体親和性を評価する」ことである。そのため、基礎段階の研究過程では、ケラチン抽出プロセスの確立および成型加工を行う。そして、応用化過程においては、基礎段階で得られたケラチンの特性を活かし、バイオマテリアル応用の例として、癒着防止膜への応用化を視野に入れ、その可能性を評価する。

(2) 研究項目

上記の基礎段階に相当する項目では、

- (1) ヒト毛髪ケラチンの精製抽出と、エレクトロスピンニングにおける条件パラメータ設定。
- (2) ナノファイバーの物性評価とそれを受けた改善検討。

に項目を絞って検討を行う。この工程を行う趣旨は、従来の“羊毛”を用いた検討に比べて“ヒト毛髪”から得られるケラチンは抽出や加工において多くの相違と工夫が必要であることから、得られるケラチンの精製と成型加工における再現性あるエレクトロスピンニング化技術を確立する。また、メラニン色素の影響をも評価するため、“黒髪”と“白髪”の異種類の毛髪を用いた検討も併せて進める。

また、後半の応用化過程においては、

- (3) ナノファイバー層やフィルム層による多積層構造化
- (4) 多積層構造の物性変化や効果を評価し生体反応を調べる
- (5) ナノファイバーの生体親和性評価 (in vivo および in vitro)

について検討を行う。

これらの検討により、癒着防止膜としての可能性についての基礎事項を評価する。

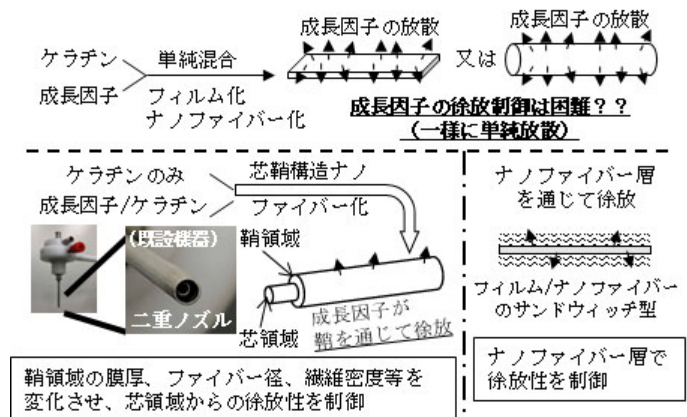
3. 研究の成果

2020 および 2021 年度においては、上記の応用化過程に相当する (3)～(5) の評価を行った。

右図は、積層化の概念を示しており、2020 年度には、このうち上段の通常ナノファイバーシートによる効果、2021 年度には下段右側のサンドウィッチ型について検証を行うことまで実施出来た。下段左側の芯鞘構造によるナノファイバーシートの検証は、その製造に想定以上の時間を要し、現在も継続して検証を実施している。

現時点までの成果では、右図上段の通常ナノファイバーシートと比較して、下段右側のサンドウィッチ構造でも成長因子の明らかな効果は認められなかった。

これは、ファイバー内からの成長因子の徐放性がコントロール出来ていないことを示唆しており、ナノファイバー層という物理的バリアのみによる徐放コントロールが困難であることを示している。一方、これらのシートをラット子宮管の擦過傷モデルに対して貼付け、その効果を評価したところ、上図のサンドウィッチ型のシートを用いた場合はコントロール群と比較して明らかな有意差が確認されたのに対し、ナノファイバー層のみの場合はコントロール群と比較して有意差は無かった。これらの結果は、創傷患部からの滲出液をブロックして保持できる機能の有無に依ることが考えられ、今後この系において、さらに成長因子の徐放性による漿膜早期再生の価値を高める検討を行う。



4. 研究の反省・考察

本研究は、毛髪を有効な再生材料資源と捉え、生体材料として応用化することを目標にその基礎項目について検討を行った。その結果、本研究代表者の先行研究から継続して進めてきた『ケラチンの抽出』については、毛髪を原料として純度高く、再溶解して成型加工が可能な抽出法を確立することが出来た。特に、比較的 low molecular weight のケラチンを単独でナノファイバー化した例はなく、今までは補助高分子と共に検討されてきたが、その壁を突破する成果である。精製における残された課題としては次の事項を挙げることが出来る。即ち、抽出したケラチンにはその特性により大きく α 、 β 、 γ 型に分類され、さらに細かく細分化できるが、現時点ではそれらの分画分離までは達成できておらず、クルードな状態での検討に止まった。今後、それらの分画を達成し、その効果をさらに詳細に検討する必要がある。

一方、後半の癒着防止膜への応用化においては、フィルム及びナノファイバーの多層構造化を図り、一定の成果を挙げることが出来た。また、多層構造としての当初計画の芯鞘構造化は、そ

の制作に時間を要し、助成期間が終了した現在も継続して検討を行っている。これらの材料を用いた検討成果は、ケラチン材料による多層構造化を用いることで『癒着防止膜としての可能性有り』というYesかNoの結果を出す範囲に留まった。即ち、癒着防止のメカニズム解明や、免疫組織学的検討は未着手の状態であり、今後はこの点においてさらに詳細に検討を進める必要がある。

5. 研究発表

<学会口頭発表>

- ・平井彩香、澤田和也、藤里俊哉、動物毛由来ケラチンタンパクを用いた癒着防止膜、ライフサポート学会 第30回フロンティア講演会(令和3年3月9～10日開催の予定であったが、新型コロナウイルスの影響で要旨集の発刊のみ)
- ・園原壮騎、澤田和也、藤里俊哉、血液適合性材料への応用を目指した毛髪由来ケラチンタンパク質の改質、ライフサポート学会 第31回フロンティア講演会、令和4年3月7～8日
- ・古賀野悟士、澤田和也、藤里俊哉、新規な足場材料を用いた人工筋組織の創生、ライフサポート学会 第31回フロンティア講演会、令和4年3月7～8日