

# 論文内容要旨

Strong adhesiveness of a new biodegradable hydrogel glue, LYDEX,  
for use on articular cartilage

(自己分解性を有する生体接着剤 LYDEX の関節軟骨に対する接着性の検討)

Journal of applied Biomaterials & Functional Materials, 2013, in press

主指導教員：越智 光夫 教授

(統合健康科学部門 整形外科)

副指導教員：大段 秀樹 教授

(応用生命科学部門 消化器・移植外科学)

副指導教員：安永 裕司 教授

(寄附講座 人工関節・生体材料学)

数佐 洋美

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

現在臨床で使用されている生体接着剤の多くは Fibrin 糊であるが、近年自己分解性を有する食品添加物由来の二液混合型生体接着剤 (LYDEX) が共著者の玄らによって開発され、臨床への実用化に向けて様々な報告がなされている。2007年に玄らはアルデヒドデキストランとポリリジンの二液を混合させることによって生体接着剤、LYDEX を開発した。LYDEX はばれいしょなどに含まれているでんぷんやデキストランにアルデヒド基を導入し、防腐剤の食品添加物として使用されているポリリジンと反応させることによって、シッフ結合をおこし、ゲル化する自己分解性を持つ合成糊である。現在臨床で使われているフィブリン糊は血液製剤のうちの一つであり、合併症として肝炎ウイルスなどの感染症などの問題があるが、この LYDEX は、すでに我々が食事の際に取り込んでいる食品や食品添加物を原料とするため、低毒性であることが特徴である。我々はこの LYDEX を軟骨損傷の治療に応用できないかと考えた。

そこで、関節軟骨に対する LYDEX の有用性を評価するために、まず接着力の評価と低毒性の証明することを目的とした。

まず引っ張り試験を行った。LYDEX を用いたグループ L とフィブリン糊であるボルヒール®を用いたグループ F とで比較検討を行った。引っ張り試験機の下段にミニブタの大腿骨顆部あるいは脛骨の顆部を軟骨が上になるように、挟み、固定した。軟骨面を乾いたガーゼで軟骨を傷つけないように優しく拭き、可能な限り dry にした後に、LYDEX を塗布し、コラーゲン膜を乗せ、100 g の重しを乗せて 5 分間接着させた。この際、コラーゲン膜に実際の接着面をマーカーにて面積の印をし、接着面積を測定した。Tensile speed 毎分 10mm にて初期張力を測定した。接着面積を測定し、初期張力を接着面積で割ることで接着力を計算した。

結果、GroupL の接着力が最小 0.97N/cm<sup>2</sup> 最大 1.95N/cm<sup>2</sup>、GroupF の接着力は最小 0.25N/cm<sup>2</sup>、最大 0.65N/cm<sup>2</sup> であった。Group L は 1.5±0.4N/cm<sup>2</sup>、Group F は 0.4±0.2N/cm<sup>2</sup> であり、GroupL は GroupF に比べて有意に接着力が大きく、LYDEX はフィブリン糊に比べて約 3.8 倍の接着力があつた。

次に、SD ラットの関節軟骨に LYDEX を用いてコラーゲン膜を貼ったグループを Group L、ラットの関節を展開するもそのまま閉じた sham グループを GroupS とし、12 週の SD ラットを計 6 匹使用した。膝関節を内側アプローチにより展開し、乾いたガーゼで可能な限り dry にし、LYDEX を約 0.3ml 注入しコラーゲン膜を patella groove に塗布した。5 分静置し、5-0 ナイロンを用いて膝関節を閉じた。一週間後、膝関節を切除し、評価した。

結果、肉眼的所見にて腫脹や熱感、発赤、感染は認めなかった。病理学的所見において、HE 染色、サフラニン O 染色で二つの群に違いはなかった。病理組織学的に違いがないかスコアリングを行った。滑膜組織で水腫、炎症性細胞浸潤、滑膜細胞増殖、肉芽組織形成、線維化、関節腔内滲出物の各項目を、大腿骨滑車溝と膝蓋骨ではパンヌス形成や軟骨破壊、骨破壊の各項目を 0 点から 4 点で評価し、合計スコアで評価した。最大スコアは 48 点とし、病理組織学的スコアにおいて 2 群間に有意差がないことを確認した。さらに免疫組織学

的評価にて、Collagen Type II、TNF $\alpha$ 、IL-6 の染色を行ったが、2 群に大きな差はなかった。

玄らは 2007 年に牛皮を用いて接着力試験を行っており、LYDEX がフィブリン糊に比べて 4 倍の接着力があることを報告している。Araki らは LYDEX をビーグル犬の肺の空気漏出部に塗布する実験を行い、術後 6 か月で線維症なしに正常肺組織が修復されていたと報告し、Takaoka らは眼球表面の羊膜移植による再建で LYDEX を使用し、従来の縫合による方法と比較して炎症反応に有意差はないと報告している。

今回我々は、関節軟骨とコラーゲン膜の接着試験を行い、LYDEX がフィブリン糊に比べて 3.8 倍の接着力があることを証明し、さらに関節軟骨に対して低毒性であることを証明した。しかし、実際の関節軟骨は水平ではなく丸い形状をしているため、LYDEX を均一に塗布することが難しい。また今回の実験では接着面を乾いたタオルでふくことによって dry に保つことができたが、実際に生体に貼るときには dry に保つことは困難と考えられる。

整形外科領域では、自家培養軟骨移植術でコラーゲン膜や骨膜を縫合して使用されており、LYDEX を使用することでこれらの治療法がさらに発展する可能性がある。