

癒着防止のための光架橋型カルボキシメチルジェランの開発

Development of photocrosslinked carboxymethyl gellan for prevention of postoperative adhesion

○ 丹羽一喜 (三重大) 小山直紀 (三重大) 野口寛之 (三重大) 山本光則 (三重大)

宮本啓一 (三重大) 堀内孝 (三重大) 明田浩司 (三重大)

Kazuki NIWA, Mie University, Naoki KOYAMA, Mie University, Hiroyuki NOGUCHI, Mie University, Mitunori YAMAMOTO, Mie University, Keiichi MIYAMOTO, Mie University, Takashi HORIUCHI, Mie University, Koji AKEDA, Mie University

Abstract: Postoperative adhesion become a subject of discussion at medical front. Existing postoperative adhesion sheet have problems such as it is limited to be available parts of the body as well as it is highly invasive. So in this study, we intended to develop photocrosslinked postoperative adhesion sheet for low invasive healing. We adapted photocrosslinking for low invasion, and we selected carboxymethyl gellan (CMG), which have enough strength for prevention of adhesion and biocompatibility. We synthesized photoactive compound, 3-aminopropyl cinnamate, and introduced it CMG. We evaluated photocrosslinkable ability and cell response. Synthesized photocrosslinked CMG is reacted at wavelength of from 250nm to 360nm, which indicated that it has potential to be low invasive postoperative adhesion sheet.

Key Words: Photocrosslinked carboxymethyl gellan(CMG), Biocompatibility, Cell response, adhesion barrier

1. 諸言

医療の現場で術後に発生する癒着が問題視されている。またその発生率として腹腔手術においては軽度のものも含め、90%以上が癒着を発生させるという。一度発生した癒着は自然治癒されず、慢性的な痛みを生じることや次の手術を困難にするなど様々な問題へと発展する。医療の現場で癒着防止材は使用されているがいずれも体内へ入れるために切開が必要になること、つまり侵襲性が高いという問題がある。そこで低侵襲癒着防止材料の開発が望まれている。低侵襲として光架橋を選択し、癒着防止材料として生体適合性・高強度ゲルを形成することが報告されているカルボキシメチルジェランを選択した。また光反応性物質をカルボキシメチルジェランに導入し、その光反応性・細胞への応答性を評価した。

2. 方法

2-1 カルボキシメチルジェランの作製

ジェランを飽和水酸化ナトリウム水溶液で溶解し、モノクロロ酢酸ナトリウムを溶解させながら加えていく。室温で発熱するまで攪拌し、発熱した段階で氷浴に移す。その後、氷浴上にて2時間攪拌し、透析・凍結乾燥を経てカルボキシメチルジェランを作製した。

2-2 3-aminopropyl cinnamate の精製

ケイ皮酸クロリドを・Boc アミノプロパノールから Boc-3aminopropyl cinnamate を作製し、クロマトグラフィーにより単離、その後脱 Boc 反応を行うことで目的の 3-aminopropyl cinnamate を得た。

2-3 光架橋型カルボキシメチルジェランの作製

作製したカルボキシメチルジェランに 3-aminopropyl cinnamate を活性エステル法にて導入した。また活性エステル法に用いた試薬、N-ヒドロキシコハク酸イミド・カルボジイミド塩酸塩・3-aminopropyl cinnamate の量を変化させることで CMG に対する 3-aminopropyl cinnamate の導入率の変化を観察した。

2-4 光架橋型カルボキシメチルジェランの作製

2-3 で作製した光架橋型カルボキシメチルジェランを脱イオン水に溶解し、波長 250~360nm の光を照射した。また濃度と光の照射時間を変化させ、ゲル化能の違いを見た。

3. 結果

3-1 以下の構造のカルボキシメチルジェランを得ることに成功した。

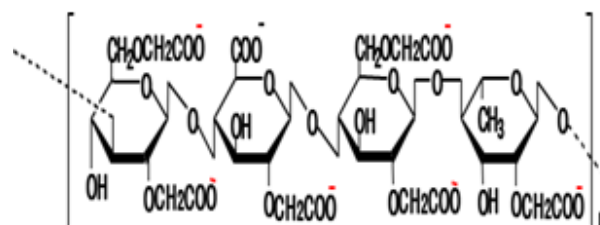


Fig.1 Structure of carboxymethyl gellan

3-2 以下の構造の 3-aminopropyl cinnamate を得ることに成功した。

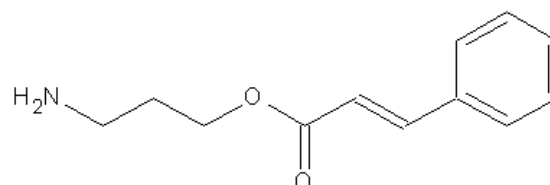


Fig.2 Structure of 3-aminopropyl cinnamate

3-3 光架橋型カルボキシメチルジェランの構造を NMR により確認した。また得られた NMR のスペクトルよりカルボキシメチルジェランへの 3-aminopropyl cinnamate の導入率を算出した。光架橋型カルボキシメチルジェランにおいて、NMR の結果より 8 糖に 1 分子の 3-aminopropyl cinnamate が導入されていることが分かった。

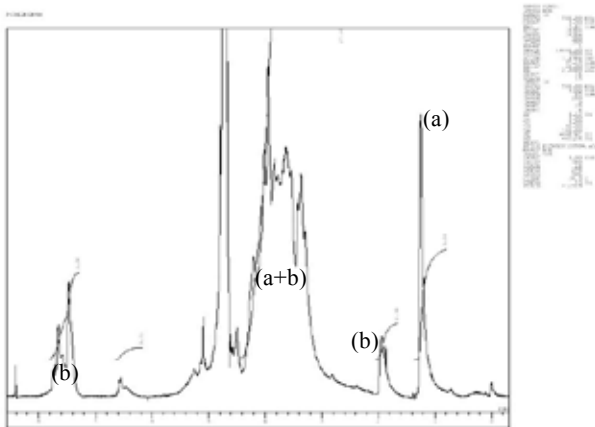


Fig.3 NMR charts of carboxymethyl gellan gel.
 (a):カルボキシメチルジェラン由来のピーク
 (b):3-aminopropyl cinnamate 由来のピーク

3-4 光架橋型カルボキシメチルジェランの細胞毒性の評価は現在検討中。

4. 考察

光架橋型カルボキシメチルジェランに光を照射したときの構造は以下のようにっていると推測された。

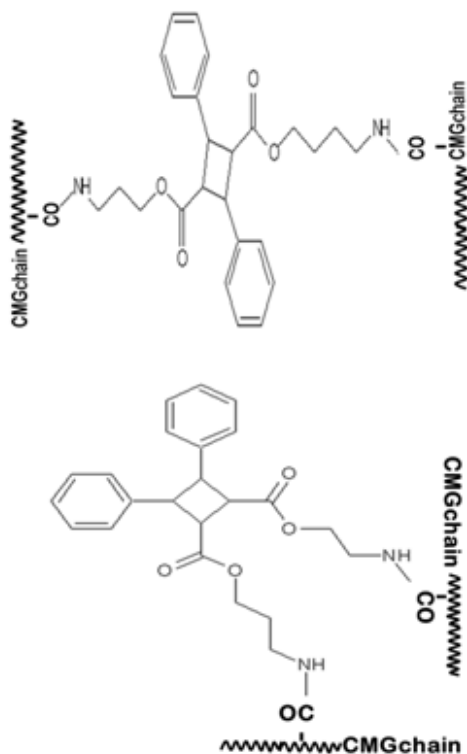


Fig.4 Structure of photocrosslinked carboxymethyl gellan gel.

5. 結論

作製した光架橋型カルボキシメチルジェランは 250～360nm の波長の光でゲル化能を有することが分かった。また、その導入率は 8 糖に 1 分子であることが NMR の結果から示唆された。

また今後は導入率の向上・光の照射時間によるゲルの物理特性の変化を評価し、その最適条件を見つける。

参考文献

- (1) Kenji Miyamoto, Masanori Sasaki, Evaluation of in vivo biocompatibility and biodegradation of photocrosslinked hyaluronate hydrogels (HADgels), J Biomed Mater Res, 70A, pp.550-559, 2004.
- (2) Michal Weitman, Ketil Lerman, Structure-activity relationship studies of 1-(4-choloro-2,5-dimethoxyphenyl)-3-(3-propoxypropyl)thiourea, a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor of human immunodeficiency virus type-1, European journal of Medicinal Chemistry, 46, 447-467, 2011
- (3) Jan Mehlich, Bart Jan Ravoo, Click chemistry by microcontact printing on self-assembled monolayers: A structure-reactivity study by fluorescence microscopy, Organic & Biomolecular Chemistry, 9, 4108-4115, 2011