

2024年度 TIA 連携プログラム探索推進事業「かけはし」

調査研究報告書(公開版)

【研究題目】水産加工廃棄物を主原料とする止血シートに関する調査研究

【整理番号】TK24-09

【代表機関】NIMS

【調査研究代表者（氏名）】

田口哲志

【TIA 内連携機関：連携機関代表者】

筑波大学：佐藤幸夫

【TIA 外連携機関】

なし

【報告書作成者】

田口哲志

【報告書作成年月日】

2025 年 4 月 30 日

【連携推進（具体的な連携推進活動内容とその活動の効果等）】

- ① 【活動】止血シートの現状と課題に関する調査：手術時に止血シートを使用している臨床医が参加・発表する学会へ参加・出席し、止血シートの現状と課題を調査した。（NIMS／筑波大学担当）【効果】呼吸器外科学会、バイオマテリアル学会、日本人工臓器学会等へ参加し、止血シートおよび止血関連材料に関する有益な情報が得られた。
- ② 【活動】止血シート調製方法の調査：タラゼラチンをアルキル酸無水物により疎水化し、架橋剤および止血シートの支持膜を 2 層化して止血シートを得た。（NIMS 担当）【効果】条件・方法を最適化することで止血シートの調製方法を調査した。
- ③ 【活動】止血シートの耐圧強度に関する調査：ブタ大動脈組織を試験片として、欠損部を作成し、その欠損部を塞ぐように成型した止血シートを貼付後、耐圧強度を測定した。（NIMS／筑波大学担当）【効果】条件・方法を最適化することで市販品を超える耐圧強度を有する条件が得られた。
- ④ 【活動】止血シートの酵素分解性に関する調査：治癒過程で細胞より分泌されるコラゲナーゼを用い、調製した止血シートの分解性を定量的に評価した。（NIMS 担当）【効果】得られた止血シートがコラゲナーゼにより分解する結果が得られた。
- ⑤ 【活動】シートによる止血効果の調査：ラット肝臓の左葉に欠損部を作成し出血モデルを作成した。その後、止血シートを貼付し、ろ紙が吸収した出血量を測定した。比較として市販品を用い、優位性を調査した。（NIMS／筑波大学担当）【効果】得られた止血シートが市販品と同等以上の優位性を有することが明らかとなった。

【調査研究内容（研究背景・課題解決の内容と結果）】

1. 研究背景

呼吸器外科手術では、壁が脆弱な肺動静脈からの噴出性出血に代表される合併症があり、術中大量出血や胸腔内の感染を惹起することで再手術に至る場合もある。現在、止血を目的とした医療用材料として、血液由来のフィブリンシートあるいはポリグリコール酸シートとフィブリン糊の組み合わせた処置により処置が行われているが、止血効果が低いという課題がある。そのため、出血部位に貼付可能で効果的に止血できるシートの開発が望まれている。近年の手術の高度化・低侵襲化により止血シートを使用する機会は増加し、大きなマーケット（国内約 210 億円（矢野経済研究所 2022）、海外約 6,900 億円（Fortune Business Insights））となっている。研究代表者らはこれまでに、常温流動性を有するスケソウダラ由来ゼラチン（以下、タラゼラチン）にアルキル基等の疎水基を導入した疎水化タラゼラチンと架橋剤からなる外科用接着剤を開発し、優れた湿潤組織接着性を示すことを明らかにしてきた（Biomater Sci 2017, 5, 982）。

本調査研究では、タラゼラチンが低イミノ酸含量により常温以下で優れた水溶性を示す点（すなわち、血液吸水力が優れている点）に着目し、血液を吸収することによって架橋・接着反応が進行し、貼るだけで出血を止めることが可能な止血シートに関する調査研究を行うことを目的とした（図 1）。

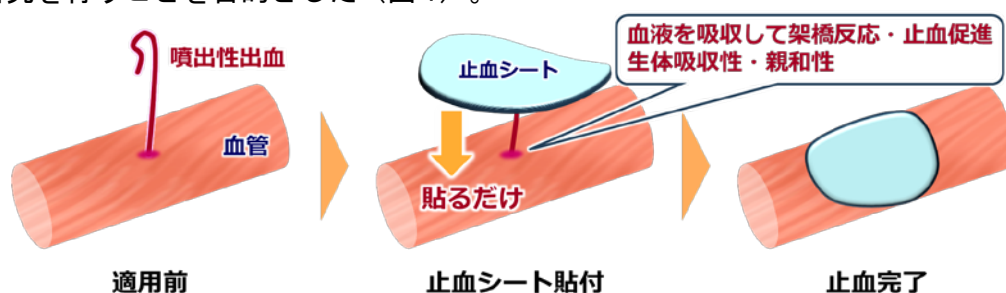


図 1 本課題の調査対象となる止血シートによる噴出性出血の止血イメージ

（課題解決の内容と結果）

1. 疎水化タラゼラチンの合成とキャラクタリゼーション

タラゼラチン中のアミン基とオクタン酸（炭素数 8 (C8)）、デカン酸（炭素数 10 (C10)）、ドデカン酸（炭素数 12 (C12)）無水物を高 pH 条件下で反応させることにより、異なるアルキル鎖長の疎水化タラゼラチンを合成することに成功した。得られた疎水化タラゼラチンの導入率は、C8 (12C8)-ApGln が 12mol%、C10 (10C10)-ApGln が 10mol%、C12 (8C12)-ApGln が 8mol% であった。得られた疎水化タラゼラチン 12C8-, 10C10-, 8C12-ApGln 分子に含まれるアルキル基の数は、それぞれ 1.51, 1.26, 1.01 本と見積もられた。FT-IR スペクトルでは、Org-ApGln と比較して、疎水化タラゼラチンでは、疎水化に伴い、3284 cm^{-1} の -NH-伸縮ピークが、2935 cm^{-1} の -CH₃伸縮ピークが増加した（図 2a））。また、¹H-NMR スペクトルでは、1.29 ppm にアルキル CH₂ピークが増加した（図 2b））。これらの結果から、ApGln 分子へのアルキル基の導入が確認された。

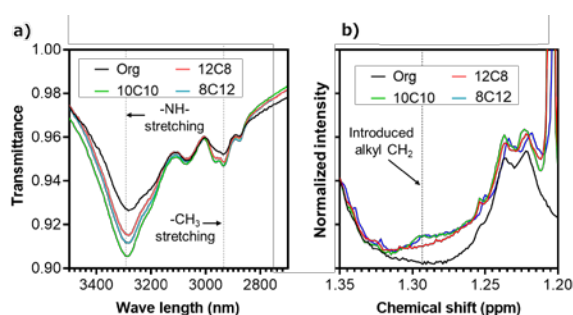


図 2 合成した疎水化タラゼラチンのキャラクタリゼーション：a) FT-IR スペクトル、b) ¹H NMR スペクトル

これらの結果から、ApGln 分子へのアルキル基の導入が確認された。

2. 疎水化タラゼラチンシート（止血シート）の調製

疎水化タラゼラチンシートは、Org-ApGltN から構成される支持体と疎水化タラゼラチンとポリエチレングリコール (PEG) 系架橋剤から構成される接着層の2層からなるものを調製した。シート適用後に他の組織との望ましくない接着を防ぐため、支持層は組織接着性を示さない Org-ApGltN を用いた。一方、接着層は、疎水化タラゼラチンと PEG 系架橋剤を複合化することにより調製した。疎水化タラゼラチンと PEG 系架橋剤の複合化により、疎水化タラゼラチンの疎水基が生体組織表面と疎水性相互作用すると共に、架橋剤による共有結合の形成により強固に組織接着を示すと考えられる。得られた疎水化タラゼラチンシート上の接着層の形態を SEM で観察すると、接着層は多孔質構造を示すことが明らかとなった（図3）。

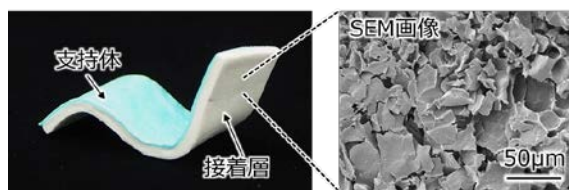


図3 疎水化タラゼラチンシート（止血シート）（左）と接着層の電子顕微鏡観察像（右）

3. ブタ血管に対する耐圧強度測定

得られた止血シートの耐圧強度は、ASTM F2392-04 に従ってブタ血管を被着体として評価した。まず、疎水化タラゼラチンのアルキル鎖長 (C8、C10、C12) が耐圧強度に及ぼす影響を調べた。アルキル鎖長が長くなるにつれて耐圧強度は上昇し、C10-ApGltN シートで最大の耐圧強度が得られた（図4）。この結果は、長いアルキル鎖長により血管組織との間で疎水性相互作用が形成され、界面強度が増加したためであると考えられる。一方、C12-ApGltN シートの耐圧強度は C10-ApGltN シートと同程度であった。これは、C12-ApGltN の疎水性が高いため、シートの水和が遅れ、不均一な接着層が形成されたためであると考えられた。一方、耐圧強度測定後の組織断面観察の結果から、耐圧強度試験時に支持層と接着層の界面が剥離する現象が認められ、止血シートの支持層／接着層界面を如何に強固に接着させるかが課題であることも明らかになった。

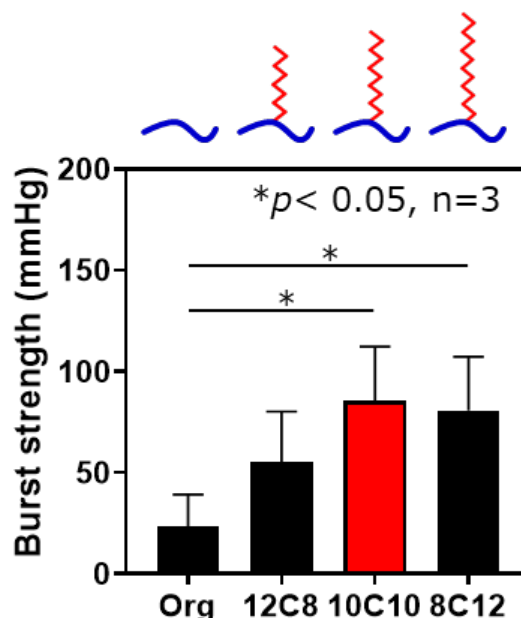


図4 ブタ血管欠損に対するアルキル鎖長の異なる止血シートの耐圧強度

4. ラット肝出血モデルを用いた止血シートの止血効果の検討

ラット肝出血モデルを用いて止血シート (10C10-ApGltN シート) の止血効果を評価した。まず、ラット肝臓に幅 4mm、深さ 2mm の欠損を作製した。次に、Org-、10C10-ApGltN シート、および市販品を欠損部に貼付し止血した（図5 (a)）。貼付したシートの画像から、Org-、10C10-ApGltN シート、市販品は肝臓の欠損部に接着し、血液がシートに浸透していることが明らかとなった。肝臓からの出血量を測定した結果、Org-および 10C10-ApGltN シート群は、対照群（未処置）に比べて出血量が有意に減少した（図5 (b)）。市販品群は 10C10-ApGltN シート群と有意差を示さなかったが、10C10-ApGltN

シートは市販品よりも出血を抑制する傾向があった。実験後の肝臓とシートの断面を組織学的に観察すると、10C10-ApGltN シートは肝臓表面に密着しており、血栓形成は少なかった。一方、市販品と肝臓表面の間には血液凝固層が観察されたことから、接着性が十分ではなく、密着効果が低いことが示された。市販品は組織接着性が低いため、血流によって市販品が肝臓表面から一部剥がれたと考えられる。一方、10C10-ApGltN シートは、PEG 系架橋剤が生体組織中の生体高分子に含まれるアミノ基と共有結合を形成すると共に、10C10-ApGltN のデカノイル (C10) 基による疎水性相互作用によって組織上に接着層を形成し欠損部を適切に閉鎖できるため、出血量が低かったと考えられる。

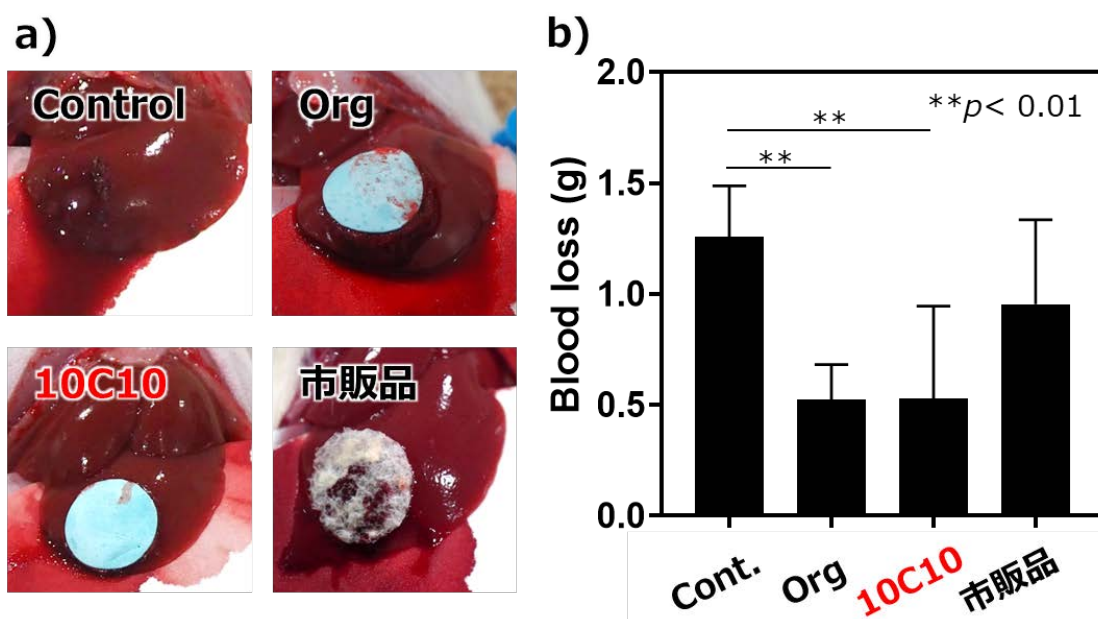


図 5 止血シートのラット肝臓出血モデルによる止血効果の比較：a) 止血シート適用後のラット肝臓の外観、b) 止血シート適用後の出血量比較

5. 論文リスト、主な学会活動等 (論文リスト)

1. Ito, S.; Watanabe, S.; Komatsu, H.; Nagasaka, K.; Palai, D.; Maki, N.; Tai, T.; Sugai, K.; Kawamura, T.; **Sato, Y.; Taguchi, T.*** Development of a Janus tissue adhesive hemostatic patch based on hydrophobically modified Alaska pollock gelatin, *Biomater Adv*, 166, 214028 (2025).
2. Miyata, M.; Komatsu, H.; Ito, S.; Watanabe, S.; Minamisakamoto, S.; **Taguchi, T.*** Effects of phenolic hydroxyl group structures of Alaska pollock gelatin-based adhesives on soft tissue adhesion and biocompatibility, *Colloids Surf B*, 253, 114715 (2025).
3. Ito, T.; Mizuta, R.; Ito, S.; **Taguchi, T.*** Robust aortic media adhesion using hydrophobically modified Alaska pollock gelatin-based adhesive for aortic dissections. *J Biomed Mater Res B*, 112, e35361 (2024).

4. Ito, S.; Nagasaka, K.; Komatsu, H.; Palai, D.; Nishiguchi, A.; **Taguchi, T.*** Improved hydration property of tissue adhesive/hemostatic microparticle based on hydrophobically-modified Alaska pollock gelatin. *Biomater Adv*, 159, 213834 (2024).
5. Ono, T.; Suzuki, T.*; Nagoshi, N.; Masugi, Y.; Maeda, K.; Hashimoto, S.; Watanabe, S.; Iwamoto, T.; **Taguchi, T.***; Nakamura, M. Alaska pollock-derived gelatin sealant has higher sealing strength than, and comparable biocompatibility with, fibrin sealant in porcine and rat dural injury models. *Spine*, 49, E200-E207 (2024).

(主な学会活動等)

1. 伊藤椎真、小松ひより、西口昭広、田口哲志、水和速度を制御した疎水化タラゼラチン粒子の設計と噴霧型接着性止血剤への展開、日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2024、2024 年 10 月
2. 西野初音、伊藤椎真、小林康子、渡邊志春、西口昭広、田口哲志、疎水化タラゼラチン粒子の止血・接着能に対する架橋密度の影響、日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2024、2024 年 10 月
3. 西野初音、伊藤椎真、小松ひより、南阪本咲月、小林康子、渡邊志春、西口昭広、田口哲志、異なる架橋密度を有する組織接着性止血粒子の設計と機能評価、つくば医工連携フォーラム 2025、2025 年 1 月
4. 小松ひより、伊藤椎真、Palai Debabrata、西口昭広、田口哲志、消化管手術における縫合不全リスク軽減を目指した水中強靱化接着剤の研究、つくば医工連携フォーラム 2025、2025 年 1 月
5. 伊藤椎真、西口昭広、田口哲志、早期消化管がん除去部の被覆を可能にする組織接着性粒子の接着性および噴霧特性最適化、つくば医工連携フォーラム 2025、2025 年 1 月

【今後の活動予定】

① 調査研究チームとしての今後の活動予定

疎水化タラゼラチンを用いて支持層と接着層の 2 層から構成される止血シートを作成し、ブタ血管組織に対する耐圧強度を調査した。疎水化タラゼラチンを主成分とする止血シートは湿潤状態にあるブタ血管に対して接着し、市販品と比較して高い耐圧強度(欠損部閉鎖強度)を示した。一方で、耐圧強度試験時に支持層と接着層の界面が剥離する現象が認められ、止血シートの支持層／接着層界面を如何に強固に接着させるかが課題であることが顕在化した。今後、止血シートの支持層／接着層界面を接着する手法の調査と得られた止血シートの性能について調査を行う予定である。

② 新たな資金獲得の方針

AMED 橋渡し研究シーズ preF/B への応募を検討する。筑波大医学部、医療機器メーカーとの連携構築を探索し、応募に向けた基礎データの蓄積、必要資料の準備を行う予定である。

③ 今後の調査研究計画

以下の内容について、前年度に引き続き、調査する。止血シート調製方法の再調査／改良した止血シートの耐圧強度に関する再調査／改良した止血シートのブタ肺動脈拍動モデルに対する耐圧強度に関する調査／改良した止血シートの分解性に関する再調査