

## 日本医療研究開発機構 官民による若手研究者事業 事後評価報告書



### I 基本情報

補助事業課題名：（日本語）水生生物の接着機構にヒントを得た生体組織接着剤の研究開発  
（プログラム名）（英語）The study and development of tissue adhesives inspired by adhesion mechanisms of aquatic organisms

実施期間：令和2年9月1日～令和4年3月31日

補助事業担当者 氏名：（日本語）江島 広貴  
（英語）EJIMA Hirotaka

補助事業担当者 所属機関・部署・役職：  
（日本語）東京大学大学院・工学系研究科・准教授  
（英語）School of Engineering, The University of Tokyo, Associate Professor

### II 補助事業の概要

外科手術では臓器を接合・閉鎖して体液の流出を防止する場面が数多く存在する。臓器の接合・閉鎖は通常、縫合によって行われるが、縫合は点による接合であり完全に体液の漏出を防ぐことはできない。また針を生体組織に貫通させることで感染のリスクが高まる。縫合対象の生体組織が微小な場合は高い縫合技術が必要とされ、執刀医の技術に大きく依存する。近年ますます普及している腹腔鏡手術では、ポートから挿入した内視鏡により腹腔内をモニターに映し出し、執刀医はモニターを見ながら、他のポートから挿入した手術用機器を操作して手術を行う。そのため、通常の開腹手術と比較して視野や操作性が制限される場合が多く、縫合プロセスが手術の長時間化の一因となっている。医療用ステープラーや自動吻合器はこれらの問題の一部を解決し、臓器によっては標準術式として使用されるようになったが、高価であり金属製ホチキスが体内に残存するという課題を抱えている。医療用ステープラーを利用した臓器の接合・閉鎖も点による接合であり、手縫い縫合と同程度もしくはそれ以上の頻度で体液漏が発生することが知られている。

そこで生体組織接合と体液漏防止のために、接着剤を用いた新たな術式の開発が期待されている。接着剤は点ではなく面による閉鎖であり（図1）、体液漏を効率的に防止することができる。また、手縫い縫合よりも操作が簡単であり、手術時間の短縮に貢献できる。しかし、現行の生体組織接着剤の接着力がいまだ十分でないため、接着剤による生体組織の接合は現実的に困難である。この一つの原因は、生体組織の表面が濡れているためである。絆創膏を濡れた肌の表面に接着させることを想像してみるとわかりやすいように、肌の表面を水分子が覆っている方が、接着剤と接触しているよりも界面自由エネルギー的に安定である。ほとんどの接着剤は乾燥条件下と比較して、湿潤条件下における接着強度が大幅に低下してしまう。

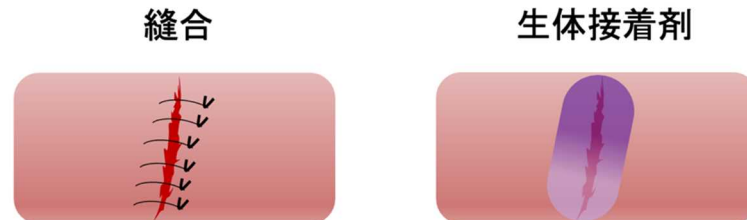


図1. 縫合と接着剤による生体組織の接合

一方で自然界に目をむけると、貝やホヤといった水生生物はこの難しい湿潤環境下における接着をいとも簡単にやっけてのけている。これらの生物にとっては波に流されてしまうと生命の危機にさらされるため、長い進化の過程で、生存戦略として水中接着能を獲得してきた。本補助事業担当者はこれまで水生生物の接着モチーフであるガロール基に着目したバイオミメティック水中接着剤の研究開発を行ってきた。本補助事業課題ではガロール基修飾高分子の水中接着原理の理解を深め、医療用接着剤に適応できるかどうかを検証した。

まず、種々の分子量とガロール基含有量をもつ高分子を設計・合成し、水中接着性を評価した。市販の没食子酸メチルのヒドロキシ基をウィリアムソン反応によって保護した。次に水素化アルミニウムリチウムによってエステル基を還元し、生じたアルコールを二酸化マンガンによってアルデヒドに酸化した。ウィティッヒ反応によってモノマーであるトリメトキシメトキシスチレンを合成した。このモノマーをスチレンと所定の混合比で共重合し、酸性条件下脱保護することで、ポリ（ビニルガロール-co-スチレン）を得た。種々の分子量とガロール基含有量をもつポリ（ビニルガロール-co-スチレン）を合成し、水中接着性評価を行うことでこれらパラメータを最適化し、適切な配合比を決定した。さらに接着試験後の破断面をエネルギー分散型X線検出器搭載走査型電子顕微鏡で観察することで、破壊モードを特定し、水中接着現象の背景にある物理・化学的現象の考察を行った。

次に、ガロール基を修飾した生体吸収性高分子の合成法を確立した。キトサンと1-ヒドロキシベンゾトリアゾールを純水に加え、一晚攪拌した。次に3,4,5-トリヒドロキシ安息香酸、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミドを溶解したエタノールを滴下し、室温下一晩攪拌した。得られた反応溶液を透析チューブに入れ、緩衝液中、蒸留水中で順次透析を行なった。その後、凍結乾燥によって繊維状のガロール基修飾キトサンを得た。また、3,4,5-ヒドロキシ安息香酸の代わりに3,4-ジヒドロキシ安息香酸、4-ヒドロキシ安息香酸を用いて、それぞれカテコール基修飾キトサン、フェノール基修飾キトサンを合成した。

これらの高分子を用いて生体組織接着試験を行った。角状（大きさ20×60 mm）の豚皮をはさみで二分し、切断後の二つの豚皮片を、側面が接するように配置し接着させた。その後、引張試験機を用いてサンプルが分離するまで10 mm/minの速度で引っ張り、破断時の荷重を計測した。また、生体組織片（牛の大動脈、肺、膵臓、肝臓、腎臓、子宮、腸、大きさ40×40 mm）に直径3 mmの穴を開け、接着剤によって閉塞した。サン

プルを破壊圧力試験機（図2）にセットし、リン酸緩衝液を流して破裂する時の圧力を計測した。これらの試験の結果、本接着剤が十分な接着強度を有していることがわかった。さらに生物学的安全性試験を行い、本接着剤の安全性に関する予備的な知見を得た。

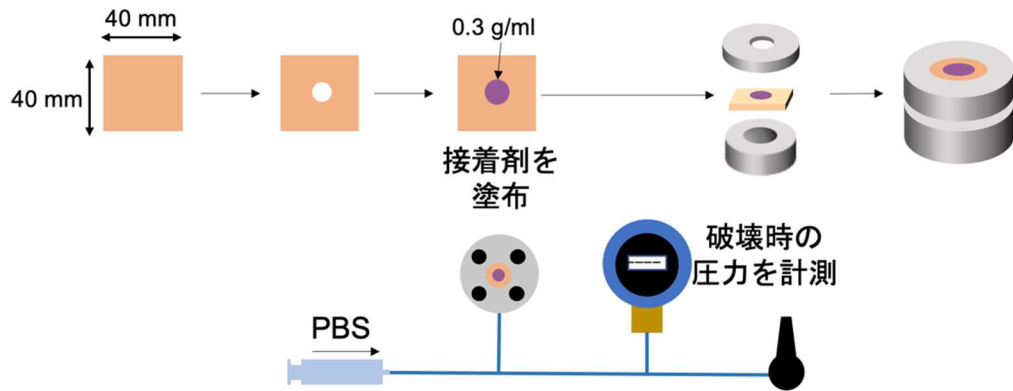


図2. 破壊圧力試験機による耐圧試験

以上のように、本研究では医療機器開発につながる、水生生物にヒントを得た強力な水中接着というシーズ技術（図3）に対し、物理・化学的原理の解明を行った。その成果は1件の特許出願（特願2020-196223）と Nature Communications 誌（Nature Commun., 2022, 13, 1892）に掲載され、日刊工業新聞（2022年4月15, 19日）、読売新聞（2022年4月16日）、読売中高生新聞（2022年4月22日）、日本経済新聞（2022年4月24日）、科学新聞（2022年5月20日）、朝日新聞（2022年5月23日）などで紹介された。また、開発サポート機関から提供される教育プログラムに参加することで、薬事戦略、チームビルディング、バイオデザイン、ラピッドプロトタイプ、製造販売に対する規制、マーケティング、品質マネジメント、特許戦略、市場調査、プレゼン技術、事業計画策定、プロジェクトマネジメント、保険償還、PMDA相談の進め方等について学んだ。さらに、開発サポートチームから紹介を受けた外科医を含む7名の医師に手術用接着剤に関する聞き取り調査を行い、ニーズステートメントを完成させた。対象臓器と適合手術の術式を明確にし、手術用接着剤のプロトタイプを完成させた。最後に、Medtech Academy Pitch Day 2022において得られた成果を発表した。

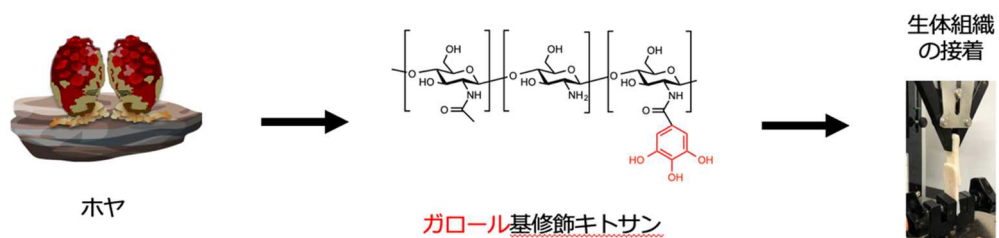


図3. ホヤの接着メカニズムにヒントを得た生体組織接着剤の開発

In surgery, there are many situations in which organs are joined and closed to prevent the outflow of body fluids. These are usually done by suturing, but suturing can not completely prevent fluid leakage. In addition, the risk of infection increases because the needle penetrates the tissue. If the biological tissue to be joined is small, highly skilled suturing technique is required, thus the outcome depends greatly on the skill of surgeons. In recent years, minimally invasive surgery such as laparoscopic surgery has become widespread, but the field of view and operability

are often limited, which lead to the extension of surgery operation time. Medical staplers and automatic anastomosis devices have partially solved this problem and have been used as standard procedures for some organs, but they are expensive and metal staples remain in the body. It is known that fluid leakage occurs at a frequency equal to or higher than that of hand-sewn sutures even in a surgical procedure using a medical stapler. Therefore, it is desired that the adhesive is developed which can join the living tissues and prevent body fluid leakage. However, the adhesive strength of the current biological tissue adhesive is still insufficient, and it is practically difficult to bond the biological tissues with the adhesives. Most industrial adhesives work well under dry conditions, but their bonding strength to wet surfaces is significantly reduced.

On the other hand, looking at nature, aquatic organisms such as shellfish and sea squirts can easily bond in this difficult moist environment. Since these organisms are at risk of life if they are washed away by waves, they have acquired underwater adhesion capability as a survival strategy over a long evolutionary process. I have been conducting research and development of biomimetic underwater adhesives focusing on the gallol group, which is an adhesive motif of the aquatic organism. In this project, we deepened our understanding of the principle of underwater adhesion of gallol-functionalized polymers and verified whether they can be applied to medical adhesives.

First, polymers with various molecular weights and gallol contents were designed and synthesized, and their underwater adhesion strengths were evaluated. By observing the fractured surface after adhesion tests with a scanning electron microscope equipped with an energy-dispersed X-ray detector, the fracture mode was identified and the physicochemical phenomena behind the underwater adhesion were discussed. Next, a method for synthesizing a bioabsorbable polymer modified with a gallol group was established.

Tissue adhesion tests were performed using these polymers. A square (20 x 60 mm in size) pig skin was cut with scissors and divided into two pieces, place the two pieces of pig skin so that the sides are in contact with each other, and bond them together. It was pulled at a speed of 10 mm/min. In addition, a 3 mm-diameter hole was made in a piece of tissue (bovine aorta, lung, pancreas, liver, kidney, uterus, intestine, 40 x 40 mm in size) and occluded with adhesives. The sample was set in a breaking pressure tester, and the pressure at the time of rupture was measured by flowing a phosphate buffered saline solution. As a result of these tests, it was found that this adhesive has sufficient bonding strength. Furthermore, the biological safety tests were conducted.

We elucidated the physical and chemical principles of the seed technology, which is a strong underwater adhesion inspired by aquatic organisms. The results were published in *Nature Commun.*, 2022, 13, 1892, and featured in several news papers. In addition, by participating to educational programs provided by the development support team, I learned about intellectual property, pharmaceutical affairs, commercialization strategies, team building, prototyping, pitch presentation methods, etc. related to medical device development. In addition, seven doctors, including a surgeon introduced by the development support team, were interviewed regarding surgical adhesives, to prepare the needs statement. The target organ and the surgical procedure were clarified, and the prototype of surgical adhesive was developed. Finally, I presented the

results obtained at Medtech Academy Pitch Day 2022.