総説

コラーゲンの人工臓器材料・ソーセージケーシングへの応用

宮 田 暉 夫

1. はじめに

人類の歴史の中でコラーゲンは皮革として最も古くから応用されてきた生体高分子であろう。ここでは最近筆者らがおこなっている人工臓器への応用研究と、ソーセージケーシングへの応用について述べてみたい。

コラーゲンは皮ふ、骨、腱、血管、眼の角膜など動物の結合組織に存在し、外部に対する生体の保護、各組織や臓器を互いに結びつけ、加わった力に抗し、生体の機能や活動を円滑におこなわしめるなど、いわゆる物理的な役割を果たしている。コラーゲンは動物タンパク質の中では最も力学的に丈夫なタンパク質である。たとえば、 1 mm^2 の断面積のコラーゲン繊維は 50 kg の引張り強さを示す。このような強さはコラーゲンの分子構造と分子の集合した繊維の構造に由来するものであるが、コラーゲンの応用に際しては重要な特徴となる。なおコラーゲンについては多数の総説類がある^{1a, b, c, d, e, f, g)}。

コラーゲンはまた動物体内に多量に存在する。ほ乳動物の場合全タンパク質の $1/3$ がコラーゲンであり、しかも、皮ふや腱などには非常に濃縮されて存在するため、原料として得易く、しかも精製が比較的容易である。これも応用をし易くする一つの特徴であろう。

大部分のコラーゲンは、元来不溶性の繊維として存在し、加熱変性してゼラチンとして溶かし出す以外は溶解不能であったが、最近、タンパク質加水分解酵素^{2a, 2b, 2c)} やアルカリ^{3a, 3b)} などの作用により、不溶性コラーゲンを分子の単位にまで溶解し精製することが可能になり、コラーゲンの新しい用途への応用研究を刺激する一因になったことも事実である。

2. 人工臓器材料としてのコラーゲン^{1a, b, c, d, e)}

石油化学と医学の進歩は多くの合成高分子の医療への

応用を可能にしてきた。人工血管、人工弁、人工骨、人工食道、人工腱、人工腎臓、人工肺など多くの用途に多くの合成高分子が利用されている⁴⁾。合成高分子が人工臓器材料として利用される際には、多くの条件が要求される。周囲に炎症反応を起こさず異物反応がない。抗原性がない、発癌性がない、組織内にあっても機械的性質が失われないなどが主なものであろう。

人工臓器が体内に移植されたり、また体外で血液などと接触して用いられることを考えると、元来あった臓器と全く同等のものが得られれば理想的である。このような意味では臓器移植がおこなわれるが、生体臓器そのものを人工的に作るのは、現在では不可能である。しかし、少しでも生体に近い材料を用いて、人工臓器を生体のそれに近づけるという考え方は、単純ではあるが今後大いに研究されるべき問題と思われる。

現在の人工臓器で生体臓器がもっているすべての機能を兼ね備えたものはないといっても過言ではなからう。人工血管、人工腱、人工骨などにしてもほとんどが物理的に生体臓器の代用をするに過ぎない。現在人工臓器として応用されている大部分の臓器には、主タンパク質としてコラーゲンが含まれていることを考えると、コラーゲンを人工臓器材料として応用する試みは、ごく当り前のなりゆきかも知れない。しかし、どの場合もコラーゲンのみを材料として満足なものが得られるとは限らない。生体との親和性という意味でコラーゲンの特徴を生かし、また、人工臓器の骨格を安定的に保つという意味で合成高分子の特徴を生かした、コラーゲン・合成高分子複合体の応用も今後の研究課題になると考えられる。

コラーゲンの人工臓器材料としての性質を理解することが重要なので、具体的な応用例を述べる前に簡単にまとめてみよう。

まず動物のコラーゲンを利用することから考えても抗原性が問題となろう。幸いなことに、よく精製されたコラーゲンは抗原性が少ない。また、最近 Schmitt ら^{5a, 5b)} により、コラーゲン分子が示す抗原性の大部分は、コラーゲン分子本体ではなく、分子の末端に存在するテロペ

Applications of Collagen to Biomedical Material and Sausage Casing

TERUO MIYATA

日本皮革株式会社 研究所室長・農博

第1図 コラーゲン分子に対するタンパク質加水分解酵素の作用

プタイドに基因することが明らかにされた(第1図)。このテロペプタイドは分子全体の3%程度あり、タンパク質加水分解酵素により消化され除かれる。この酵素処理の際、分子の本体部分は何らの作用もうけない。不溶性コラーゲンをペプシンやプロクターゼ (*Aspergillus niger* var. *macrosporus* の生産する酸性に至適 pH をもつタンパク質加水分解酵素⁶⁾) のような酵素で処理すると、テロペプタイドのはずれたコラーゲンとして溶解してくる。従ってこの溶解したコラーゲンを精製すれば、抗原性がほとんど問題にならない、人工臓器材料に適したものが得られる⁹⁾。

コラーゲンは生体に移植されたとき吸収される。吸収の速度は組織により異なるが、筋肉内や皮下では早く⁷⁾、角膜のような血管や細胞の少ない組織では非常に遅い⁸⁾。また、コラーゲンに架橋を導入すると吸収速度は遅くなる⁷⁾。従って、再生が期待される組織の一時的な代用品に応用する場合には都合がよいと思われる。

コラーゲンは生体組織とのなじみがよく、細胞の生長の足場としてもすぐれていることが知られている¹⁰⁾。たとえば、コラーゲンの毛細管を兎の眼球の前房に植え、房水の流れにさらすと、第2図のように毛細管の内面に細胞の層が生成される¹¹⁾。

コラーゲンはまた傷の修復を促す作用のあることが報告されているが^{12a, 12b)}、Rubin らは¹¹⁾兎の背中の皮ふに傷をつくり、一方に酵素溶解で得られた精製コラーゲンを塗布し、他方はブランクとして塗布しないで、両者の傷の治癒を比較観察したところ、コラーゲン塗布した傷はブランクより早く回復し、しかも、回復後の傷跡はきらいであることを認めた。

人工血管などの人工臓器は血液に常に接し、血液凝固が重大な問題となる。現在のところ単一の高分子材料で非血液凝固性の物質はない。多くの高分子材料を非血液凝固性に改質するため、これらの物質にヘパリンを結合せしめる研究がおこなわれている^{14a, 14b)}。コラーゲンの

第2図 コラーゲン毛細管の内面に生成された細胞層

アミノ基の+電荷はヘパリンの-電荷と静電結合を起こし、よくヘパリンを吸着する^{13b)}。コラーゲンのこのような性質は、非血液凝固性の性質を得るためにも有利と考えられる。

人工臓器として具体的に応用をおこなう場合、まず目的にかなった造形をすることと、コラーゲン造形物へ架橋を導入して目的に応じた安定化をはかることが重要となる。この安定化の手段として紫外線照射が非常に有効であることが分った^{18a, 15)}。コラーゲンは生理的条件下にさらされると繊維生成を起こし白濁する。透明な人工硝子体として応用するような場合、紫外線照射により繊維生成を起こさないコラーゲンゲルが得られ、しかも、化学試薬を使った安定化でないので、生体に無害である^{16a, 16b)}。また紫外線照射したコラーゲンは、照射する以前のコラーゲン抗体との反応性を失うことが分った¹⁵⁾。

3. 人工腎臓用の血液透析膜^{17a, b, c, d, e, f)}

次に具体的な応用例を述べる。まず人工腎臓用の血液透析膜である。牛皮の真皮層を精製した後、組織を機械的に個々のコラーゲン繊維にまでくずす。一方精製真皮層を pH 3 でプロクターゼ処理し、コラーゲン分子にまで溶解する。コラーゲン繊維 8 に対しコラーゲン溶液 2 の割合で混合し、円筒ノズルから飽和食塩水中に押し出し管状に成形する。円筒ノズルの外筒と内筒は逆方向に回転しているので、成形されたコラーゲン膜中では、繊維が互いにクロスした配向をとり、縦と横の強さが平均化されてくる。成形後紫外線照射して架橋を導入した後、中和、水洗、乾燥される。紫外線照射は成形直後におこなわないで、乾燥後におこなうこともできるし(乾燥膜照射)、また乾燥膜を水に湿潤した状態でおこなうこともできる(湿潤膜照射)。乾燥膜に照射した場合、他の2つの照射膜より、膜の湿潤破裂強度は強くなるが、水の透過性 (ultrafiltration) は紫外線照射と共に急激に低下するので、短時間照射が好ましい。尿素やクレアチニンなど低分子溶質の透析性も一般に乾燥膜照射は劣

第3図 溶質の分子量とその透析の半減期

○：紫外線照射しないコラーゲン膜
 △：湿潤膜紫外線照射 10 分したコラーゲン膜
 ×：乾燥膜紫外線照射 10 分したコラーゲン膜

第4図 コラーゲン膜の乾燥膜厚とクレアチニンパーミヤビリティの関係 (▲は Cuprophane)

る。製造工程上から考えると、成形直後照射が一番有利であり、水の透過性も照射時間の影響をほとんど受けない。低分子溶質の透析性は余り紫外線照射の影響を受けないが、分子量が1,000以上の溶質の透析性は照射の影響を大きく受ける(第3図)。また、クレアチニンの透析性を乾燥膜厚に対してプロットすると第4図のようになる。縦軸の p (パーミヤビリティ)は、膜を介して生ずる溶質の拡散が Fick の法則に従うとして次式から求められる。

$$J = p(c_2 - c_1)$$

第1表 コラーゲン膜と Cuprophane 膜の比較

	乾燥膜厚 (μ)	水の透過性* ($\text{ml}/\text{cm}^2 \cdot \text{min}$)	クレアチニン P (cm/sec)
成形直後照射 UV 90 分	39 ± 4	$(19 \pm 2) \times 10^{-4}$	$(2.9 \pm 0.3) \times 10^{-4}$
湿潤膜照射 UV 30 分	31 ± 3	$(15 \pm 1) \times 10^{-4}$	$(3.2 \pm 0.3) \times 10^{-4}$
乾燥膜照射 UV 10 分	31 ± 3	$(8.5 \pm 0.5) \times 10^{-4}$	$(2.9 \pm 0.3) \times 10^{-4}$
Cuprophane	21 ± 2	$(6.3 \pm 0.3) \times 10^{-4}$	$(2.6 \pm 0.1) \times 10^{-4}$

* 200 mmHg の加圧下での測定値

J は測定に用いられた膜面積当り、および単位時間当りの溶質の流れであり、 c_1 と c_2 はそれぞれ低濃度側および、高濃度側の溶質濃度である。第4図中に示した Cuprophane とは、セルローズ膜で現在血液透析用膜として実用化されているものでは最も優れたものである。図中にプロットしたコラーゲン膜は、成形直後照射および湿潤膜照射のものであるが、Cuprophane 膜より優れた透析性の膜であるためには、乾燥膜厚が 40μ より薄くなければならない。

表1に成形直後照射、湿潤膜照射、乾燥膜照射した平均的コラーゲン膜と Cuprophane 膜の水の透過性、クレアチニンのパーミヤビリティを示した。乾燥膜厚は Cuprophane より厚いにも拘わらず、とくに水の透過性はよい。水の透過性がとくに優れていることがコラーゲン膜の特徴である。乾燥膜厚の点を考慮すれば、成形直後照射の膜が最もすぐれたコラーゲン膜製造法であることが分る。

このようにコラーゲン膜はセルローズ膜に比べ長所をもっているが、反面実際の血液透析の際、セルローズ膜より穴があき易いという短所がある。チューブ状の血液透析膜は一般にプラスチックメッシュに巻かれて使用されるが、シャープな支持構造をもつメッシュでおさえられた点にピンホールが生ずる。コラーゲンがもつこの短所を改良すると同時に、コラーゲン膜に適した支持構造を工夫することが大切である。

このコラーゲン膜の欠点をカバーする方法として、コラーゲン Hollow Fiber (中空繊維) がある。同じ材質からなる同一壁厚の円筒の破裂強さは、円筒の直径が小さくなれば大きくなり、大きな圧力にも耐えうる。直径の微小な Hollow Fiber を束ねて、Fiber 内に血液を流し Fiber の外壁に透析外液を接触させれば、同じく人工腎臓として使用できる。すでにセルローズ Hollow Fiber の人工腎臓は実用化されている。Hollow Fiber 人工腎臓は他の型のもより小型であり、装置内に入る血液量が少ないなどの長所があり、将来の携帯可能な人工腎臓に一步近づいたものと考えられる。

コラーゲン Hollow Fiber は、微小な2重円筒のノズルからコラーゲン溶液を凝固溶液中に押し出すことにより成形される。

内筒からは凝固液を押し出し、Hollow Fiber の太さや肉厚を加減する。Hollow Fiber の場合はコラーゲン膜の場合と異なり、不溶性コラーゲンを酵素で溶解したコラーゲン溶液のみを使用した方が、均質なものが得られ都合がよい。凝固後紫外

第2表 コラーゲン hollow fiber の性質

	ゲル ^{b)}	乾燥物 ^{c)}	セルローズ ^{d)} hollow fiber
壁厚(μ) 乾燥時	—	24 $\pm$ 3	30
湿潤時	320	100 $\pm$ 20	
内径(μ) 乾燥時	—	372 $\pm$ 30	225
湿潤時	250	560 $\pm$ 40	
湿潤破裂強度 (mmHg)	200~250	500~550	3 $\times 10^{-4}$
水の透過速度 ^{a)} (ml/cm ² ·min)	223 $\times 10^{-4}$	115 $\times 10^{-4}$	

a) : 200 mmHg の加圧下での測定値

b) : 成形・紫外線照射, 中和, 水洗の順序で成形された hollow fiber で乾燥される前のもの。

c) : ゲルの hollow fiber を乾燥したもの

d) : Cordis Corporation により市販されている人工腎臓。

第5図 左上: チューブ型コラーゲン透析膜
 左中: シート型コラーゲン膜
 左下: コラーゲン hollow fiber
 右: コラーゲン hollow fiber の断面,
 平均内径 372 μ , 平均壁厚 24 μ

線照射して中和, 水洗, 乾燥して得られる。Fiber の壁厚はコラーゲン溶液の濃度とノズルのサイズを変えることにより 10 μ 程度のもも得られる。

表2に2%濃度のコラーゲン溶液から作成した Hollow Fiber の性質を示す。比較の意味で, セルローズ Hollow Fiber についても示した。コラーゲン Hollow Fiber の長所は水の透過性が非常によいことである。表1に示したチューブ状コラーゲン膜の5~6倍よい。また破裂強度も 500 mmHg と非常に高く, 血液透析の際の加圧にも充分耐え得る。セルローズ Hollow Fiber 人工腎臓は水の透過性がよくないのが欠点とされているが, この意味ではコラーゲン Hollow Fiber は有望と思われる。またコラーゲン Hollow Fiber は人工肺としても応用可能である。第5図にチューブ型コラーゲン膜, シート型コラーゲン膜, コラーゲン Hollow Fiber とその断面の顕微鏡写真を示した。

4. 眼科領域への応用^{16a, b, 18a, b)}

次にコラーゲンの眼科領域への応用例について述べる。眼はほとんどコラーゲンからできているといってもよい。眼球を形成している鞏膜, 前面の透明な角膜, 眼球の大部分の腔間を充している水様の透明なゲルの硝子体などコラーゲンが主成分である。

硝子体が混濁したり, また網膜剥離の治療法の一つに人工硝子体で置換する方法があり, 今まで, シリコンオイル, ヒアルロン酸, 生理的食塩水など用いられてきたが, いずれも十分に目的が達せられていない。われわれは牛皮コラーゲンをプロクターゼで溶解, 精製し, 紫外線照射によりコラーゲン人工硝子体を作成した^{16a)}。透明なコラーゲンの酸性溶液を水, ついで5%グルコース溶液に透析し, 紫外線を照射すると安定なゲルが得られる。このコラーゲンゲルは 37°C でも変性せず, しかも生理的条件下に保たれても白濁を起こさない。グルコースはコラーゲンゲルの変性温度をあげるのに効果がある。

このコラーゲンゲルを人工硝子体として兎および猿の硝子体中に注入して反応を観察したが, とくに有害な反応も生ぜず, 注入ゲルは分散することなく透明のまま2ヵ月程の間に吸収された。また非常に重症の網膜剥離患者5例と, 同じく重症の硝子体内出血の患者4例に応用し, 網膜剥離の場合は視力の回復は見られなかったが, 後者の場合は2例に視力の回復があった^{18a)}。

角膜の混濁による失明も多いといわれている。角膜は層構造をもっており, 各層内では太さの様な微細コラーゲン繊維が方向を比較よく揃えて並んでいる。各層間では繊維の配向方向が異なっているので, 角膜全体ではコラーゲン繊維の網目構造を形成していることになる。従って眼内圧に耐える丈夫な性質を発現する。このような巧みな構造を人工的に作り出すことは不可能であるが, 透明なコラーゲン膜は, 有用な角膜グラフトと考えられる。酵素処理コラーゲンから得られる透明なコラーゲン膜を兎の角膜内に入れ観察したところ, 何らの有害な反応もなくコラーゲン膜, 兎の角膜とも透明性を維持し, コラーゲン膜は徐々に吸収され, 38ヵ月後, 膜は約半分程吸収された⁹⁾。兎の角膜内に, 動物の腸から作られるカットガットを植えると, 角膜は白濁し血管が角膜内に入りこみ強い反応を示す¹¹⁾。酵素処理コラーゲンはカットガットのコラーゲンよりよく精製されており, 有害な反応を示さないことが分った。角膜の表面と裏面には, それぞれ上皮細胞と内皮細胞の層があり, これらが角膜の透明性を保つのに重要な働きをしている。従って角膜グラフトとして応用される材料は, 酸素, 水, 栄養物の透過性がよいことが望まれる。最近 Glyceryl

Methacrylate という水透過性の合成高分子が開発されて話題をまいたが、この高分子の膜でも、水や代謝産物の透過が充分でないという。コラーゲン膜の透過性は角膜グラフトとして応用する場合にも必要にして充分であると考えられる。

透明コラーゲン膜は天然角膜のような構造をもたず、コラーゲン分子が積み重なっただけのものなので、強度が弱い。天然角膜のコラーゲン繊維の網目構造を残し、ムコ多糖類、可溶性タンパク質、細胞などを除いて角膜グラフトとして応用する方法も考えられる。牛などの角膜を酵素やアリカリで処理してから、一定のモールドに入れ、ガンマー線照射して網目構造を固定する。この処理で、精製された透明角膜が得られる^{18b)} (第6図)。

第7図にコラーゲン人工硝子体、透明なコラーゲン膜およびそれからモールド、ガンマー線照射で得られたコラーゲンレンズを示す。コラーゲンレンズは柔いコンタクトレンズとしての応用も考えられるが、難しい問題が未解決のまま残されている。

5. 紡糸コラーゲン繊維の手術糸と人工血管^{19a, b)}

次に紡糸コラーゲン繊維の手術糸と人工血管への応用を述べる。酵素溶解コラーゲンは、ほとんど分子単位にまで分散されているので、紡糸の原料として適している。細孔から凝固溶液中に押し出し、湿潤延伸をかけ乾燥する。乾燥後、目的に応じた架橋を導入する。無架橋の糸は水に浸漬すると著しく膨潤し強度が低下するので架橋の導入は不可欠である。糸の物性を向上させる意味ではクローム処理が一番適している。表3にクローム処

第6図 左：牛の眼から取り出された直後の角膜
中：酵素処理された後の角膜
右：ガンマー線照射された角膜

第7図 左：人工硝子体用コラーゲングル
中：透明コラーゲン膜
右：ガンマー線照射されたコラーゲンレンズ

第3表 紡糸コラーゲン繊維の性質⁸⁾

織度	デニール	1~ 5
強度	g/デニール	2~ 4
伸度	%	15~ 20
ヤング率	kg/mm ²	300~500
乾湿強度比	%	65~ 75
結節強度比	%	55~ 70

理した紡糸コラーゲン繊維の性質を示す^{19b)}。織度はコラーゲン濃度や細孔の大きさにより任意に変えられ、人毛程度 (60~70 デニール) のものも得られる。コラーゲン分子は直径 15 Å, 長さ 2800 Å の比較のかたい棒状の分子なので、僅かな流れの勾配や延伸によりよく配向し、この紡糸コラーゲン繊維の中でも長さ方向によく配向していることが、X線回折などから示されている。引張り強さは羊毛より強く、タンパク質繊維としては絹に次ぐ強さを示す。伸びが少ないのは、コラーゲンの剛体棒状の分子構造に基因するものである。クローム処理をかなりの程度おこなった糸は耐熱水性がよくなり、沸騰水中でも収縮しないものが得られるが、ホルマリン処理のものは収縮温度は低く、せいぜい 80°C 付近である。天然コラーゲン繊維は水中で 60°C で熱収縮し、もとの長さの 1/3~1/4 になるが、紡糸コラーゲン繊維も収縮率は大きい。架橋が余計導入されると収縮率はやや小さくなる。

この紡糸コラーゲン繊維は吸収性の手術糸として応用可能である。炎症反応や抗原性も少ないことが示されている⁷⁾。兎の角膜内にカットガット手術糸を植えると、血管が角膜内に進入し白濁を生ずることを前に述べたが、紡糸コラーゲン手術糸はこのような炎症反応は全く示さなかった¹¹⁾。コラーゲン手術糸の吸収速度は架橋の種類や程度に依存するので、架橋による改質処理が非常に重要になる。

紡糸コラーゲン繊維はいろいろなものに加工できる。たとえば、チューブ状に編んで人工血管として応用することも可能であろう。第8図に紡糸コラーゲン繊維から作られた人工血管を示す。

Chvapil ら²⁰⁾は第9図に示したような、ダクロンメッシュのチューブの内壁にコラーゲ

ンチューブを貼り、両者をゼラチンでのり付けし、コラーゲン壁に血液凝固阻止剤であるヘパリンを吸着させた人工血管を作った。これは強度をダクロンメッシュで発現させ、生体組織との親和性や医薬品の結合の役目をコラーゲンに果させている。動物テストで安全

第8図 コラーゲン紡糸繊維から作られた人工血管

第9図 Chvapil らが開発した人工血管の構造

性を確認した後、患者に応用し成功しているという。

コラーゲンは多くの医薬品を結合する能力をもっており、しかも、吸収速度が化学処理や紫外線、ガンマー線照射などで調節できることを考えると、酵素処理で得られる精製コラーゲンを医薬品の運搬体として利用し、コラーゲンの吸収と平行して薬の放出がおこなわれるような、ドラッグデリバリーシステムに応用可能であろう。またこの他にもスポンジ状として止血剤、火傷の被覆材または人工皮膚、癒着防止膜など多くの用途が考えられる。

6. ソーセージケーシングへの応用

可食性のソーセージケーシングとして、古くから羊または豚の腸が利用されてきた。これら天然腸は内皮粘膜が取り除かれ、腸壁の構造タンパク質であるコラーゲン繊維のチューブに精製され、ソーセージケーシングとして用いられる。腸壁のコラーゲン組織は、角膜の層構造程明瞭ではないが、層構造をとっており、縦横に走るコラーゲン繊維の網目を形成している。従って、コラーゲン繊維そのものはほとんど伸びがないにもかかわらず、天然腸は網目の変形による伸びと弾力を示す。天然腸が可食性ソーセージケーシングとして用いられたとき、ソーセージ製造工程での機械的強さの発現、ソーセージとしての外観のよさ、油で炒めたときのクッキング性のよ

さなどの長所は、天然腸のもつ網目構造によりもたらされられると思われる。

一方天然腸の短所もある。塩漬けされたひものような状態のものをよく洗滌し、ソーセージのペースト状の肉を詰められるように腸管内に棒を通し、くくる作業があり、合理化の障害になっている。動物の個体差を反映したサイズの不揃い、品質のむらなどもある。また、わが国の場合、需要の大部分を輸入に頼っているが、これもマイナスの要因であろう。

ソーセージ製造の合理化、サイズや品質の一定化、また好みに応じたサイズが得られるなどの点では、人造のコラーゲンケーシングは天然腸をしのぐものである。

ケーシングを肉と同時に食べるウィンナーおよびフランクフルトソーセージは、一般に、肉詰、スモーク、ボイルの工程で作られる。肉詰工程では毎分数百個のソーセージが機械的に作られ、ソーセージ間にねじりが加えられる。ケーシングはこれに耐える機械的強さがなければならぬ。ボイル工程では、コラーゲンは熱変性により収縮するが、ケーシングは破裂、切断を起こしてはならない。更にクッキングの時に割れや破裂を起こさず、食感がよいことがケーシングに要求される最低の性質である。

ソーセージケーシングに用いられる原料も牛皮コラーゲンである。新鮮な牛皮の真皮層部分を取り出し、飽和石灰水に浸漬し、コラーゲン以外のアルカリ可溶物質を取り除く。石灰処理の程度はケーシングの性質に影響を及ぼすので、よくコントロールされる必要がある。石灰処理後、酸で脱石灰され、更に酸に充分浸漬膨潤された後、皮組織を機械的に破壊し、個々の繊維にまでくずす。この解離されて酸膨潤したペースト状物を Crushed Fiber と呼ぶ。一方、人工臓器材料の項で述べたように精製した真皮層をプロクターゼで溶解する。この酵素溶解コラーゲン 20 部と Crushed Fiber 80 部の割合で混合し、透析膜の場合と同様に、管状の回転ノズルから飽和食塩水中に押し出して造形する。Crushed Fiber のみでは食塩水での凝固性が悪く、引続くその後の操作で変形したり、ピンホールがあき易かったり障害が生ずる。酵素溶解コラーゲンを 20 部混合することにより、これらの障害が取り除かれ操作が容易になると同時に、出来上がったケーシングの食感をよくする。また酵素溶解コラーゲンの割合が多くなるとケーシングの強度は低下してくる。凝固造形してから軽く操作がおこなわれ、水洗、グリセリン浴浸漬を経て、乾燥される。乾燥後蛇腹状に折りたたまれる。ノズル押し出しから蛇腹状に折りたたまれるまでの工程は連続的におこなわれる。軽く操作は出来上りケーシングの品質に大きく影響を与えるの

第10図 人造コラーゲンケーシング

で、非常に重要な工程である。緩し程度が強過ぎるとケーシングは固くなり、クッキングの時割れたり肉から剥れたりするようになり、また食感も悪くなる。一方緩し程度が弱過ぎると、ソーセージ製造工程での破損率が大きくなる。ソーセージ製造の立場からの要求と、料理する立場からの要求とが相反しているため、この両者を満足させる性質を付与する必要がある、コラーゲンケーシングの緩しは非常に微妙なものとなる。また、グリセリンはケーシングに一定の柔らかさを与えるための可塑剤であるが、この含量もケーシングの強度に影響を及ぼす。蛇腹状に折りたたまれたケーシングは、100°C以下の温度で数時間熱処理され、更に一定の湿度中に保たれた後包装される。熱処理の工程は、緩反応を完結させ、保存中に品質の変化が起こらないようにするために必要な工程である。グリセリンはこの熱処理時にコラーゲンと反応し、一種の緩し効果を示す。その反応様式は明らかでないが、多分グリセリンのOH基とコラーゲンのCOOH基との間のエステル結合と思われる。第10図に折りたたまれた状態の人造コラーゲンケーシングを示す。

以上述べた方法はわれわれがおこなっている方法であるが²¹⁾、西ドイツのナチュールケーシングや、チェコスロバキヤのクテシンケーシング、アメリカのデブロケーシングは、コラーゲン溶液は用いず、コラーゲン繊維のみを原料として用いている。Crushed Fiberの製造法は各ケーシングでまちまちであるが、前2者は比較的濃度の高いCrushed Fiberを用い、空気中に押し出して造形する方法を採用している。これは前2者が、可食性を前提としない直径40 mm以上の太物のケーシングの製造から出発したことにもよると思われる。またデブロケーシングは、アメリカではスモーク、ボイルの工程のない肉を詰めたままのフレッシュソーセージの市場が大きいので、このケーシングの製造からスタートした。このため硫酸溶液を凝固剤として用いる湿式法を採用している。可食を前提としない太いケーシングは食感やクッキングの問題がなく、フレッシュソーセージケーシングの場合はソーセージ製造時に要求される条件がゆるやかなため、可食を前提としスモークやボイルされるウィン

ナーやフランクフルト用ケーシングより、製造が容易である。とくに、わが国の場合、ウィンナーソーセージの市場が大部分であり、また食品の外観を重んじ味に敏感な国柄であるので、諸外国に較べて人造コラーゲンケーシングの普及には厳しい条件が重なっている。

上に述べた4つのケーシング以外に、更に2.3のコラーゲンケーシングが発売されており、また新しく数社が企業化の研究をおこなっている。これまで夥しい特許が公告され、各社まちまちの工夫がこらされているようであるが、そのポイントを要約してみると、造形原料であるコラーゲンペーストの製造法と緩し法に集中している。また最近、電着法によるコラーゲンケーシングの製造法が考案されている²²⁾。この方法では工作精度が厳しく要求され、高価である造形用ノズルや凝固浴を使用しないなど長所をもっているが、反面、造形速度がノズルを用いた場合程上げられないなどの短所もあるようである。

天然腸もっているソーセージケーシングとしての長所が人造コラーゲンケーシングに付与できれば、更に大きな発展が期待できる。

7. おわりに

コラーゲンが動物の体を支持する役割を果し、セルローズが植物の支持の役割を果し、両者の生体における役割は相通ずるところがある。応用面でも共通点を多くもっている。セルローズも溶解再生することにより膜や繊維として応用されている。その歴史はコラーゲンの場合より古い。コラーゲンの基礎研究がセルローズのそれと同様に発展したのに引き替え、応用面で立遅れたのは、原料がセルローズ程豊富でなく、食肉生産の副産物であり、皮革やゼラチン原料への供給ではばバランスがとれていたことにも一因があらうが、コラーゲン組織の分散や、溶解技術の確立が遅れたことが主な原因であらう。今後のコラーゲンの新しい応用にとり、セルローズの応用の技術や発想法は、参考に値するものと思われる。

文 献

- 1 a) *Treatise on Collagen*, Vol. 1, Vol. 2, part A, Vol. 2, part B, and Vol. 3, General Editor; G. N. Ramachandran, Academic Press London and New York (1967)
- b) *Chemistry and Molecular Biology of the Inter-cellular Matrix* Vol. 1 and Vol. 2, Editor: E. A. Balazs, Academic Press London and New York (1970)
- c) 高分子, コラーゲン特集, 11巻, 12号 (1962)
- d) 西原富雄; 蛋白質核酸酵素, 9巻, 1048 (1964)
- e) 野田春彦; 化学の領域, 19巻, 137 (1965)
- f) 西原富雄; 生体高分子 (今堀, 大沢編), 425頁

- (1965) 朝倉書店
- g) 船越浩海; 生物物理学講座, 5 卷, 生体高分子Ⅱ 39頁, 吉岡書店
- h) 御橋広真; 生物物理, 8 卷, 15頁 (1968)
- 2 a) T. Nishihara and T. Miyata; *Collagen Symposium*, 3, 84 (1962)
- b) 日本特許 37-14426, 37-13871, 44-11037
- c) 日本特許 43-25829, 43-27513
- 3 a) T. Fujii; *Hoppeseylers Zeit. Physiol. Chem.*, 350, 1257 (1969)
- b) 日本特許 46-15033
- 4) 渥美和彦; 人工臓器, 東京大学出版会 (1970)
- 5 a) F. O. Schmitt, L. Levine, M. P. Drake, A. L. Rubin, D. Pfahl and P. F. Davison; *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S.*, 51, 493 (1964)
- b) P. F. Davison, L. Levine, M. P. Drake, A. L. Rubin and S. Bump; *J. Exp. Med.*, 126, 331 (1967)
- 6) Y. Koaze, H. Goi, K. Ezawa, Y. Yamada and T. Hara; *Agr. Biol. Chem.*, 28, 216 (1964)
- 7) 高田真行; 日本人工臓器学会雑誌, 3, 169 (1966)
- 8) M. W. Dunn, K. H. Stenzel, L. E. Hopkins, M. J. Powers, A. L. Rubin and T. Miyata; *Ophthalm. Surgery*, 投稿中
- 9) 宮田暉夫; 日本皮革研究所報告, 印刷中
- 10) R. L. Ehrmann and G. O. Gey; *J. Natl. Cancer Instit.*, 16, 1375 (1956)
- 11) A. L. Rubin and K. H. Stenzel; personal communication.
- 12 a) E. E. Peacock, Jr., F. Seigler and P. W. Biggers; *Annals. Surgery*, 161, 238 (1965)
- b) O. Neuner; *Ost. Z. Stom.*, 57, 269 (1960)
- 13 a) A. L. Rubin, T. Miyata and K. H. Stenzel; *J. Macromol. Sci. Chem.*, A 3(1), 113 (1969)
- b) 宮田暉夫; 皮革化学, 15, 167 (1970)
- c) 宮田暉夫; 高分子, 19, 335 (1970)
- d) 宮田暉夫; 化学と生物, 9, 375 (1971)
- e) T. Miyata, T. Sohde, T. Suzuki, N. Nishizawa, I. Kohno, A. L. Rubin and K. H. Stenzel; *Collagen Symposium*, 8, 185 (1970)
- 14 a) V. C. Gott, J. D. Whiffen, D. E. Koepke, R. E. Daggett, W. C. Boake and W. P. Young; *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 10, 213 (1964)
- b) E. W. Merrill, E. W. Solzman, B. J. Lipps, Jr., E. R. Gilliland, W. G. Austen and J. Joison; *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 12, 139 (1966)
- 15) T. Miyata, T. Sohde, A. L. Rubin and K. H. Stenzel; *Biochim. Biophys. Acta* 229, 672 (1971)
- 16 a) K. H. Stenzel, M. W. Dunn, A. L. Rubin and T. Miyata; *Science*, 164, 1282 (1969)
- b) M. W. Dunn, K. H. Stenzel, A. L. Rubin and T. Miyata; *Arch. Ophthalm.*, 82, 840 (1969)
- 17 a) A. L. Rubin, R. R. Riggio, R. L. Nachman, G. H. Schwartz, T. Miyata and K. H. Stenzel; *Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 14, 169 (1968)
- b) K. H. Stenzel, J. F. Sullivan, T. Miyata and A. L. Rubin; *Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 15, 114 (1969)
- c) 宮田暉夫, 早出武, 鈴木達夫, A. L. Rubin, K. H. Stenzel; 第 7 回日本人工臓器学会, 岡山 (1969)
- d) 宮田暉夫, 鈴木達夫, 早出武, A. L. Rubin, K. H. Stenzel, 山吉亘; 第 6 回人工透析研究会, 東京 (1970)
- e) K. H. Stenzel, A. L. Rubin, W. Yamayoshi, T. Miyata, T. Suzuki, T. Sohde and M. Nishizawa; *The Meeting of Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, Chicago, (1971)
- f) 宮田暉夫; 化学と工業, 24, 205, 昭和 46 年
- 18 a) M. W. Dunn, D. Shafer, K. H. Stenzel, A. L. Rubin, T. Miyata, L. Hopkins and M. Powers; *The Meeting of the Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, Chicago, (1971)
- b) A. L. Rubin, M. J. Powers, L. E. Hopkins, K. H. Stenzel, M. W. Dunn and T. Miyata; *Nature*, 230, 120 (1971)
- 19 a) 谷口正勝; 高分子, 12, 608 (1963)
- b) 宇津尾明; 繊維学会誌, 3, 461 (1970)
- 20) M. Chvapil and M. Krajicek; *Modern Trends in Vascular Surgery* Vol. 1, Chap. 7, p. 120, edited by J. A. Gillespie, Butterworths.
- 21) 日本特許, 昭 41-20061, 昭 39-30891, 昭 39-20890, 昭 45-27378, 昭 45-33738, 昭 46-4145, 昭 46-6382
- 22) 日本特許, 43-740, 43-15774, 46-13636
(昭和 46 年 8 月 2 日受理)