高純度天然ゴムに関する研究

林 正 治*

1. は じ め に

天然ゴムラテックスはヘビア樹(*Hevea brasiliensis*)から採取された樹液(新鮮ラテックス)にアンモニア添加後、熟成期間を経てゴム分約60%に濃縮したものが使用されている。ラテックスは接着剤などの工業用品から、手袋、コンドーム、カテーテルなどの医療・家庭用品まで幅広く用いられている。この天然ゴムラテックスは主成分のゴム炭化水素のほかに、たんぱく質、脂質、炭水化物のような非ゴム成分を約6%含んでいる。

近年、天然ゴムラテックス製品(手袋やカテーテル)を使用している人に、呼吸困難やアナフィラキシーに陥る即時型アレルギー(以下、ラテックスアレルギーと呼ぶ)の症例が報告されるようになり、死亡事故も発生している^{1,2)}。欧米では、このアレルギーへの関心が高まり、その原因物質がラテックス中に含まれるたんぱく質であることが確認され、同定も行われている³⁾。

このようなアレルギー症状は、過去に天然ゴムラテックス製の手袋やカテーテルで手術を受けた患者やこれらの製品の接触頻度の多い医療従事者に集中している。米国では、約250万人がこのアレルギーに感作していることが報告されており、特に医療従事者では10~15%に相当する人が罹病しているといわれている⁴⁾。このような事態に、米国食品医薬品局(FDA)は1991年にラテックス製品、特に医療用品製造業者に対して水溶性たんぱく質を低減するように勧告を出している⁵⁾。また、1995年にラテックス製品のの水溶性たんぱく量を表示する基準を定めた⁶⁾。

今回紹介する研究は、東京農工大学の田中らが

天然ゴムの生合成機構とその強度特性の解明のための微細構造の研究の一環として天然ゴム特性に対する非ゴム成分の役割を調べることから始まった⁷⁾。この研究は天然ゴムラテックスからたんぱく質を除去することに発展し、この技術の実用化を目指すゴム新素材研究会が組織された。この研究会では、ラテックスアレルギーの解決に貢献できる素材を提供することを目的とし、低アレルギー性の高純度な脱たんぱく天然ゴムラテックス(以下、HDPNR-L)の開発に取り組み、その素材開発に成功したのでその概要について紹介する。

2. 高純度脱たんぱく天然ゴムラテックス

天然ゴムラテックスに含まれるたんぱく質は約200種あり、水溶性たんぱく質としてあるいはゴム粒子に結合した状態で存在している。

これらのたんぱく質を除去する試みは、1930年代から行われてきた。その手法はアルカリ処理やたんぱく質分解酵素を利用して行われているが、すべてがラテックスの調整を目的としたものではなく、処理後に酸で凝固して固形ゴムにしている⁸⁾。これらの方法では含有たんぱく質量(ケルダールN分)は充分低下したものはなく、高度に脱たんぱくした天然ゴムの調整は目的にされて

*花王株式会社 化学品研究所(〒640-8580 和歌山市湊1334)主任研究員。1985年、山口大学農学研究科農芸化学修士課程修了。同年、花王㈱入社、現在に至る。専門は界面科学、酵素科学、植物生理学。日本農芸化学会会員

図1 天然ゴム脱たんぱく化のモデル

いなかった。

田中らは、天然ゴム生合成の研究のなかで、天然ゴム中のたんぱく質を除去しても基本的な物性には変化がないことを報告している⁹⁾。これらたんぱく質は天然ゴムの分岐やゲルの形成に重要な役割をもち、天然ゴムに特有の高いグリーン強度をもたらすものと解釈されている。

本研究での検討は、たんぱく質分解酵素に界面活性剤を併用することにより、ラテックス中に含まれるたんぱく質を完全に分解除去することである。しかし、たんぱく質が除去されれば当然ラテックスは非常に不安定な状態になるため、脱たんぱく質処理には安定化剤が必要になってくる。我々が考えている脱たんぱく質化のモデルを図1に示すが、最適な界面活性剤がたんぱく質に代わってラテックスの安定化に貢献し、更に物性や加工特性に変化をもたらさないものにする。また、使用するたんぱく質分解酵素もアルカリに耐性で、かつ界面活性剤にも耐性でないとその作用は充分発揮できない。今回の酵素は、両性能を満たし、かつ工業的に生産することが可能な酵素(KP-3939, 花王製)である。

図2 HDPNR ラテックスの調整方法

本研究に先立ち、ノニオン系界面活性剤存在下で酵素処理を行い、たんぱく質を分解除去したノニオン系高純度天然ゴムラテックスを実験室レベルで製造することに成功した^{10,11)}。しかし、そのラテックスは機械的安定性が低く、化学的に安定で凝固剤では固化しにくいいため、手袋やカテーテル等の製造には一般的な凝着浸せき法を用いることができず、工業的用途は限定されていた。

3. アニオン系高純度天然ゴムラテックスの調整

高純度天然ゴムラテックスの調整は、ゴム分30%の天然ゴムラテックスにアニオン系界面活性剤存在下でたんぱく質分解酵素を処理し、所定の時間分解反応を行う。分解反応終了後、遠心分離法又は膜分離法でその分解物を除去し、高純度天然ゴムラテックス(HDPNR-L)を得た(図2)。

ノニオン系界面活性剤に比べアニオン系界面活性剤存在下での処理により安定なHDPNR-Lが調整できるようになったが、すべてのアニオン系界面活性剤で最適なHDPNR-Lを得られるのではなく、生産性が高く、物性面でも機械的安定性の高い加工特性の良好なラテックスを得るために

は、最適な界面活性剤を選択することが重要なポイントの一つである。

4. 高純度天然ゴムラテックスの特性とフィルム物性

遠心分離法で得られた HDPNR-L(C) からキャストイングフィルムおよび加硫ゴムフィルムを調整し¹²⁾、種々の物性を未処理の高アンモニアラテックス (HA-L) から調整したフィルムと比較した¹²⁾。

キャストイングフィルムの窒素含量は 0.02% 以下でありほぼ完全にたんぱく質を除去することができた。また、ゲル分が大幅に低下し、色や匂いの点でも改善された。また、ゲル分の低下にも関わらずグリーン強度に変化がみられず非常に興味深い特性を示している¹²⁾。

加硫ゴムフィルムでは原料がもつ引張強度はほとんど維持されており、高温でのエージング保存によってもその強度の低下は少なかった。その他の物性として、吸水性が低くなって耐水性が向上し、モジュラスの低下によるソフト感が増し、ヒステリシスロスが向上していた¹²⁾。

固形ゴム物性としては、貯蔵硬化がほとんどなくなっていた。また、ペールクレープや RSS-3 に比べムーニー粘度が低くなり、速い加硫特性を有しており、良好な加工特性をもつことが示唆された¹²⁾。

5. 高純度天然ゴムの生化学的的特性

脱たんぱく天然ゴムは、天然ゴムラテックスに界面活性剤存在下でたんぱく質分解酵素を処理して調整する。これによって分解されたたんぱく質とゴム中にわずかに残存するたんぱく質とそのアレルギーポテンシャルを確認する必要がある。遠心分離時に発生するしょう液中のたんぱく質量とその分子量分布および HDPNR-L(C) フィルム

の溶出たんぱく量を測定し、更に HDPNR-L のアレルギー感作性についてモルモットを用いた動物実験での検証を進めた¹³⁾。

1) ラテックスに含まれるたんぱく質の挙動

遠心分離で得られたしょう液中のたんぱく量を脱たんぱく処理の有無により比較した。しょう液中の総たんぱく量は脱たんぱく処理により約 2 倍量増加していた。また、遠心分離で得られたしょう液中のたんぱく質の分子量をゲルろ過で測定した結果、脱たんぱく質処理により 90% 以上のたんぱく質が分子量 1 万以下であることが示され、ゴム粒子から効率的にたんぱく質を分解除去していることを示している (表 1)。

また、キャストイングフィルムの溶出たんぱく量は HDPNR-L フィルムが HA-L フィルムのものに比べ約 1/50 になっており、著しい溶出たんぱく質の低減効果を示していた (表 1)。

2) 高純度天然ゴムラテックスのアレルギーポテンシャル

ラテックスアレルギーに対する HDPNR-L の安全性については、アレルギー患者での使用が最終的な判断基準になるが、その試験の前段階としては実験動物を用いての検討が必要である。モルモットによる動物試験は図 3 に示した PCA 反応 (受け身皮膚アナフィラキシー反応) で評価した。感作試料として HA-L と HDPNR-L(C) をリン酸緩衝液によって pH を中性付近に調整したものをを用いた。感作は試料を皮内投与することによって実施した。その結果、HA-L では感作率が 80% を示したのに対し、HDPNR-L では感作性が認められなかった (表 2-1)。

この感作動物の血清中の抗体価を ELISA 法で測定した。HA-L で感作されたモルモットの血清中には抗体産生が認められたが、HDPNR-L を投与されたモルモットの血清には抗体産生が認められなかった (表 2-2)。

表 1 ラテックス中のたんぱく質の挙動

	しょう液 ¹⁾		キャストイングフィルム		
	たんぱく量 ($\mu\text{g/ml}$)	分子量分布 (10^4 以下)	窒素含量 (%)	溶出たんぱく量 $\mu\text{g/ml}$	$\mu\text{g/g}$ ゴム
HDPNR	4507	90.9%	0.010	1.39	14.1
HA	2702	68.9%	0.306	75.0	660.4

1) しょう液は HDPNR-L 調整時の 1 回目のしょう液。HA は無処理で遠心分離を実施。

表2 モルモットによるアレルギー性評価

表2-1 PCA 反応による感作性

感作試料	陽 性 率(%) 血しょう希釈倍率		
	1	10	20
NR ラテックス	80	80	80
HDPNR ラテックス	0	0	0
溶媒対照	0	0	0

表2-2 ELISA 法による抗体価

感作試料	抗体価	陽性率(%)
NR ラテックス	10 ³ ~10 ⁵	100
HDPNR ラテックス	ND	0
溶媒対照	ND	0

表2-3 NR ラテックス感作血しょうを用いた交差反応性

感作血しょう	NR ラテックス感作血しょう 血しょう希釈倍数		
	1	10	20
惹起抗原			
NR ゴム抽出液	+	+	+
HDPNR 抽出液	-	-	-
溶媒対照	-	-	-

この動物試験から、少なくともラテックスアレルギーに対する感作性は通常のラテックスに比べ極めて低くなっていることが推定できる。更に、HA-L で感作された動物の血清を用いて HA-L および HDPNR-L(C) のキャスティングフィルム抽出液(水溶性たんぱく質)で交差反応性を調べた。HA-L からの抽出液とは明らかに抗原抗体反応が認められ、抗原たんぱく質の存在が確認できたが、HDPNR-L からの抽出液では抗体との反応性が認められなかった(表2-3)。アレルゲンたんぱく質が十分に分解除去され、問題となるアレルゲンたんぱく質が充分低減されていることが示された。

6. 微粒子ゴム成分の効果

遠心分離法で得られた HDPNR-L は、ひと山の粒径分布を示したが、膜分離法で得られた HDPNR-L(M) では微粒子を含むふた山の粒径分布を示し、微粒子ピークの平均粒径は 0.5 μm 以下であった。また、遠心分離法で得られたしょう液を膜分離することにより 0.1 μm の微粒子画

表3 HDPNR-L の機械的安定性(MST)と微粒子ゴムの添加効果

HDPNR-L(M) Serum 添加量 (phr)	MST (sec)
HDPNR-L(C)	473
	593
	705
HDPNR-L(M)	968
HA ラテックス	1567

図3 動物試験のアウトラインと感作方法(PCA 反応)

分を得ることができた¹⁴⁾。

膜分離法で得られた HDPNR-L(M) の機械的安定性は、遠心分離法で得られた HDPNR-L(C) に比べ高くなり(表3)、この差は微粒子の存在であり、この微粒子が機械的安定性に寄与しているものと推定された。また、HDPNR-L(C) フィルムは、通常の天然ゴムラテックスに比べ不均一で亀裂を生じやすくなっている。これは、微細なゴム粒子を失っているためと考えられる。

これらを確認するため図2に示すようにHDPNR-L(C)調整時に遠心分離法で除去されたしょう液中の微粒子ゴム分を膜分離法で回収し、その画分(以下HDPNR-L(M)serum)の機械的安定性および製膜性に対する改善効果を検討した。その結果、HDPNR-L(C)にHDPNR-L(M)serumを加えることにより機械的安定性が向上し、また配合量が増加するにしたがいその安定性が向上することが認められた(表3)。

フィルムの製膜性については、微粒子成分の添加効果から調べた。HDPNR-L(C)はフィルム形成の際にき裂や不均一部分を生じやすい。このラテックスにHDPNR-L(M)serumを配合することによりフィルムが均一化し、き裂の発生がなくなり、製膜性を改善する働きを示すことが認められた。NBRラテックスではこの効果は認められなかったが、クロロプレンラテックスのフィルム形成には、この微粒子成分の添加は有効であることが認められている。ただし、この効果は微粒子成分の脱たんぱく処理の有無に拘わらず認められている¹⁴⁾。

7. お わ り に

今回紹介した高純度天然ゴムラテックスは1996年からマレーシアのパイロットプラントで製造試験が開始され、翌年より安定的に製造できるようになり、HDPNR-Lを用いた手袋の製造試験も始められた。1997年に手袋製品としては初めて歯科用手袋が上市されている。一方、HDPNR-L製コンドームは1995年に上市された。

今後、ラテックスアレルギー問題は、欧米と同じように日本においてもその実態調査が進められ、対応策を考えていく必要性が生じるであろう。最近、FDAが溶出たんぱく量が50 $\mu\text{g/g}$ ゴム以下のものを低たんぱく質手袋と表示することを許可しているが、低アレルギー製品として表示するためには更に臨床試験でその安全性を確認し

ていく必要がある。

今後の医療においては、手袋は医療従事者や患者への感染を防ぐうえで重要な医療用具となる。ラテックス製手袋はそのフィット感や強度のうで非常に使いやすい素材であるが、アレルギー感作が懸念されており、欧米では使用を見合わせる傾向にある。しかし、ラテックス手袋の使い良さは関係者に浸透しており、こういった環境を改善するうえで、今回の高純度天然ゴムラテックスが、重要な役割を果たせるものと確信しており、更に安定的に安価で安心できる製品を提供できるよう寄与していきたい。

最後に、ゴム新素材研究会の共同研究者各位に謝辞を述べるとともに、日本ゴム協会から優秀論文賞を授与していただいたことに対して心より感謝する。

文 献

- 1) 中村晃忠：生体材料 **9**, 303(1991)
- 2) 生野麻美子他：第17回日本接触皮膚炎学術大会資料、東京(1992)
- 3) Kekwick, R.G.O.: Proc. 1st. Int. Conf. on Latex Protein Allergy: The Latest Position, Amsterdam, 21, (1993)
- 4) Slater, J.E.: *ibid*, 7 (1993)
- 5) FDA: Medical Bulletin, 2, 2 (1991)
- 6) FDA: Letter to Medical Glove. Manufactures, May 1, (1995)
- 7) 田中康之：高分子加工, **43**, 482(1994)
- 8) Chin, P.S., Change, W.P., Lau, C.M., Pong, K.S.: 天然ゴム, **6**, 274(1974)
- 9) 田中康之他：高分子, **46**, 816(1997)
- 10) Eng, A.H., Tanaka, Y., Gan, S.N.: *J. Nat. Rubb. Res.*, **7**, 152(1992)
- 11) Ichikawa, N, Eng, A.H., Tanaka, Y.: Proc. Int. Rubb. Tech. Conf., Kuala Lumpur, 101(1993)
- 12) Sakaki, T. et al.: Proc. Int. Rubb. Conf., Kobe, 243(1995)
- 13) Hayashi, M. et al.: *ibid*, 251(1995)
- 14) Shibata, K. et al.: *ibid*, 247(1995)

*

*

*

*

*