創傷被覆材としてのサクランハイドロゲルの有効利用

本山敬一,^a 東 大志,^a 岡島麻衣子,^b 金子達雄,^b 有馬英俊^{*,a,c}

Potential Use of Sacran Hydrogels as Wound Dressing Material

Keiichi Motoyama,^a Taishi Higashi,^a Maiko K. Okajima,^b Tatsuo Kaneko,^b and Hidetoshi Arima^{*,a,c}

^aDepartment of Physical Pharmaceutics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University; 5-1 Oe-honmachi, Chuo-ku, Kumamoto 862-0973, Japan; ^bJapan Advanced Institute of Science and Technology (JAIST); 1-1 Asahidai, Nomi, Ishikawa 923-1292, Japan; and ^cProgram for Leading Graduate Schools “HIGO (Health Life Science: Interdisciplinary and Glocal Oriented) Program”, Kumamoto University; 5-1 Oe-honmachi, Chuo-ku, Kumamoto 862-0973, Japan.

(Received August 27, 2017)

A wound dressing is one of the essential approaches to prevent further harm to cutaneous wounds as well as to promote wound healing. Therefore, to achieve ideal wound healing, the development of advanced dressing materials is necessary. Sacran, a novel megamolecular polysaccharide derived from the cyanobacterium *Aphanothece sacrum*, has a very high molecular weight that exceeds 10⁷ g/mol and water-superabsorbent capacity. Recently, we demonstrated that sacran exerts anti-inflammatory activity by ameliorating the skin barrier function in patients with atopic dermatitis. In this study, to develop and characterize sacran hydrogel films (Sac-HGFs) for wound dressing materials, we prepared a physically crosslinked-Sac-HGFs, and evaluated their physicochemical properties, cytotoxicity, skin hydration and wound healing ability. Additionally, we encapsulated curcumin, as a model drug for wound healing, into Sac-HGFs by complexation with 2-hydroxypropyl- γ -cyclodextrin (HP- γ -CyD), and investigated their potential for wound dressing application. Sac-HGF has potentially good properties for wound dressing application, due to not only the moisturizing effect but also the anti-inflammatory effect of sacran. Additionally, Sac-HGF has the potential to deliver water soluble complex of curcumin/HP- γ -CyD at the wound site and thereby promote wound healing. These findings may be useful information for preparation of wound dressing materials using sacran, CyDs and drugs.

Key words—sacran; hydrogel film; wound dressing; wound healing; curcumin; cyclodextrin

1. はじめに

近年、皮膚創傷に対して、①消毒をしない、②乾かさない、③水道水でよく洗うという3原則を基に行う治療法が普及している。かつて、創傷は乾燥させれば治る、また消毒すれば細菌感染が防げるといった認識が広がっていた。しかし、創傷の治療は湿潤を保つ方が治癒は速く、また消毒液によって細菌だけでなく、創傷部の細胞も殺してしまうことから、近年では創傷部位を保湿する湿潤療法が主流で

ある。皮膚を簡便に湿潤させる方法として、創傷部をラップで覆うラップ療法がある。しかしながら、この方法は創傷部を完全に閉塞することができず、重篤な感染症や治癒の遅延が起こった症例が報告されている。そこで、ハイドロゲルやポリウレタンフィルム、ハイドロコロイド、ハイドロポリマーなど、ドレッシング材と呼ばれる創傷部の被覆材が用いられている。ドレッシング材に求められる性質としては、ゲルやフィルムを形成できること、保水力が高いこと、生体適合性に優れること、生分解性を有することなどがあり、現在アルギン酸ナトリウムという多糖を用いたハイドロゲルなどが利用されている。¹⁾

一方、硫酸化多糖体が抗炎症作用などの様々な生理活性を有することが多数報告されている。^{2,3)} 代表的な硫酸化多糖には、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸やデルマタン硫酸などが知られている。例え

^a熊本大学大学院生命科学研究部製剤設計学分野 (〒862-0973 熊本市中央区大江本町 5-1)、^b北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科 (〒923-1292 石川県能美市旭台 1-1)、^c熊本大学リーディング大学院 HIGO プログラム (〒862-0973 熊本市中央区大江本町 5-1)

*e-mail: arimah@gpo.kumamoto-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第137年会シンポジウム S16 で発表した内容を中心に記述したものである。

Fig. 1. Preparation of Sacran-hydrogel Film (Sac-HGF)

ば、ヒアルロン酸は、変形性膝関節症、関節リウマチやシェーグレン症候群などの炎症性疾患に対して用いられている。また、コンドロイチン硫酸やデルマトン硫酸も変形性関節炎に対して抗炎症効果を有することが知られている。

サクランは、日本固有の食用藍藻であるスイゼンジノリ（学名：*Aphanothece sacrum*）から抽出された、平均分子量 1000 万以上、分子鎖長 10 μm 以上の超高分子多糖体である。⁴⁾ サクランの特徴として構成糖に硫酸化ムラミン酸を有する硫酸化多糖体であること、自重の 6100 倍の水を吸収でき、代表的な保湿剤であるヒアルロン酸よりも 5 倍以上の保水力を有すること、さらに、ゲル形成能やフィルム形成能があること、などが挙げられる。近年では、サクランには抗炎症効果があり、アトピー性皮膚炎の炎症症状を緩和することが示唆されている。⁵⁻⁸⁾ 既に化粧品への応用も拡がっており、サクランの皮膚に対する機能性が明らかになりつつある。そこで本研究では、サクランが創傷面を被覆するドレッシング材として有用であるか否かを検討した。⁹⁻¹¹⁾ 以下に、得られた知見を概説する。

2. 皮膚創傷モデルに対するサクランハイドロゲルフィルムの抗炎症効果

前述したように、サクランはゲル形成能やフィルム形成能を有しており、保水力はヒアルロン酸の 5 倍以上と非常に優れている。さらに、食用藍藻由来の多糖であることから生体適合性が高いものと考えられる。そこでわれわれは、サクランのドレッシング材としての可能性を検討した。サクランをハイドロゲル化する方法として、陽イオンの金属原子で陰イオンのサクラン分子を架橋する方法と、架橋剤を用いずにサクラン水溶液を高温で乾燥させてフィルム化させた後に水分を与える方法が挙げられる。¹²⁾ 後者のゲルは、金属イオンを用いないことから前者のゲルと比較してより生体適合性に優れることが予想される。そこでわれわれは、サクランをフィルム

Fig. 2. Wound Healing Ability of Sac-HGF in Mice

化した後者のゲル（サクランハイドロゲルフィルム；Sac-HGF, Fig. 1）を用いて皮膚創傷モデルに対する治癒促進効果を検討した。⁹⁾

創傷面に湿潤環境を提供することは、創傷治癒において極めて重要である。そこで、Sac-HGF をヘアレスマウスの皮膚に貼付後の皮膚水分量をモイスチャーチェッカー（MY-808S）を用いて測定した。その結果、Sac-HGF は塗布後 1 時間でマウスの皮膚水分量を未処理群よりも約 2 倍上昇させることが示唆され、その効果は少なくとも 12 時間は持続した。⁹⁾ これらの結果より、Sac-HGF を皮膚に貼付することにより、湿潤環境を提供可能であることが示唆された。

さらに、Sac-HGF の創傷治癒促進効果について、ヘアレスマウスを用いて検討した。実験は、生検パンチを用いてマウスの背部皮膚に一定サイズの創傷を形成させた後、Sac-HGF を貼付して、創傷部の面積を経時的に測定した。その結果、Sac-HGF を貼付したマウスの創傷面積は、何も貼付していない場合と比較して小さく、治癒速度が速いことが示唆された（Fig. 2）。これらの結果より、Sac-HGF は創傷部の湿潤環境を保つことで、治癒を促進したものと考えられる。また、これまでの検討から、サクランは皮膚において抗炎症効果を示すため、創傷部における過度の炎症を抑制することも治癒促進に関与しているものと推察される。⁹⁾

Fig. 3. Proposed Wound Healing Ability of Sac-HGF Containing Curcumin/HP- γ -CyD Complex

3. 皮膚創傷モデルに対するクルクミン/HP- γ -CyD 複合体含有 Sac-HGF の抗炎症効果

クルクミンはカレーのスパイスでもあるターメリックの黄色色素で、ポリフェノールの一種である。生理作用として抗腫瘍作用や抗酸化作用、抗アミロイド作用、抗炎症作用、創傷治癒促進作用などが知られている。しかしながら、クルクミンは溶解度が低いため、皮膚に塗布しても十分な効果が得られない。一方、環状オリゴ糖であるシクロデキストリン (cyclodextrin; CyD) は、分子内の疎水性空洞に薬物を取り込み、包接複合体を形成することにより薬物の溶解性を改善することから、医薬分野において可溶化剤として汎用されている。中でも、ヒドロキシプロピル- γ -シクロデキストリン (HP- γ -CyD) はクルクミンを効率よく可溶化することが報告されている。¹³⁾ そこでわれわれは、クルクミン/HP- γ -CyD 複合体を Sac-HGF に封入させることにより、協調的な創傷治癒促進効果を示す HGF を構築した。¹⁰⁾

クルクミン/HP- γ -CyD 複合体は、キャストイング法により Sac-HGF に均一に封入可能であった。¹⁰⁾ 一方、クルクミン単独及びクルクミンと HP- γ -CyD の物理的混合物は、キャストイング後、クルクミンが析出したために、Sac-HGF に均一に封入させることは困難であった。また、クルクミン/HP- γ -CyD 複合体封入 Sac-HGF は、クルクミン溶液中で徐々にクルクミンを放出し、抗酸化効果を発揮することが示された。¹⁰⁾ さらに、クルクミン/HP- γ -CyD 複合体封入 Sac-HGF は、ヘアレスマウ

スの皮膚損傷モデルに対して、クルクミン封入 Sac-HGF 及びクルクミン/HP- γ -CyD 物理的混合物封入 Sac-HGF よりも優れた創傷治癒促進効果を有することが示唆された。¹⁰⁾ これらの結果より、クルクミン/HP- γ -CyD 複合体封入 Sac-HGF は、創傷部位を被覆することにより、①細菌感染の防御、②湿潤環境の維持、③サクランの抗炎症効果、④クルクミンの抗炎症・抗酸化効果、などにより創傷治癒を促進したものと考えられる (Fig. 3)。

4. おわりに

サ克蘭には、日本固有の藍藻スイゼンジノリが秘めた驚異的な機能があり、その特性には魅了されるばかりである。本稿では、サ克蘭をドレッシング材に応用し、その創傷治癒促進効果を中心に概説した。誌面の都合上、記載しなかったが、われわれの研究室ではサ克蘭の製剤素材としての有用性評価や再生医療への応用に関する研究も行っている。今後もサ克蘭の医薬への応用に関する研究を通じて、世界の健康医療に貢献したい。

謝辞 サ克蘭をご提供頂いたグリーンサイエンス・マテリアル株式会社に御礼の意を表します。

利益相反 有馬英俊 (株式会社 CyDing の役員、グリーンサイエンス・マテリアル株式会社との共同研究を実施)。

REFERENCES

- 1) Shojaee M., Navaee F., Jalili-Firoozinezhad

- S., Faturechi R., Majidi M., Bonakdar S., *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, **48**, 158–164 (2015).
- 2) Hoare T. R., Kohane D. S., *Polymer*, **49**, 1993–2007 (2008).
- 3) Zhao W., Jin X., Cong Y., Liu Y., Fu J., *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **88**, 327–339 (2013).
- 4) Okajima M. K., Bamba T., Kaneso Y., Hirata K., Fukusaki E., Kajiyama S., Kaneko T., *Macromolecules*, **41**, 4061–4064 (2008).
- 5) Fukushima S., Motoyama K., Tanida Y., Higashi T., Ishitsuka Y., Kondo Y., Irie T., Tanaka T., Ihn H., Arima H., *J. Cosm. Derm. Sci. Appl.*, **6**, 9–18 (2016).
- 6) Motoyama K., Tanida Y., Hata K., Hayashi T., Abu Hashim I. I., Higashi T., Ishitsuka Y., Kondo Y., Irie T., Kaneko S., Arima H., *Biol. Pharm. Bull.*, **39**, 1172–1178 (2016).
- 7) Motoyama K., Tanida Y., Hata K., Hayashi T., Higashi T., Ishitsuka Y., Kondo Y., Irie T., Kaneko S., Arima H., *Chem. Pharm. Bull.*, **62**, 636–641 (2014).
- 8) Ngatu N. R., Okajima M. K., Yokogawa M., Hirota R., Eitoku M., Muzembo B. A., Dumavibhat N., Takaishi M., Sano S., Kaneko T., Tanaka T., Nakamura H., Suganuma N., *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, **108**, 117–122 (2012).
- 9) Wathoni N., Motoyama K., Higashi T., Okajima M., Kaneko T., Arima H., *Int. J. Biol. Macromol.*, **89**, 465–470 (2016).
- 10) Wathoni N., Motoyama K., Higashi T., Okajima M., Kaneko T., Arima H., *Int. J. Biol. Macromol.*, **98**, 268–276 (2017).
- 11) Wathoni N., Motoyama K., Higashi T., Okajima M., Kaneko T., Arima H., *Int. J. Biol. Macromol.*, **94**, 181–186 (2017).
- 12) Okajima M. K., Mishima R., Amornwachirabodee K., Mitsumata T., Okeyoshi K., Kaneko T., *RSC Adv.*, **5**, 86723–86729 (2015).
- 13) Tønnesen H. H., Másson M., Loftsson T., *Int. J. Pharm.*, **244**, 127–135 (2002).