

令和元年6月11日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10664

研究課題名(和文)ゼラチンシートの開発

研究課題名(英文)Experimental use of gelatin sealing sheet

研究代表者

谷口 繁樹 (Taniguchi, Shigeki)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：90183467

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ゼラチンシートの止血効果と癒着防止効果について既存の製剤であるフィブリン製剤と比較して検討した。ゼラチンシートはフィブリン製剤と同等の止血効果を確認し、フィブリン製剤と比較して非劣性の止血効果を認めた。癒着防止効果については癒着面積と癒着強度をスコア化して比較した。癒着面積に関しては、ゼラチンシートはフィブリン製剤と比較して有意に癒着面積が狭かった。癒着強度に関しては、ゼラチンシートはフィブリン製剤と比較して有意に癒着強度が弱かった。また癒着の評価を組織学的に検討したが、単位面積当たりの炎症細胞の数に関しては、ゼラチンシートはフィブリン製剤と比較して有意に少なかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

外科手術、特に心臓血管外科領域の手術は止血や癒着に難渋する症例に多く直面する。現在、止血製剤には血漿分画製剤が多く使用され、有効な癒着防止製剤はなく、様々な多くの問題がある。現在の製剤は高価であること、感染症のリスクがあること、効果が弱いことなどがあげられる。そういったことを一気に解決しうる製剤が本製剤、ゼラチンシートである。本研究結果で示した止血効果、癒着防止効果が臨床応用されれば、手術成績の向上に寄与し社会的意義は高いと考える。

研究成果の概要(英文)：OBJECTIVE: To examine the feasibility of gelatin sealing sheets using a canine arterial hemorrhage model. METHODS: For the hemostatic and anti-adhesion efficacy investigations, femoral arteries of dogs were pricked with syringe needle to make a small hole and a gelatin (i.e. experimental group) or fibrin glue sealing sheet (i.e. control group) was applied on the hole to stop bleeding. After discontinuation of the bleeding, the skin incisions were closed and re-examined 4 weeks postoperatively. RESULTS: In all cases of gelatin and fibrin glue sealing sheets, bleeding from the needle hole on canine femoral arteries was effectively stopped. Postoperative adhesions and inflammation at the site in the experimental group were significantly less than those in the control group. CONCLUSIONS: The gelatin sealing sheet was found to be as effective as the fibrin glue sealing sheet as a surgical hemostatic agent, and more effective in preventing postoperative adhesions.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：ゼラチン 止血効果 癒着効果

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 心臓血管外科手術においては止血目的にフィブリン製剤が広く使用されているが、様々な問題がある。フィブリン製剤は血漿分画製剤であり高価で感染の懸念があり、接着力が弱いこともあげられる。ゼラチンはもともと医療材料に応用されており、確かな安全性が立証されている。今回、我々はゼラチンのもつ弾力性と体内での吸収性に注目した。ゼラチンが組織に接着すれば十分な止血効果を発揮することが考えられる。また創傷治癒の過程で生じる癒着に関してはゼラチンが創傷治癒の過程で周囲組織とのバリアとして機能し、その後体内に吸収されれば癒着防止につながると考えた。

(2) 本研究におけるゼラチンシートはフィルム層とフリーズドライさせた層の2層構造になっている。止血効果と癒着防止効果の可能性をもち、外科手術への臨床応用に向けた開発を行っている。今まで *in vitro* での実験や小動物での実験では既存の製剤と比較して止血効果と癒着防止効果を証明し、報告してきた。今回の検討ではビーグル犬での実験であり、今後の外科手術の発展にむけて、止血製剤、癒着防止製剤のさらなる品質向上に向けたものと期待している。

2. 研究の目的

今日、心臓血管外科手術では止血目的にフィブリン製剤が広く使用されているが、接着力が弱く、また癒着防止効果は認められない。周囲組織との癒着は再手術における危険度に大きく関わる問題である。そこで我々は、安全性が実証されている天然高分子であるゼラチンから、生体組織に強く接着して高い止血性を示し、尚且つ癒着防止効果をも示すゼラチンシートを開発した。本研究では、心臓血管外科領域におけるゼラチンシートの止血剤および癒着防止剤としての有用性について組織学的評価を含めて検討することが目的である。

3. 研究の方法

(1) ビーグル犬(約10kg)にペントバルビタール(25mg/kg)を静脈内投与し全身麻酔をかける。気管挿管を行い人工呼吸器で管理する。その後、鼠径部をイソジンで消毒後、皮膚切開を行う。大腿動脈(約4mm)を露出する。針穴を作成する目的では約4mm程度の血管の露出が必要となるため、これ以下の末梢血管での実験は困難である。ヘパリンを静脈内投与(80単位/kg)し、全身ヘパリン化する。23ゲージ針で針穴を作成し、出血点に本製剤とフィブリン製剤(フィブリンシート)を5分間、圧迫止血する。針穴部からの出血がなければ止血できたと判断し、出血を認めれば止血できなかったと判断する。その後、創部を閉鎖し自発呼吸が十分に再開したところで抜管する。

(2) ビーグル犬に再度全身麻酔をかける。再度大腿動脈を露出する。その癒着強度を評価し、吻合部を摘出する。癒着の評価の方法はZuhlkeらの方法によって癒着強度、癒着面積を

5段階に分けて評価する(図1)。術後1、2、4、6週目にそれぞれ癒着を評価するとともに、本製剤がどの時期に吸収されているかを評価する。術後2、4、6週目の吻合部をパラホルムアルデヒドで固定する。摘出した大腿動脈とその周囲組織は10%ホルマリン液にて固定し、HE染色を行う。全周を観察し、外弾性板から1000 μ m以内の領域で炎症反応の強い各6視野を400倍で検鏡し、単位面積当たりの炎症細胞の数を比較する。両群間の統計学的検討にはT検定およびMann-WhitneyのU検定を用いる。

The adhesion area.

- 0: No adhesions.
- 1: Adhesions with 1–25% of the surgical field area.
- 2: Adhesions with 26–50% of the surgical field area.
- 3: Adhesions with 51–75% of the surgical field area.
- 4: Adhesions with 76–100% of the surgical field area.

The adhesion strength.

- 0: No adhesions.
- 1: Filmy, fibrin adhesions, easily removed by blunt dissection (mild).
- 2: Fibrous adhesions, easily dissected (moderate).
- 3: Thick fibrous adhesions, dissectable (severe).
- 4: Thick fibrous adhesions, not dissectable without damage to the adherent tissue (very severe).

図1 癒着の評価方法

4. 研究成果

(1) ゼラチンシート、フィブリン製剤ともに全例で止血を認めた。このことにより同等の止血効果を確認し、フィブリン製剤と比較してゼラチンシートは非劣性の止血効果を確認した。

(2) 術後4週目の標本をフィブリンシート、ゼラチンシートについてそれぞれ図2で示す。術後4週目において肉眼的にフィブリンシートでは強固な癒着を認めたのに対してゼラチンシートにおいてはほとんど癒着を認めなかった。術後4週目でフィブリンシートは吸収されており、ゼラチンシートにおいても吸収されていた。癒着防止効果については癒着面積と癒着強度をスコア化して比較した。癒着面積に関しては、ゼラチンシートは 1.5 ± 0.5 、フィブリン製剤は 2.9 ± 0.6 とゼラチンシートにおいて有意に癒着面積が狭かった($p < 0.01$)。癒着強度に関

してゼラチンシートは 1.1 ± 0.3 ,
 フィブリン製剤は 3.1 ± 1.0 とゼ
 ラチンシートは有意に癒着強度が
 弱かった ($p < 0.01$)。また癒着の評
 価を組織学的に検討したが(図2)、
 単位面積当たりの炎症細胞の数は
 ゼラチンシート 130 ± 85 個、フィ
 ブリン製剤 718 ± 283 個とゼラ
 チンシートは有意に少なかった
 ($p < 0.05$)。

我々が開発したゼラチンシート
 はフィブリン製剤と比較して同等
 の止血効果を示し、有意に癒着防止
 効果が強いことを示し、組織学的に
 も炎症反応の抑制作用があること
 を示した。これまでの *in vitro* の
 実験や小動物での実験と同様に本
 研究でもゼラチンシートの止血剤

および癒着防止剤としての可能性を証明し、臨床応用しうる可能性が示唆された。

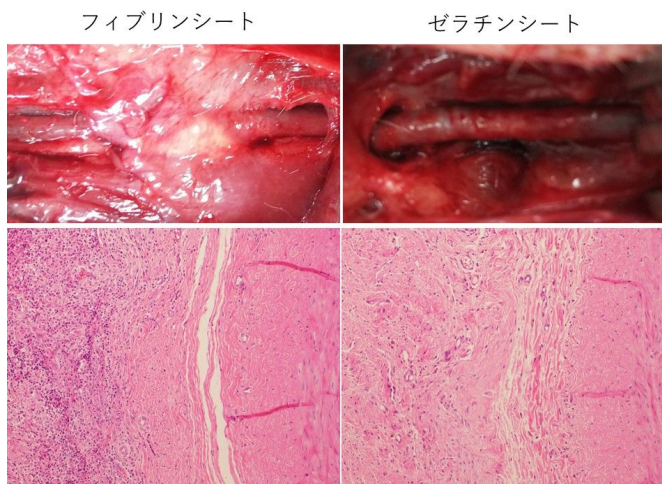


図2 癒着防止効果の検討

<引用文献>

Hu Y, Yamashita K, Tabayashi N, Abe T, Hayata Y, Hirose T, Hiraga S, Tojo T, Suzuki S, Ikada Y, Taniguchi S. Gelatin sealing sheet for arterial hemostasis and anti-adhesion in vascular surgery: a dog model study. *Biomed Mater Eng.* 2015; 25(2): 157-68.

Yamashita K, Suzuki S, Tabayashi N, Abe T, Hayata Y, Hirose T, Hiraga S, Niwa K, Fukuba R, Takeda M, Ikada Y, Taniguchi S. Experimental use of crosslinked gelatin glue for arterial hemostasis in cardiovascular surgery. *Biomed Mater Eng.* 2015; 25(4): 361-70.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

丹羽恒介、山下慶悟、多林伸起、阿部毅寿、早田義宏、廣瀬友亮、平賀 俊、福場遼平、武村潤一、西川浩史、横山晋也、鹿庭善夫、田村 大和、畠山金太、谷口繁樹、ゼラチンシートの止血効果および癒着防止効果の組織学的評価を含めた検討、第49回日本心臓血管外科学会学術総会、2019

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：山下 慶悟

ローマ字氏名：YAMASHITA, Keigo

所属研究機関名：奈良県立医科大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号（8桁）：00570970

(2)研究協力者 なし

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。