

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07954

研究課題名（和文）自己拡張性と易抜去性が両立されたハイドロゲルスtentの創出とその有用性の実証

研究課題名（英文）Creation of hydrogel stent with self-expanding and Easy removability and evaluation of its usefulness

研究代表者

土屋 貴愛 (Tsuchiya, Takayoshi)

東京医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50449138

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：ポリビニルアルコール（PVA）ゲルの吸水膨潤性を利用して、胆管ドレナージ用の全く新しい自己拡張型ハイドロゲルスtent（HGS）を創出することに成功した。乾燥状態のHGSは既存の胆管プラスチックstentに類似し、吸水により膨張し狭窄を広げる事のできる拡張力を有していた。HGSを生体ブタ5匹に対し内視鏡的胆管stent留置を行い、全例で成功し4週間飼育し、2例で自然脱落を認め、4週間後胆管内に残存したstentはin vitro実験と同様、十分に拡張していた。抜去後の胆泥付着評価でマクロ的には目視できず、ミクロのごく微量の細菌類の付着が見られたのみで、既存のstentよりも閉塞しにくい可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既存の胆管stentはプラスチックstent (PS) と金属stent (MS) が存在するが、PSは扱い易く、安価であるが、長期開存が難しく、MSはPSと比較し長期開存が得られるものの、高価で時に抜去困難となる。この両者の利点を持つHGSを開発できれば、胆膵疾患治療そのものが簡素化され、安全性も向上し、消化器病学の発展へと貢献する。さらにHGSという新規コンセプトが成功すれば、他の消化器疾患の治療技術への応用も期待できる。さらに、内視鏡治療の技術レベルは国際的に我が国がリードしているが、医療機器に関しては海外製品の寡占状態が続いている中、我が国の医療デバイス開発の技術レベルアップに貢献できる。

研究成果の概要（英文）：A completely new self-expandable hydrogel stent (HGS) for bile duct drainage was successfully created by utilizing the water-absorbing and swelling properties of polyvinyl alcohol (PVA) gel. The dry HGS was similar to existing bile duct plastic stents and had a dilatation force that could expand and widen the stenosis by water absorption. Endoscopic bile duct stenting of HGS was successfully performed in five living pigs for 4 weeks, and spontaneous removal was observed in two cases. After removal of the stent, biliary sludge was not visible at the macroscopic level, and only a very small amount of bacteria was observed at the microscopic level, suggesting that the stent may be less obstructive than existing stents.

研究分野：消化器病学，内視鏡治療

キーワード：内視鏡的胆管stent留置術 ポリビニルアルコール（PVA） ハイドロゲルスtent 自己拡張性 易抜去性

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、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 閉塞性黄疸に対して、内視鏡的胆管ドレナージによる減黄は、今日に置いて胆膵疾患の日常臨床で、欠かせない手技となっている。

(2) 用いられる自己拡張型金属ステント：SEMS (図 1a) とプラスチックステント：PS (図 1b) にはメリットとデメリットがあり (表 1)、それぞれの特性と狭窄原因、解剖学的所見などを総合的に考慮してステントを選択する。そのためには高度な知識・経験が要求される。

(3) 従って、理想的なステンティングとはどのようなものかという問いは、消化器内科学における長年かつ普遍的な問いとなっている。しかし、現在研究中のステンティングは PS と SEMS の延長上にある。

(4) SEMS 留置法は、硬質な金属を用いて強力かつ不可逆的に管腔状組織を拡張する方法である。そのデメリットを抜本的に解決することができる新規コンセプトの拡張法は、消化器病学のみならず循環器領域など分野横断的に重要な命題である。

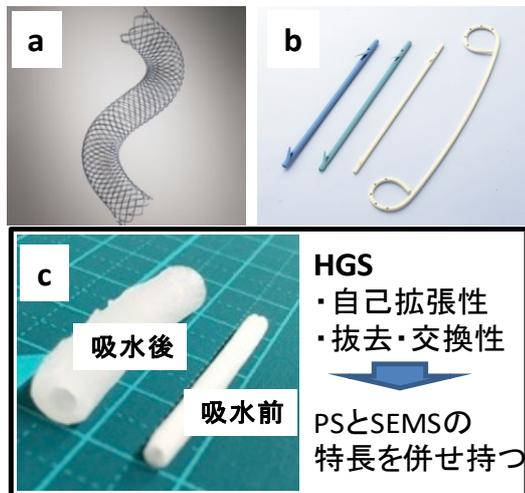


図1 各種ステントの外観と本研究のねらい (a) SEMS、(b) PS、(c) 本研究で創出するHGS

表1 現行ステントのメリットとデメリットの比較

	メリット	デメリット
PS	抜去・交換性・安価	短い開存期間
SEMS	自己拡張・長期開存性	抜去困難・高価

### 2. 研究の目的

ゲルの吸水膨潤性を拡張の駆動力とした“ハイドロゲルステント (HGS)”を創出し、自己拡張性・長期開存性と抜去・交換性が両立された、全く新しい胆管ステンティングを創出することを目的とした。研究代表者らはこれまでの医工連携研究により、ポリビニルアルコール (PVA) ゲルの膨潤性と機械的強度の両立が可能であることを明らかにした。本研究では、①初期状態はプラスチックステントに類似し、吸水により金属ステントと同等に自己拡張する高強度な HGS の創製、および、②胆管内での体液 (胆汁) 吸収による自己拡張性、長期の胆管開存性、および易抜去性の非臨床による実証を行う。従来の内視鏡的胆管ステント留置術を革新する。本研究の成果はこれに留まらない。硬質な金属材料により生体を変形・補填する古典的な治療法から脱却し、ソフトマテリアルにより生体組織と調和した力学刺激を付与する新規治療概念の創出研究と位置づけられる。

### 3. 研究の方法

ハイドロゲルはタンパク質低吸着表面を持ち、力学的に軟組織と調和し、かつ吸水膨潤する。そこで、「筒状のハイドロゲルを胆管に挿入すれば理想的なステント (HGS) として機能し得る」という仮説を検証する。



図2 本研究の医工連携体制および本研究で明らかにすること

(1) 自己拡張型 HGS の設計 (研究分担者の都産技研が実施)

PVA ゲルの強度・膨潤性に影響する 3 因子を制御し、吸水膨潤による内径の拡張性が 2.5 倍 (2 mm⇒5 mm)、拡張後の引裂き強度が>1 N/mm、および軸方向への変形率が 1.0±0.1 倍である、φ2 mm×100 mm のドライ HGS を開発する。

(2) HGS の機能性評価 (研究代表者の東京医大が実施)

・ in vitro でのタンパク質吸着実験

HGS に対してウシ血清アルブミンの吸着実験を行い、吸着性に及ぼす PVA ケン化度、配向性、および含水率の影響を解明する。

・ in vivo での仮想胆管ステント留置実験

生体ブタに対する仮想胆管ステント留置を、通常留置およびインサイドステントにより実施する。①既存ステントングデバイスを用いたステントの留置性 (逸脱・迷入が無いこと)、②拡張性と開存性、および③抜去に耐えられる強度を実証し、④抜去後の胆泥付着が PS よりも低減されていることをマクロ的・ミクロ的に明らかにする。

4. 研究成果

(1) 自己拡張型 HGS の設計

重合度 1,700, ケン化度 98.0-99.0%の PVA (ポパール® PVA-117, クラレ社製) を用いた. 10 wt% に調製した PVA 水溶液に 2 M の硫酸ナトリウム水溶液を滴下し塩析沈殿物を得た. 沈殿物を各種鋳型に充填して凍結融解処理 (-30°C凍結後、常温融解) を行い、物理架橋 PVA ハイドロゲルを作製した. PVA ゲルを 60°C で通風乾燥後に 37°C の生理食塩水に浸漬し、膨潤時の体積を乾燥時の体積で除すことにより体積膨潤度を求めた. 膨潤後の PVA ゲルをレオメーター及び一軸強度試験機に供し、弾性率及び引裂強度を求めた. 広角 X 線回折により PVA ゲルの結晶化度を得た. 円筒状に成型した PVA ゲルを延伸倍率 1.0-2.5 倍で乾燥させた後、内径、外径、及び全長を計測した. 乾燥後の円筒型 PVA ゲルを 37°C の生理食塩水に浸漬し、膨潤後の各サイズを計測し、膨潤前後のサイズ変化から拡張倍率を求めた. 膨潤後の円筒型 PVA ゲル及び市販品の SEMS のラジアルフォースを、ステントに帯状フィルムを巻き付け一軸方向に引張りステントを引き

絞る, JIS T0401 [1]に準拠した力学試験で求めた.

乾燥状態の円筒型 PVA は PS に類似した屈曲性を有し, 体積膨潤度  $3.1 \pm 0.1$  の相似性の膨潤を示した後にゴム様の弾性体へと変化した. 内径, 外径及び全長はそれぞれ約 1.5 倍へと拡大した. 膨潤後 PVA ゲルの貯蔵弾性率及び引裂強度はそれぞれ  $260 \pm 20$  kPa 及び  $5.9 \pm 0.5$  N mm<sup>-1</sup>であった. 円筒型 PVA ゲルに膨潤異方性を付与する目的で延伸乾燥を行った場合, 延伸倍率が大きくなるにつれて全長の拡張倍率が低下した一方で, 内径及び外径の拡張倍率は増加した. 延伸倍率約 2 倍を保持した乾燥により得られた円筒型 PVA の膨潤前後の外観を図 3 に示す. 膨潤前後で全長がほとんど変化せず, 内径・外径が約 2 倍に増加した. 乾燥時の円筒型 PVA ゲルは内視鏡スコープによる送達が可能な強度と柔軟性を示しつつ, 膨潤により軟化した後でも生検鉗子などによる抜去が可能な強度を有していた.

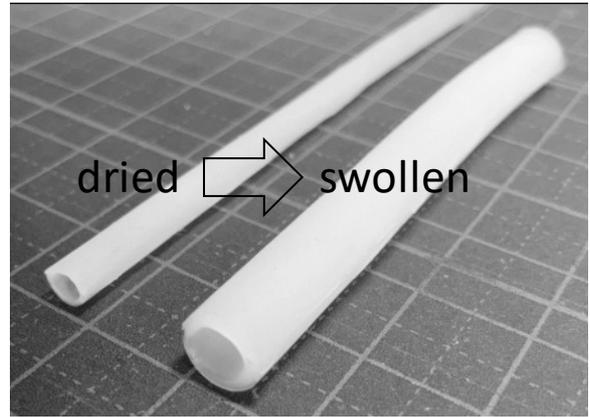


図 3. 円筒型 PVA の膨潤前後の外観

膨潤後の円筒型 PVA ゲル及び市販品の SEMS のラジアルフォース計測から得られた荷重-変位曲線を荷重-縮径曲線に変換した結果を図 4(a)に示す. 2 種の市販 SEMS は, 縮径が進むにつれてどちらも直線的な荷重増加を示した. 一方, 円筒型 PVA ゲルは縮径初期の緩やかな荷重増加の後 (縮径比 0-0.05), 縮径の進行とともに曲線の傾きが増加する傾向が見られた (縮径比 0.05-0.2). 縮径比 0.2 におけるラジアルフォースを図 4(b)に示す. 円筒型 PVA ゲルのラジアルフォースは市販品の SEMS よりも有意に高い値を示した. 円筒型 PVA ゲルはヒト胆管を拡張するポテンシャルを有すると考えられた.

以上より, 凍結融解による物理架橋および延伸下の乾燥を経て作製した円筒型 PVA ハイドロゲルは, 膨潤によりラジアル方向への自己拡張性を示した. 抜去が可能かつ胆管拡張が可能な拡張力を有する “ハイドロゲルス Tent” の設計が可能であった.

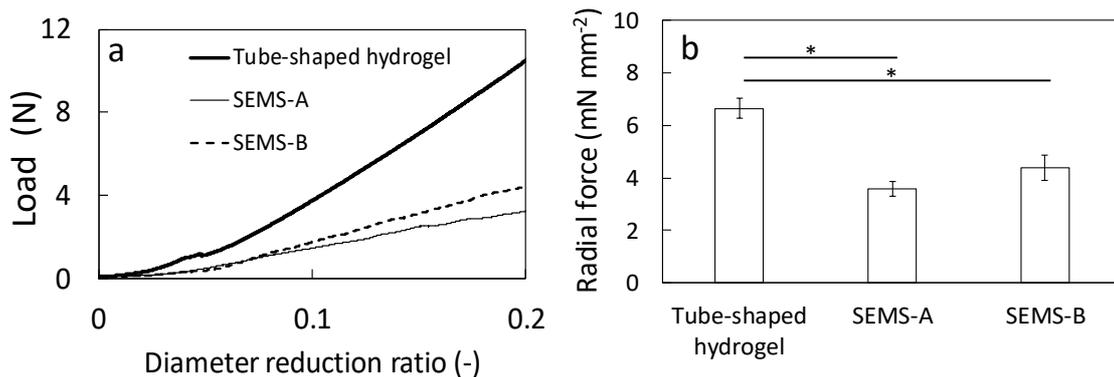


図 4. 膨潤後の円筒型 PVA ゲル及び市販品の SEMS (SEMS-A および SEMS-B) のラジアルフォース計測結果. 荷重-変位曲線を荷重-縮径曲線に変換したグラフ (a)と, 縮径比 0.2 におけるラジアルフォース(b). データは平均値±SD (n=3) で示した. \* p < 0.05.

## (2) HGS の機能性評価

・ in vitro でのタンパク質吸着実験

上記の PVA ケン化度における HGS に対してウシ血清アルブミンの吸着実験を行い、経時的な拡張度合いを透視下に計測した。生理食塩水の吸水とほぼ同程度に、1 時間後に約 90%の拡張が得られ、4 時間後にはほぼ全拡張を示した。

・in vivo での PVA ゲル胆管ステント留置実験

前述の HGS を生体ブタ 5 匹に対し、内視鏡下および透視下に経乳頭的胆管ステント留置を行った (図 5)。市販されている十二指腸鏡 (ED-580T ; 富士フィルム社) を用い、ステントのデリバリーには市販のプラスチックステントデリバリーシステムを用いた。乳頭処置は 6mm 径の乳頭拡張用バルーンを用い、バルーン拡張を付した。5 例全例で胆管内に HGS 留置が成功し、4 週間飼育した。自然脱落予防のため乳頭より完全に胆管内に留置するインサイドステントとした

(図 5)。2 例で自然脱落を認め、4 週間後胆管内に残存したステントは in vitro 実験と同様、十分に拡張していた (図 6,7)。1 例で鉗子を用いて内視鏡的抜去を試み成功した (図 8)。2 例の開腹での抜去例と共に 3 例で抜去後のマクロ的・ミクロ的胆泥付着を評価し、HGS 内腔及び外壁に目視では確認できないごく微量の細菌類の付着が見られた (図 9)。

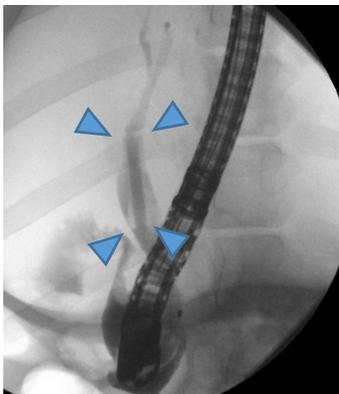


図 5. 内視鏡的に HGS を留置した透視像 (▲で囲まれたステントが胆管内に確認できる)

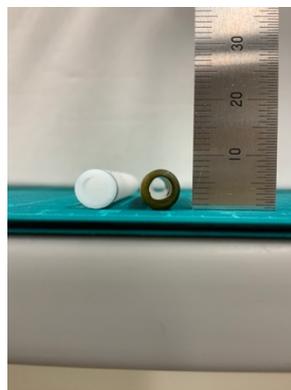


図 6. 4 週間胆管内に留置した HGS (左) と生理食塩水で膨潤させた HGS (右)

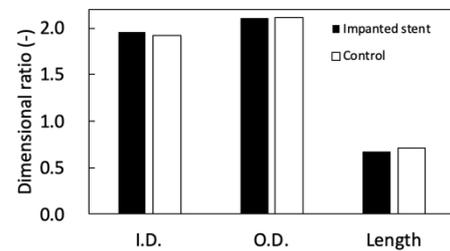


図 7. 豚胆管内に留置した HGS および生理食塩水に浸漬した HGS の拡張倍率の比較



図 8. 鉗子で HGS を把持した透視像

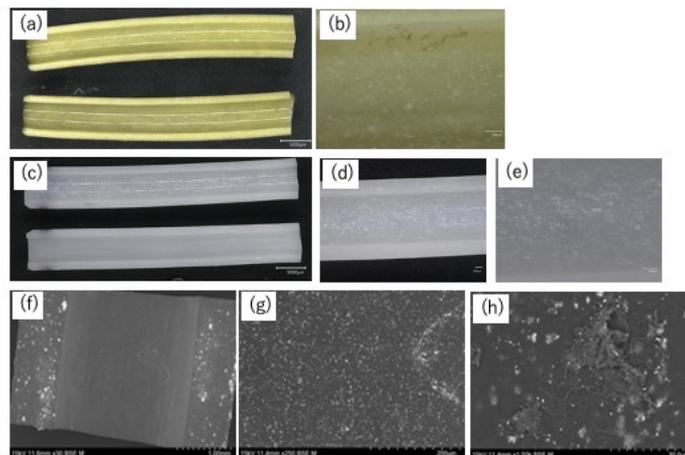


図 9. マクロ的・ミクロ的胆泥付着評価。(a) 豚胆管に留置した HGS のデジタルマイクロスコープ像, (b) 付着物が見られた箇所の高倍率像, (c) 生理食塩水に浸漬した HGS の全体像, (d) 及び (e) (c) の高倍率像, (f) 豚胆管に留置した HGS の SEM 像, (g) 及び (h) 内腔の高倍率像。

まとめ

PVA を用いることで全く新しい HGS が創出可能であった。内視鏡的胆管ステント留置では経乳頭的に胆管へ挿入・留置が可能で、内視鏡的抜去にも耐えうる強度を有していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yoshiyasu Nagakawa, Satoshi Fujita, Shunji Yunoki, Takayoshi Tsuchiya, Shin-ichiro Suye, Takao Itoi	4. 巻 137
2. 論文標題 Self expandable hydrogel biliary stent design utilizing the swelling property of poly (vinyl alcohol) hydrogel	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Applied Polymer Science	6. 最初と最後の頁 48851
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/app.48851	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 永川栄泰, 藤田聡, 柚木俊二, 土屋貴愛, 末信一朗, 糸井隆夫
2. 発表標題 膨潤性を自己拡張性に転換したハイドロゲルステントの設計
3. 学会等名 第68回高分子討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永川栄泰, 藤田聡, 柚木俊二, 土屋貴愛, 末信一朗, 糸井隆夫
2. 発表標題 膨潤異方性を有する自己拡張型ハイドロゲルステントの設計
3. 学会等名 第8回日本バイオマテリアル学会北信越ブロック若手研究発表会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	柚木 俊二  (Yunoki Shunji)  (20399398)	地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター・開発本部 開発第二部バイオ応用技術グループ・上席研究員    (82670)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	永川 栄泰  (Nagakawa Yoshiyasu)  (30587415)	地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター・開発本部 開発第二部バイオ応用技術グループ・副主任研究員   (82670)	
研究分担者	糸井 隆夫  (Itoi Takao)  (60338796)	東京医科大学・医学部・主任教授   (32645)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関