

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17245

研究課題名（和文）カテーテル難接着性液状塞栓物質の新規開発：自己組織化ペプチド/アルギン酸ゲル

研究課題名（英文）Development of new liquid embolization materials

研究代表者

亀井 俊佑（Kamei, Shunsuke）

東海大学・医学部・助教

研究者番号：90778862

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：経カテーテル的に導入後、血管内で固形化する塞栓物質として、十分な強度を有する物質としてアルギン酸ゲルに主に注力し、塞栓物質の開発を行った。塞栓物質の改良のため、生体由来の界面活性物質であるアルブミンを用いた泡沫化を提案、ゲル強度の向上を得るとともに、X線陰性造影剤としての視認性を同時に獲得した。in vitroにてゲルの強度を保つための条件を検討し、最適な混合比が生理食塩水に対してアルブミン 5%、アルギン酸ナトリウム 4%であることを明らかにした。この新規塞栓物質を使用し、ウサギ（日本白色種）を用いた動物実験を施行し、ウサギ腎動脈に対して良好な塞栓効果を確認している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管塞栓術は生命を脅かす動脈性の出血に対して行われる治療であり、カテーテルから血管内に導入する塞栓物質により低侵襲かつ超選択的な治療効果を得ることができる。中でも、液状でカテーテルから注入可能で、血管内で固形化するタイプの塞栓物質は、デバイスの制限がほとんどなく有効性が高いが、現在使用可能なものは保険適用外かつ、合併症リスク、有毒性など問題が多い。申請者は生体適合性が高く、かつ既存の塞栓物質でみられた重篤な合併症リスクを解決した新規塞栓物質を開発した。この研究が進み、臨床で使用可能となることで、安全かつ確実な塞栓が可能になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We focused on alginate gel as an embolization material with sufficient strength to solidify in the blood vessel after transcatheter introduction. We added albumin, a biologically derived surfactant, to the embolic agent for foaming. It results in improved gel strength and visibility as an X-ray-negative contrast agent. We conducted animal experiments using rabbits (Japanese white breed) and confirmed an excellent embolization effect on rabbit renal arteries using this new embolization material.

研究分野：Interventional Radiology

キーワード：液状塞栓物質 塞栓術 血管造影

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者の専門領域である **Interventional Radiology (IVR)** の主要領域の 1 つ、血管内カテーテル手術にて血管塞栓術は最重要の手法である。塞栓物質には、血流に乗せて標的部位の近位～末梢までを詰めるゼラチンスポンジ細片やビーズなどの「粒状塞栓物質」と、カテーテル先端付近で形状をコントロールして塞栓する「金属コイル」、NBCA に代表される液状塞栓物質の 3 種類がある。金属コイルは安全性が高く標的部位を正確に詰めることが可能だが、生命の危機に瀕した超緊急性出血においては、止血効果が生体の凝固能に依存するため即時の止血が困難な場合や標的部位末梢までカテーテル挿入が困難な場合もあり、その際は、標的部位のやや近位からの NBCA (N-butyl-2-cyanoacrylate) というシアノアクリレート系瞬間接着剤を使用した迅速な治療を選択することとなる。

NBCA は上記のごとく救急症例の止血術で多く使用される液状塞栓物質である。血管内に導入後数秒以内に血漿と反応して Cast (鋳型状固形物) を形成する。液状のため導入時のカテーテル径を問わない、Cast 形成速度が非常に早い、生体の凝固能に依存せず固形化する等の特徴を持ち、大量出血や大径血管であっても短時間で治療可能という利点をもつ。一方で、血液と接触後の固形化速度が非常に早いためコントロールが難しく、塞栓物質が末梢に逸脱して臓器に虚血・梗塞等のリスクを有する点、カテーテルと血管との接着によってカテーテル抜去困難や血管損傷が生じうる点、それらに伴い術者の意図通りの塞栓を行うには熟練を要する点など未だ手技には大きな問題があり、現状、国内で NBCA の塞栓術への使用は保険収載されていない。しかしながら、実際の医療現場では、救急症例に適したその特徴から、IVR 術者の判断で患者への十分な説明の下、NBCA を使用せざるをえない症例が現在でも存在しているが、申請者は NBCA を代替しうる性能を有し、かつ安全性・コントロール性の高い液状塞栓物質の必要性を強く感じており、新規塞栓材料として液体中でゲル化が可能な自己組織化ペプチドとアルギン酸ゲルに注目した。

2. 研究の目的

本研究課題では、難接着性の医療材料を用いて、既存の塞栓物質と同等の塞栓性能と意図通りの塞栓が得られるコントロール性を持つ液状塞栓物質実現を目指す。

3. 研究の方法

(1) 新規材料の特性評価 (2019 年度)

(1)-①. 血管モデルを用いた塞栓実験 (当院放射線科実験室)

血管モデル (図 3) における、新規材料及び既存の塞栓物質 (NBCA など) を用いた塞栓を行う。カテーテル先端とその 1cm 先を人工血管にマーキングし、肉眼的に観察しながらこの範囲の塞栓を試みる。塞栓範囲とマーキングとの差違を計測し、コントロール性の定量的評価を行う。塞栓性能に関して、末梢への逸脱割合、塞栓前後の流量の変化、Cast の移動と脈圧との関係など、予備実験にて観察されている問題点を踏まえた検討項目について定量的評価を行う。

また、血管モデルについては必要に応じて随時、人工血管 (素材、表面粗さ、形状など) や血液の代替となる液体について改良の対象とする。その際は (1)-①の *in vitro* 実験を再検し、既に得られている (1)-①、(1)-②の結果と比較することで性能評価を行う。

(1)-②. ウサギを用いた塞栓実験 (生命科学統合支援センター動物部門)

以下の手順で、ウサギの腎動脈を用いた *in vivo* 実験を行う。ウサギ (日本白色種 2.50~2.99 kg) を全身麻酔下に右側の大腿動脈を露出させ、4Fr シースを挿入する。4Fr 造影カテーテル操作により腎動脈を選択、マイクロカテーテルを挿入後、塞栓物質の注入を行う。塞栓に要した薬剤量を記録する。

(2) 新規液状塞栓物質の最適化 (2019 年度~2020 年度)

(2)-①. 試作品の作製 (当院放射線科実験室)

(1)で見出した新規材料の性質を補う、あるいは代替する薬剤について、生理学・薬学・化学など様々な視点から検討し、薬剤添加を行うことで、必要な性質を満たす新規液状塞栓物質の試作品を作製する。

(2)-②. 性能評価と手技の確立 (当院放射線科実験室, 生命科学統合支援センター動物部門)

(2)-①で試作した塞栓物質の検証のため、*in vitro* 及び *in vivo* 実験で性能評価を行い、最適な薬剤及びその混合率の同定及び手技の最適化を行う。

(3) 安全性/効果の検証 (2020 年度)

(3)-①. 血管モデルを用いた塞栓実験 (当院放射線科実験室)

②で開発した塞栓物質・投与手技を用いて血管モデルにおける塞栓実験を実施し、(1)-①と同様の項目について定量的に評価を行い、*in vitro* における目標の達成を目指す。

(3)-②. ウサギを用いた塞栓実験 (生命科学統合支援センター動物部門)

(3)-①で良好な結果であった試作品を用いて *in vivo* 実験を行い、(1)-②と同様の項目について定量的・定性的評価を行い、*in vivo* における目標の達成を目指す。

4. 研究成果

(1) 新規材料の特性評価

当初、候補の1つであった自己組織化ペプチドは固形化はするが、ゲルの強度が低く、Castを形成するのは難しいと考えられた。アルギン酸ゲルは2価、3価の陽イオンと反応し、瞬間的に強度の高いゲルを形成することが可能であり、こちらを用いた開発を行うこととした。

(2) 新規液状塞栓物質の最適化

アルギン酸ゲルは界面に形成される膜の強度が高い一方で、内部に未反応薬剤が残存してしまうという問題点があった。これに対して申請者は界面活性作用を有する薬剤を添加することで泡沫化する手法を考案した(図1)。これは内部の未反応薬剤を大幅に低減するとともに、ゲルの強度を増強、X線透視下におけるX線陰性造影剤としての視認性(図2)を獲得するという副次的な効果を生んだ。

当初は界面活性剤として血管塞栓術で使われることのあるポリドカスクレロールを用いていたが、動物実験まで進んだ段階で、ゲル化せずに末梢に逸脱した薬剤によると考えられる非常に強い組織傷害性が明らかとなったため、生体由来の界面活性物質であるアルブミンを用いることとした。

薬剤の混合比率についても定性的な評価を行い、アルブミンは5%、アルギン酸ナトリウムは4%とすることで、十分な強度を有するゲルが比較的Caイオン濃度が低い状況(0.5%、カルチコール16倍希釈相当)でも形成可能であることが明らかになった(図3)。

また、作成した液状塞栓物質は泡状薬剤とCaイオンを含む薬剤の反応で固形化するため2種の薬剤の投与方法についても工夫が必要であったが、一般的に用いられる4Frカテーテルとマイクロカテーテルの組み合わせで投与可能な手法を考案した(図4)。この手法で、*in vitro*及び*in vivo*試験にて流れのある環境化でゲル化が可能であることを確認した。

(3) ウサギを用いた塞栓実験

予備実験を行い、実験系の確立後に6匹のウサギ、6本の腎動脈に対する塞栓実験を実施した。いずれの個体においても腎動脈の閉塞は可能であり、平均0.5mlのフォーム化薬剤にて塞栓が可能であった(図5)。塞栓後の動物には軽度の食餌摂取低下が生じたが、血管造影を用いた実験で通常みられるものと同程度であり、塞栓そのものによる悪影響はごく軽度に留まると考えられた。

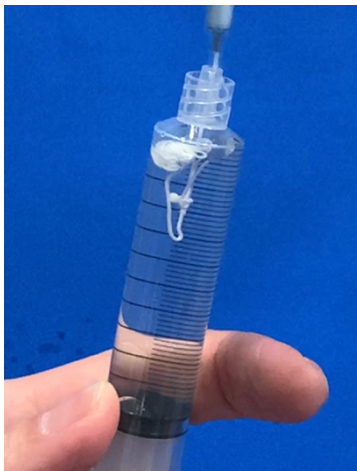


図1 アルギン酸ゲルの瞬時の固形化

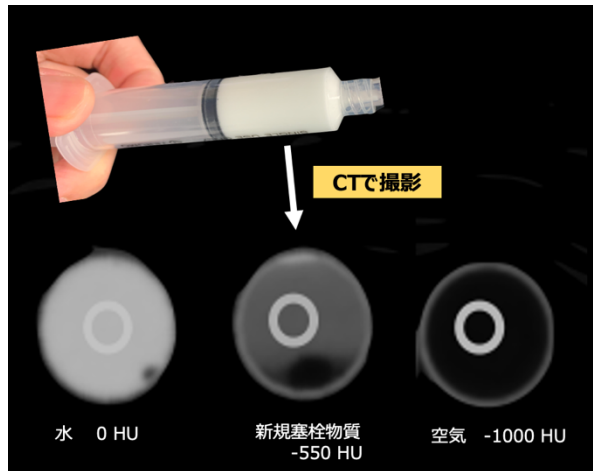
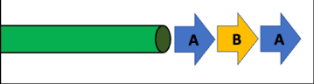
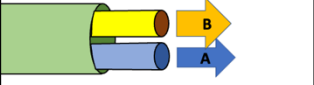
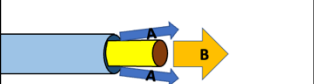


図2 泡状塞栓物質のX線吸収値

		カルチコール希釈比 (倍)						
		1	2	4	8	16	32	64
アルギン酸Na濃度	1%	5	5	4	3	2	2	1
	2%	5	5	5	4	3	2	1
	3%	5	5	5	5	3	2	1
	4%	5	5	5	5	4	2	2
	5%	5	5	5	5	4	3	2

1. 非固形化, 2. 粒状, まとまらない, 3. 糸状, 転倒混和で崩壊
 4. 糸状, 転倒混和で崩壊しないがやや強度低, 5. 糸状, 十分な強度

図3 薬剤濃度とゲル強度の関係

	×	A→B→A one lumenでの投与で、 腔内で固形化
	△	2本のマイクロカテーテルから、 A、Bをそれぞれ投与 ※5Fr ガイディングカテーテルが 必要 (φ2.2mm)
	○	2.1Fr マイクロカテーテルからBを 4Fr カテーテルからAを投与 ※一般的な構成で使用可能 (φ1.33mm)

A: Ca イオンを含む溶液
B: 泡沫化アルギン酸ナトリウム

図 4 投与方法の検討

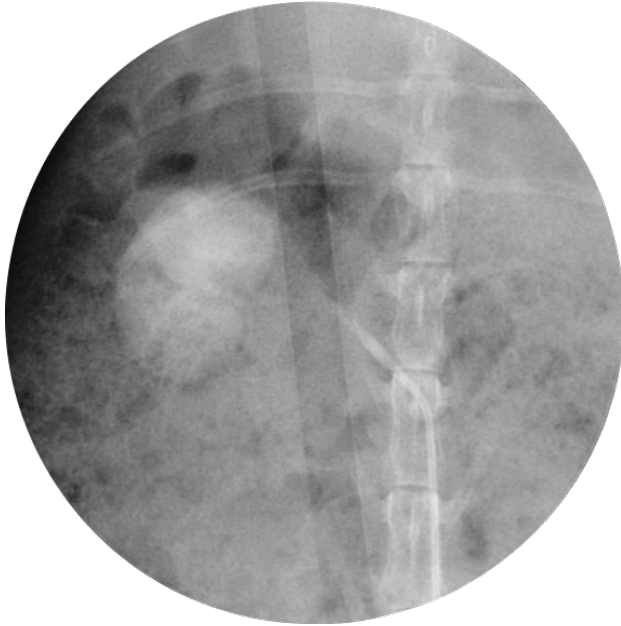


図 5 アルギン酸ゲルを用いた腎動脈塞栓

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 亀井俊佑
2. 発表標題 泡沫化アルギン酸ゲルを用いた新規液状塞栓物質の開発
3. 学会等名 第51回日本IVR学会総会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------