

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：14501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22979

研究課題名(和文) 生体成分類似材料コーティングによる安全性に優れた長期留置型尿管ステントの開発

研究課題名(英文) Development of long-term indwelling ureteral stent with excellent safety by coating materials similar to biological components

研究代表者

梁 英敏 (Yang, Youngmin)

神戸大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：20884050

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では生体親和性が高く、かつ異物低付着性の生体類似材料を用いて尿管ステントをコーティングすることで、最も患者への害が大きいとされる結石の付着を抑制することで、既製品よりも長期安全に留置でき、留置中の閉塞による感染症や腎機能低下の頻度も軽減する新規尿管ステントを創出した。人工尿を用いたin vitroにおける結石付着阻止効果の評価および尿路結石モデルラットへの膀胱内留置によるin vivoにおける結石付着阻止効果および生体適合性の評価を行い、in vitroおよびin vivoにおいて新規尿管ステントが4週間という長い期間で既存製品より結石付着を阻止できることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本コーティングステントは結石形成のメカニズムの2つを抑制する親水性コーティング(細菌、蛋白質の付着を抑制)とpHコントロールコーティング(アルカリ性尿の環境を作らない)を1つのコーティング手法で同時に達成することが技術的に有利な点である。これはコーティング材料費用が半分で済み、経済的に有利な点にもなる。また本in vitroの結果は既製品ステントに比較し、明らかな結石、細菌、蛋白質の異物付着の抑制効果を示し、この効果が長期間維持でき、現在の3か月の最長留置期間を延長でき、患者さんの負担を軽減し、医療経済面でも効果が高い。

研究成果の概要(英文)：In this research, by coating ureteral stents with biosimilar materials with high bioaffinity and low adhesion to foreign substances, by suppressing the adhesion of stones that are considered to be the most harmful to patients, it can be safely retained for a longer period of time than ready-made products, and the frequency of infection and kidney function decline due to blockage during placement is also reduced. Evaluated in vitro and in vivo. Evaluation of the effect of preventing stone adhesion in vitro using artificial urine, and evaluation of the in vivo indentation inhibitory effect and biocompatibility of stone adhesion in vivo by placement in the bladder in urinary tract stone model rats, It was shown that new ureteral stents in vitro and in vivo can prevent stone adhesion in a longer period of 4 weeks than existing products.

研究分野：尿路性器感染症分野

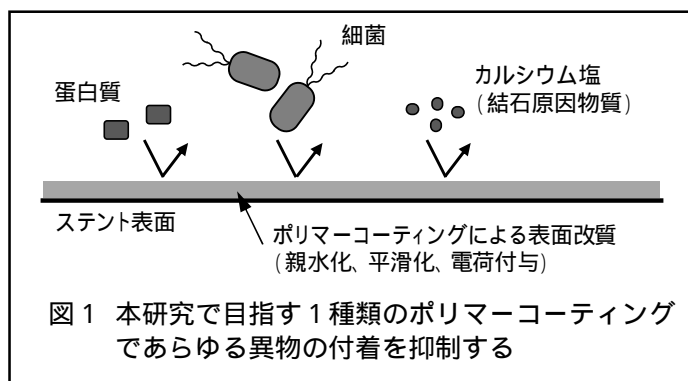
キーワード：尿路感染症 尿管ステント

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

尿管ステントへの結石付着は、細菌が介在する機序と、細菌を介さず結石成分が直接ステント表面で析出する機序が知られている(図1)。したがって、この両方の異物付着メカニズムを阻止するコーティング素材を創出できれば、ステントの閉塞を抑制できると考えられる。

学術的「問い」: 異物付着防止と高生体親和性を両立したコーティング素材はあるか?



既製品ステントのコーティング法は、親水性を付与して「細菌性機序」を、表面 pH を変化させて「非細菌性機序」をそれぞれ抑えるが、それぞれ別々の素材・加工方法が必要であり、かつ実際患者に留置した場合の結石付着予防は十分ではない。長期留置した場合に患者体内でステントを異物とした炎症反応が起こり、生体親和性が高いとはいえない。

2. 研究の目的

高生体適合性・異物低付着性のコーティング素材を用いた尿管ステントの創出
本研究では上記の問いを解決すべく、医工連携により創出した「高生体適合性・異物低付着性」の素材にて尿路ステントをコーティングし、閉塞を防ぐステントの開発を目的とする。

学術的独自性と創造性: 医工連携により実現する単一のコーティング素材の利点
本研究では尿路ステントの閉塞という医療の課題に対し、膜分離工学の観点からアプローチする。膜分離工学の領域においては生体由来の有機化合物、すなわち生体親和性の高い高分子コーティング素材があり、これで尿路ステントをコーティングすることで高生体親和性・異物付着性を両立する尿管ステントを実現できると考えた。

3. 研究の方法

本研究ではコーティング素材とコーティングを施した尿管ステントの異物付着抑制効果について、下記の3段階の実験系を用いて検討する。

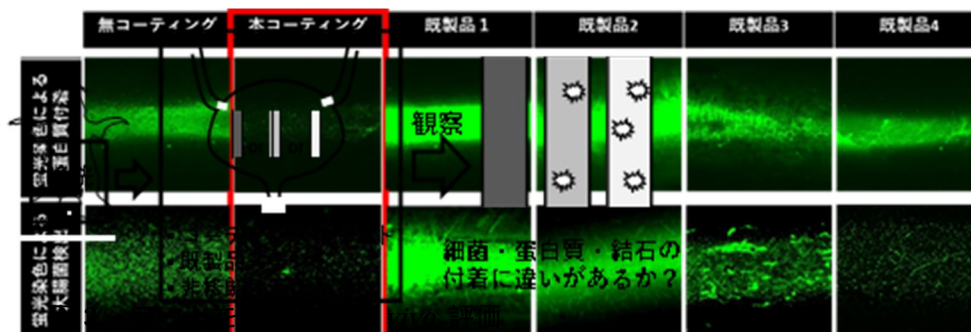
コーティング素材の選定

本研究ではステントのコーティング素材としてリン脂質極性基(MPC)ポリマーやポリドーパミン(PDA)を使用する。MPCは動物細胞の細胞膜に存在するリン脂質を模した化合物であり、基材の親水性を向上させる。PDAは貝由来の接着蛋白質を模した高分子素材であり、ドーパミンと類似した構造を有し、生体親和性が高く弱酸性でカルシウム塩の付着を防ぐ。

コーティングを施したステントの in vitro 評価と既存ステントとの性能比較

予備検討により、上記コーティング素材により蛋白質や細菌の尿管ステントへの付着を抑制できることを見出した(図2)。本研究計画では、これらのコーティングステントについて、結石(主にシュウ酸カルシウム結晶)、蛋白質、細菌の各成分を高濃度で配合した人工尿に浸漬し、それらの付着性について既製品と比較し性能評価を行う。

図2. コーティングステントの蛋白質・細菌付着阻止効果



ラットにおける in vivo 結石付着予防効果の検討
エチレングリコール水の飲水により誘発した

高カルシウム尿モデルのラットを作成し(Jarald, et al. 2011)、膀胱内にコーティング、無コーティング、既製品ステントを留置する。1週間~6ヶ月経過後ラットを解剖し、ステントへの細菌、蛋白質、結石付着の観察と成分分析を行う(図3)。実験期間中は一般状態観察・体重測定、採血と採尿を行い、炎症マーカーや尿成分から安全性を評価する。膀胱組織の免疫染色にて炎症・免疫系マーカーの発現を検討する。

□ 計画が当初予定通りに進まなかった場合の対応

本研究は医工連携研究として神戸大学先端膜工学研究センター長 松山秀人教授らとの密接な連携を取りながら推進するが、研究が計画通りに進まない場合には、コーティング素材の選定から検討をやり直すほか、ステントを製造する企業に相談を仰ぎ、解決策を見出す。

4. 研究成果

1. 生体適合性低吸着材料の開発とそれを用いた尿管ステントの表面改質

生体由来材料を用いて様々な条件で重合化反応を行い、尿管ステントへのコーティングを行った。異物付着抑制作用の比較から、生体由来材料濃度 2 mg/ml、pH 9.0、室温 3 日間の重合化反応を最適条件とした。

2. 人工尿を用いた *in vitro* における結石付着阻止効果の評価

人工尿中で各尿管ステントを 37 °C で 5 週間インキュベートし、ステント表面への結石付着に対する阻止効果を評価した。

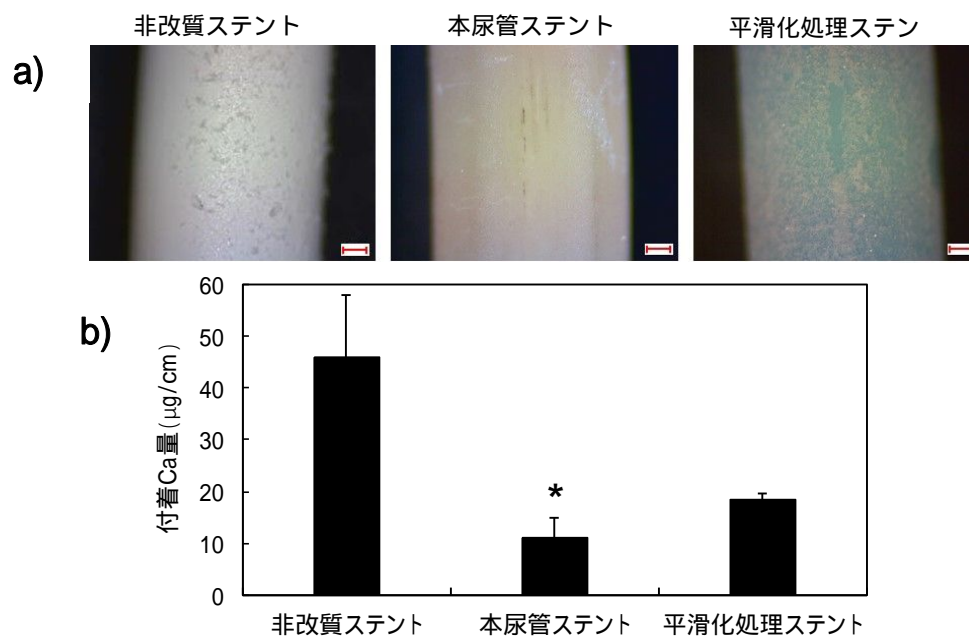


図5.人工尿中における本尿管ステントの結石付着阻止効果

人工尿中で各尿管ステントを37 °C で5週間インキュベートし、付着した結石を顕微鏡観察するとともに、Ca量をICP元素分析で定量した。

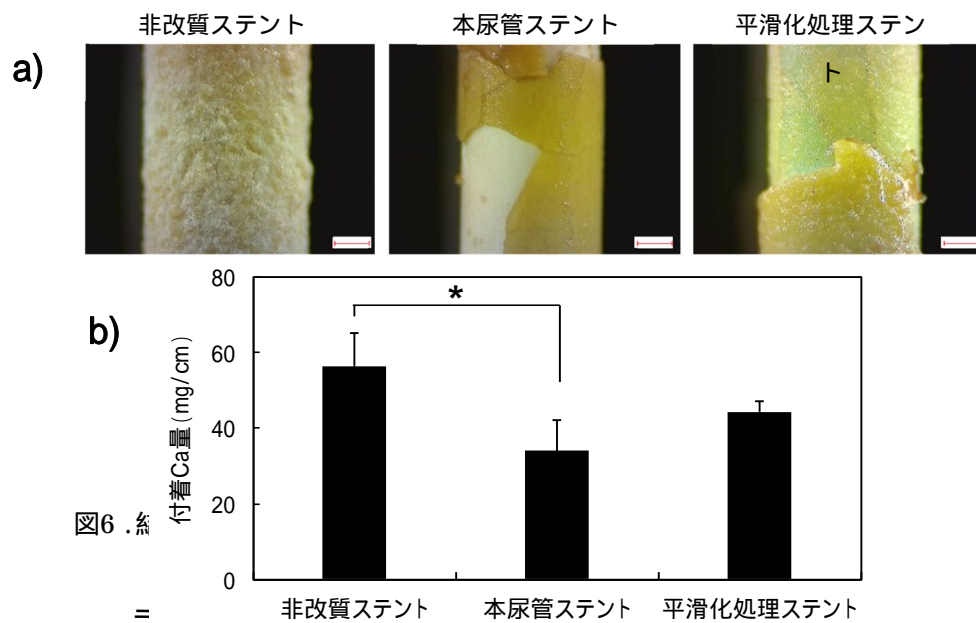
a) インキュベート後の尿管ステント表面の顕微鏡観察像 (スケールバー: 0.2 mm)

b) 尿管ステント表面へのCa付着量 (one-way ANOVA, * $p < 0.05$)

その結果、本尿管ステント表面への結石付着の減少が顕微鏡観察で認められるとともに(図 5a)、Ca 量の定量値はそれぞれ、本尿管ステントが $11.1 \pm 3.5 \mu\text{g}/\text{cm}$ 、非改質ステントが $46.5 \pm 11.9 \mu\text{g}/\text{cm}$ 、平滑化処理ステントが $18.6 \pm 1.0 \mu\text{g}/\text{cm}$ となり、本尿管ステントは非改質ステントと比較して Ca 付着量が有意に少なかった(図 5b)。これらの結果より、*in vitro* 人工尿中における本尿管ステントの結石付着阻止効果が確認された。なお、実験後の人工尿からは細菌は検出されず、本実験が無菌的に行われたことが確認された。

3. 結石モデルラットを用いた *in vivo* における結石付着阻止効果および生体適合性の評価

結石モデルラット膀胱内への 8 週間の留置実験により、本尿管ステントの *in vivo* における結石付着阻止効果を評価した。本尿管ステントは他の尿管ステントと比較して結石付着が少ないことが観察され(図 6a)、Ca 付着量は本尿管ステントが $34.0 \pm 8.6 \text{ mg}/\text{cm}$ 、非改質ステントが $56.4 \pm 8.8 \text{ mg}/\text{cm}$ 、平滑化処理ステントが $44.4 \pm 2.7 \text{ mg}/\text{cm}$ であり、本尿管ステントは非改質ステントに対して有意に抑制が認められた(図 6b)。一方、一般状態観察、体重測定、採尿結果には各ステントで有意な差は認められなかった。さらに、膀胱組織の HE 染色および IHC でも各尿管ステント群で炎症、細胞浸潤などに有意な差は見られず、本尿管ステントの生体内における安全性が示唆された。



阻止効果

図6.系

ニ

付着した結石を顕微鏡観察するとともに、Ca量をICP元素分析で定量した。

a) 留置後の尿管ステント表面の顕微鏡観察像(スケールバー: 0.5 mm)

b) 尿管ステント表面へのCa付着量(one-way ANOVA、

* $p < 0.05$)

【今後の研究の推進方策】

今後は、本尿管ステントの既存製品に対する有用性の確認をさらに進める。具体的には、結石だけでなく蛋白質・細菌の付着に対する阻止効果を *in vitro* にて評価する。*in vivo* においては、

今回使用した尿路結石モデルラットを応用させ、尿路感染モデルラットを作成し、尿中細菌の付着を評価し、本尿管ステントの細菌が介在する結石付着機序への阻止効果を評価する。そして、臨床試験、製品化に向けて共同研究・共同開発を行う企業の導出を目指していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 医療デバイスの結石付着又は石灰化の抑制化剤、結石付着又は石灰化が抑制化された医療デバイス、及び結石付着又は石灰化が抑制化された医療デバイスの製造方法	発明者 重村克巳、松山秀人、熊谷和夫、梁英敏	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021- 25274	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------