

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08979

研究課題名（和文）縫合不全と術後癒着防止のための自己支持性高分子超薄膜(ナノシート)の開発

研究課題名（英文）Development of a self-supporting ultrathin polymer film (nanosheet) for preventing postoperative suture failure and adhesion

研究代表者

横田 一樹 (YOKOTA, KAZUKI)

三重大学・医学系研究科・リサーチアソシエイト

研究者番号：60721090

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、キトサンエアロゲルを腸管吻合部の補強材として生体応用することを目的として実験を実施した。作製したキトサンエアロゲルについてブタの小腸を用いて各種のin vitro物性評価試験を実施した結果、腸管の激しい蠕動運動に追従可能な高い柔軟性、強度、生体接着力と、高い腸内圧に耐久可能な耐圧性を有していることが示された。さらに、細胞毒性試験および動物実験から、キトサンエアロゲルが高い生体適合性を有していることが示されたものの、生体内における小腸への貼付安定性に課題を有することも明らかとなり、改良型エアロゲルにて検討を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸管吻合に伴う縫合不全は1.5～16%の確率で生じ、敗血症や多臓器不全などの重篤な併発症を誘発することが懸念されている。そのため、腸管吻合部を封止し、内容物の漏出を防止する手法や医療デバイスの開発が求められている。本研究成果により、キトサンエアロゲルが腸管吻合部の補強材としての生体応用を実現する際に基本的な適合性を有していることと、更なる小腸への貼付安定性が必要であることが明らかとなった。今後、改良型による縫合不全モデルラットや大動物での評価を実施することで、腸管吻合部補強材料が開発できれば、腸管吻合に伴う縫合不全を予防することが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, experiments were conducted to apply chitosan aerogel as a reinforcement material for intestinal anastomosis in vivo. The results of various in vitro experiments of physical property evaluation using porcine intestine showed that the chitosan aerogel has high flexibility, strength, and bioadhesiveness that can follow the intense peristalsis of the intestinal tract, and high pressure resistance that can withstand high intestinal pressure. Furthermore, the results of cytotoxicity tests and animal experiments showed that the chitosan aerogel has high biocompatibility. However, it was also found that there is a problem with the stability of its application to the intestine in vivo, so an improved aerogel is being investigated.

研究分野：医療機器開発

キーワード：キトサン エアロゲル 補強材 腸管吻合 縫合不全

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎えた我が国において、外科手術後の縫合不全のリスクの高い患者は増加しており、縫合不全の防止は喫緊に克服すべき課題である。例えば、本邦の癌関連死の原因の中でも2番目に多い大腸癌に対する治療として、肛門を温存する術式の進歩は著しく、低位前方切除術は大腸癌手術の中でも中核的な術式と言えるが、全国4,000以上の参加施設のネットワークにより構成される大規模なデータベースであるNCD(national clinical database)によると、この術式の縫合不全率は約10%と高い。縫合不全は、敗血症や多臓器不全などの重篤な併発症を誘発するため、腸管吻合部を封止し、内容物の漏出を防止する手法や医療デバイスの開発が求められている。これまでに様々な補強材が開発されているが、実際に臨床応用されているものは未だ存在しない。

申請者がこれまでに開発してきた医療用自己支持性高分子超薄膜(ナノシート)は、ファンデルワールス力のような分子間力を介して生体組織表面と接着し、肺や盲腸の組織裂傷部への創傷被覆材や薬物徐放材や癒着防止材として応用されてきた。このような性質は、吻合部の創傷治癒を促進し縫合不全を防止するだけでなく、縫合不全とともに術後合併症の一つである術後癒着性腸閉塞の防止も期待できる。2020年度までの研究で、ポリドーパミン修飾とシリカナノ粒子、さらにLbL-EDC(1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド)修飾をしたポリカプロラクトンナノシート(LbL-EDC-PCL-silica ナノシート)を吻合部に貼付することにより、4針縫合不全ラットを一週間以上生存させることに成功した。しかし、ヒト腸管に適用するためには、腸管内容物が漏出する可能性のある吻合部において、より高い腸管内圧に耐えうる接着性と強度が必要となる。脆弱なナノシートのみでは縫合部を確実に補強することは困難であると考えた。そこで、優れた適合性、生分解性に加え、体内の湿潤環境に耐えうる強度、腸管の蠕動運動に追従可能な柔軟性、および生体接着性を満たす新たな縫合部被覆材として、配向性架橋キトサンエアロゲルを想起し、開発と評価を行った。

2. 研究の目的

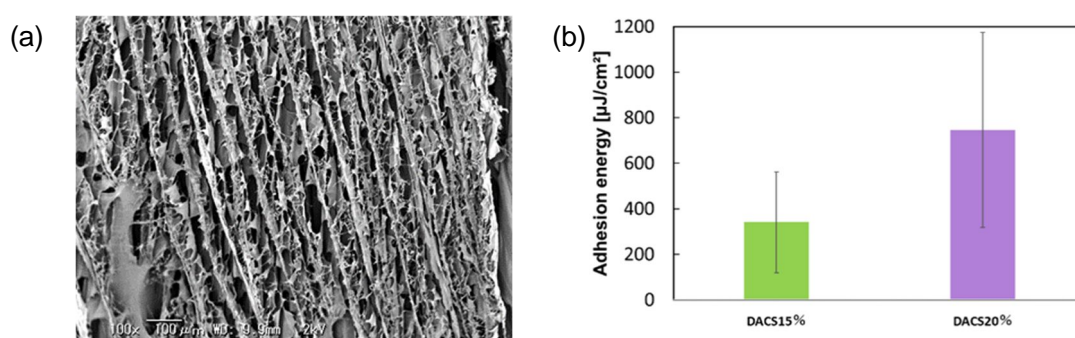
本研究の目的は、外科手術における重篤な合併症である縫合不全を防止するための補強材を開発することである。具体的には、キトサンエアロゲルを腸管吻合部の補強材として生体応用することを目指す。

3. 研究の方法

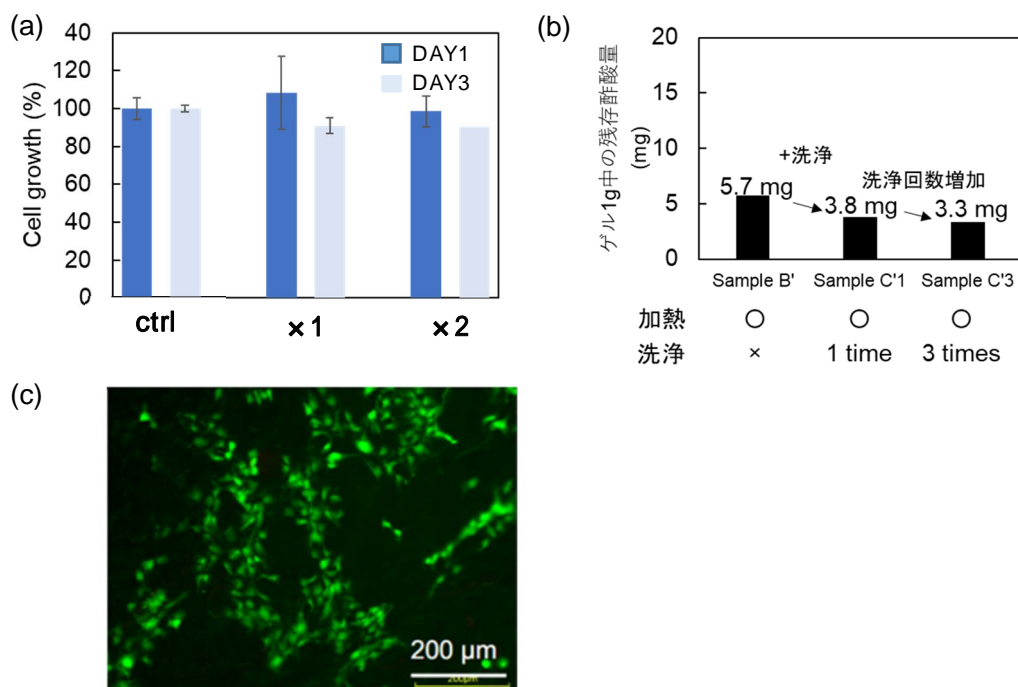
- (1) キトサンエアロゲルを用いたサンプルの試作
- (2) 物性評価
- (3) 生体適合性評価
- (4) ラット腸管における縫合不全防止効果および癒着防止効果の検討

4. 研究成果

まず、一方向凍結乾燥法により配向性キトサンエアロゲルの作製を行った。架橋剤としてジアルデヒド化キトサン (DACS)を用いることで、キトサンエアロゲルの強度を向上させるとともに DACS のアルデヒド基と腸組織表面のアミノ基間でのシッフ塩基の形成により接着力を向上させた。また、ゲルサイズと貼付方法を工夫することで更に接着力を向上させた。調製時の精製法の改善により残存酢酸量を減少させエアロゲルの細胞毒性の大幅な低減を行った。以上により、高い腸管内圧に耐える接着性と強度を有するキトサンエアロゲルを作製することに成功した。ブタの小腸を用いて in vitro 物性評価試験(Tack Separation test、引張試験、吸水試験、耐圧性試験)を実施した結果、腸管の激しい蠕動運動に追従可能な高い柔軟性、強度、生体接着力と、高い腸内圧に耐久可能な耐圧性を有していることが示された。さらに、細胞毒性試験および動物実験から、キトサンエアロゲルが高い生体適合性を有していることが示された。



DACS(ジアルデヒド化キトサン)架橋キトサンエアロゲルサンプルの物性評価
 (a) 走査電子顕微鏡による表面構造
 (b) 腸への接着力



DACS(ジアルデヒド化キトサン)架橋キトサンエアロゲルサンプルの細胞毒性評価
 (a) ISO-10993の規定に則ったWST-1 assayによる細胞毒性試験
 (b) 残存酢酸量
 (c) 細胞接着試験

最後に、ラット無傷小腸にキトサンエアロゲルを貼付して生体適合性について評価した。その結果、全てのラットが貼付後 14 日間生存し続け、貼付部位に目立った損傷が確認されなかったことから、作製したキトサンエアロゲルは小腸に対して高い生体適合性を持つことが明らかとなった。しかしながら、キトサンエアロゲルは 14 日間小腸の貼付部に安定に留まっておらず途中で剥がれることが明らかとなった。今後、蠕動運動によるずり応力に対する貼付安定性の向上を目指し、エアロゲルの改良および評価を進める。



ラット小腸への貼付実験
貼付部への癒着や組織障害はみられなかった。

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

〔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	内田 広夫 (Uchida Hiroo) (40275699)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	
研究分担者	檜 顕成 (Hinoki Akinari) (90383257)	名古屋大学・医学系研究科・特任教授 (13901)	
研究分担者	城田 千代栄 (Shirota Chiyoe) (20378194)	名古屋大学・医学部附属病院・講師 (13901)	
研究分担者	武岡 真司 (Takeoka Shinji) (20222094)	早稲田大学・理工学術院・教授 (32689)	
研究分担者	藤枝 俊宣 (Fujie Toshinori) (70538735)	東京工業大学・生命理工学院・准教授 (12608)	

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