

令和元年6月23日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09280

研究課題名(和文) 生体吸収性ハイドロゲルシートを用いた内視鏡的粘膜下層剥離術後食道狭窄予防法の開発

研究課題名(英文) Efficacy of gelatin hydrogels incorporating triamcinolone acetonide for prevention of esophageal fibrosis after endoscopic submucosal dissection

研究代表者

橋本 哲 (Satoru, Hashimoto)

新潟大学・医歯学総合研究科・特任准教授

研究者番号：10768667

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)：食道癌内視鏡治療後の食道狭窄は、粘膜治癒過程における粘膜下層の線維化が原因である。今回、我々は線維化予防に有効とされるトリアムシノロンアセトニド(TA)を内包化したゼラチンシートを作製した。シートの薬剤徐放性および、マウス皮膚欠損モデルにおけるシートの効果検証を行った。マウスの背部皮膚に8mmの皮膚欠損を2か所作製し、TA内包化シート貼付とTA懸濁液局注を比較し上皮化・線維化についての評価を行った。シートの薬剤徐放効果が確認され、TA内包化シートとTA局注では、TA内包化シートで有意な線維化抑制効果を認めた。この結果より、TA内包化シートの薬剤徐放性、有意な線維化抑制効果を検証できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回作製したトリアムシノロン内包化ゼラチンシートは、薬剤徐放性、線維化抑制効果を認めた。皮膚癒痕拘縮、関節可動制限、消化管領域では食道狭窄など、線維化をきたす疾患に関しては、このシートによって改善が見込まれる可能性がある。シート自体はゼラチンを使用し、人体に無害であるため、臨床応用の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Triamcinolone acetonide (TA), a steroid, is often used clinically to prevent dysfunctions associated with fibrosis. TA was suspended in biodegradable gelatin and freeze-dried in a sheet form. In this study, we prepared a TA suspension gelatin sheet (TA sheet) and confirmed both the homogeneity of suspended TA and controlled-release of TA in the presence of collagenase in vitro. The TA sheet decreased the rate of skin wound regeneration and caused less myofibroblast infiltration into the tissue than the control sheet did. In addition, the TA sheet caused less myofibroblast infiltration into the tissue than TA injection.

研究分野：消化器内科

キーワード：食道癌 食道狭窄 内視鏡的粘膜下層剥離術 トリアムシノロン ハイドロゲルシート 徐放化

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

1. 研究開始当初の背景

早期食道癌に対する内視鏡的粘膜下層剥離術(ESD)は、近年低侵襲治療として適応が拡大している。しかし、食道は狭い管腔臓器であり、周在性が亜全周を越えるような広範囲病変に対しては、術後の癒痕狭窄が問題となる。この狭窄は極めて難治性で、バルーン拡張術を繰り返す必要がある。患者のQOLを著しく低下させている。

代表者らは世界に先駆けて、食道癒痕狭窄予防として、ステロイド製剤であるトリアムシノロンを用いた内視鏡的食道壁内注入法を開発した。当治療法は、ESD 切除後の潰瘍面に、トリアムシノロンを均一に局所注入する方法で、消化器内視鏡専門医であれば簡便に行うことが可能な手技である。当治療法を導入後、ESD 術後狭窄の頻度は格段に改善したが、全周性に近い病変などでは治療効果に乏しく、トリアムシノロンを切除面に長期間徐放できる治療法の開発を進めてきた。

代表者らは、トリアムシノロンの長期間徐放化を可能とする素材として、生体吸収性ハイドロゲルシートに着目した。ハイドロゲルは、水を含む高分子からなる網目構造(架橋構造)をもつ高分子化合物の総称である。この化合物は、環境変化や熱、光、pH など外部刺激により、可逆的に膨張・収縮やゾル-ゲル転移の制御が容易であり、親水性であるため生体適合性が高く、内包した薬物の透過性・拡散性および徐放性にも優れている。代表者らは、食道粘膜切除面に貼付するため、生体吸収性の特性をもつゼラチンを用いたハイドロゲルシートを考案した。京都大学再生医科学研究所 田畑泰彦教授と共同研究を開始し、トリアムシノロン内包化ゼラチンハイドロゲルシート(TGHG)の作製に成功した。

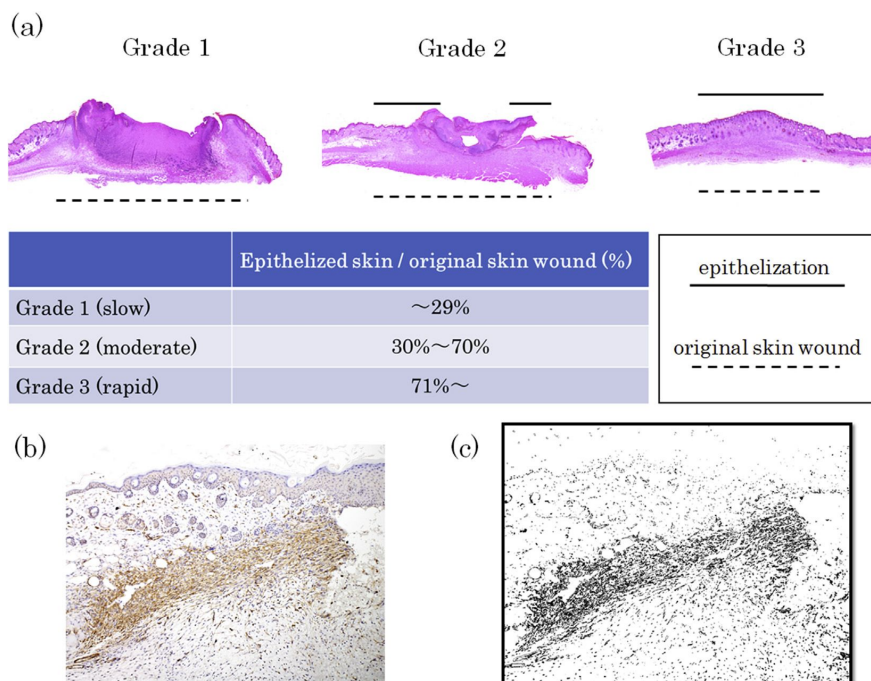
2. 研究の目的

1. TGHG の均一性および徐放性の検証
2. マウス皮膚欠損モデルを作製し TGHG を切除面に貼付させ、創部の線維化抑制効果の検証

3. 研究の方法

代表者らの作製した TGHG の均一性および徐放性を検証するため、高速液体クロマトグラフィーで検証を行った。TGHG の線維化抑制効果を検討するため、シートを貼付しやすく、評価も比較的容易なマウス皮膚潰瘍モデルを作製した。マウスの背側に、円形の直径 8mm の皮膚全層欠損を 2 つ作製する。一側はシートを貼付しないコントロールとし、対側に TGHG を貼付する。さらに TGHG 貼付とトリアムシノロン皮下局注モデルも作製した。潰瘍部をデジタルカメラにて経時的に撮影し、潰瘍面積の経過観察を行った。15 日後に sacrifice し、摘出標本は、常法に従いヘマトキシリン・エオジン染色(HE)標本作製し、上皮化の評価を図 2 の通りグレード別にして行った。さらに αSMA 染色を行い、ImageJ ソフトを用いて線維化の評価を定量化して検討した(図 1)。

(図 1)



4. 研究成果

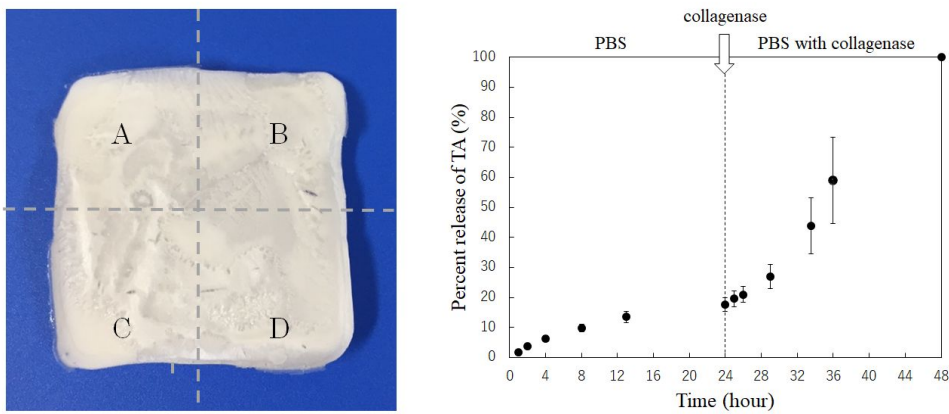
高速液体クロマトグラフィーの結果より、作製したシートの均一性および薬剤徐放性が確認された(図 2)。

TGHG(TA sheet)と TA 非含有シート(Control sheet)の比較では、粘膜欠損部の比率(TA sheet:26.9±5.5%, Control sheet:10.7±2.6%, $p=0.023$)は有意に TA sheet 群で大きかった。上皮化の程度は、Control sheet 群よりも TA sheet 群で Grade 1(低い上皮化)が多い結果であった。線維化の程度は、TA sheet 群(4.65±0.66%)が Control sheet 群(7.24±0.70%)よりも有意に低かった($p=0.023$)。TA sheet 群で有意な上皮化遅延、線維化抑制を認めた(図 3)。

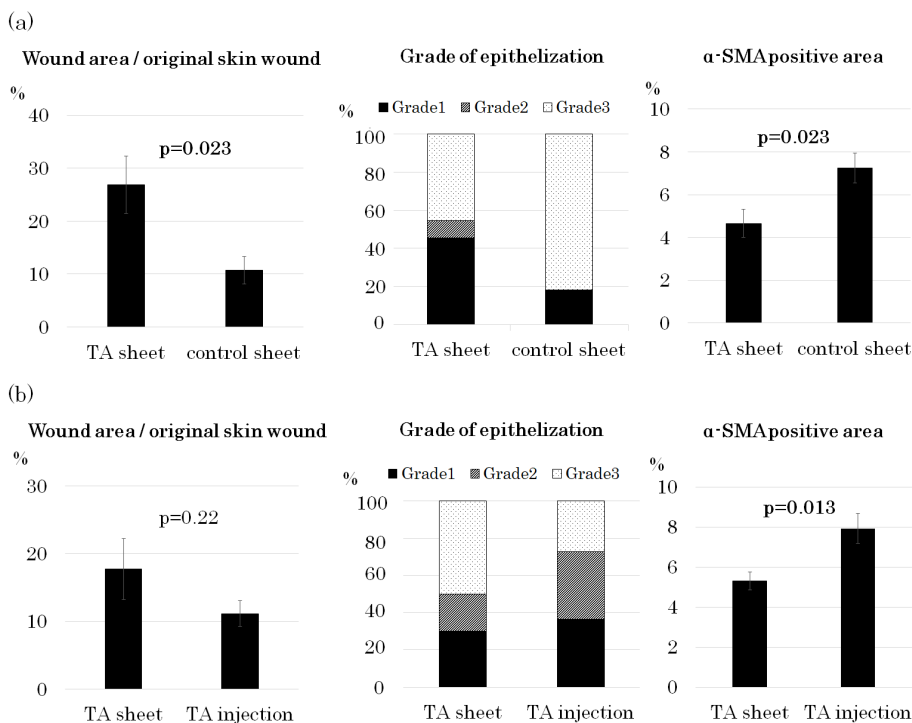
TGHG とトリアムシノロン局注(TA 局注)との比較では、粘膜欠損部の比率(TA sheet:17.7±4.5%, TA 局注:11.1±1.9%, $p=0.22$)は両群で有意差を認めなかった。上皮化の程度は、両群間で相違を認めなかった。線維化の程度は、TA sheet 群(5.32±0.45%)が TA 局注群(7.93±0.75%)よりも有意に低かった($p=0.013$)。TA sheet 群で有意な線維化抑制を認めた(図 3)。

本研究により TGHG(TA 内包化シート)の薬剤均一性および徐放性、有意な線維化抑制効果を示す結果が得られた。ゼラチンシートは人体に無害であるため、食道癌に対する内視鏡的切除後の狭窄予防など臨床応用の可能性が示唆された。

(図 2)



(図 3)



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- 1) Nao Nakajima, Satoru Hashimoto, Hiroki Sato, Kazuya Takahashi, Takuro Nagoya, Kenya Kamimura, Atsunori Tsuchiya, Junji Yokoyama, Yuichi Sato, Hanako Wakatsuki, Masayuki Miyata, Yusuke Akashi, Ryusuke Tanaka, Ken Matsuda, Yasuhiko Tabata, Shuji Terai, Efficacy of gelatin hydrogels incorporating triamcinolone acetonide for prevention of fibrosis in a mouse model. Regenerative Therapy in press, 査読あり

〔学会発表〕(計 3 件)

- 1) Nao Nakajima, Satoru Hashimoto, Shuji Terai Anti-fibrotic efficacy of gelatin sheet containing triamcinolone acetonide TERMIS 2018 年
- 2) 中島尚、橋本哲、寺井崇二 トリアムシノロンアセトニド内包化ゼラチンシートの効果の検証 第 17 回日本再生医療学会 2018 年
- 3) 中島尚、橋本哲、寺井崇二 トリアムシノロンアセトニド内包化ゼラチンハイドロゲルシートの効果の検証 第 16 回日本再生医療学会 2017 年

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：寺井 崇二
ローマ字氏名：TERAI shuji
所属研究機関名：新潟大学
部局名：医歯学系
職名：教授
研究者番号(8桁)：00332809

研究分担者氏名：佐藤 祐一
ローマ字氏名：SATO yuichi
所属研究機関名：新潟大学
部局名：医歯学総合研究科
職名：客員研究員
研究者番号(8桁)：00401761

研究分担者氏名：土屋 淳紀
ローマ字氏名：TSUCHIYA atsunori
所属研究機関名：新潟大学
部局名：医歯学総合病院
職名：講師
研究者番号(8桁)：70464005

研究分担者氏名：上村 顕也
ローマ字氏名：KAMIMURA kenya
所属研究機関名：新潟大学
部局名：医歯学総合病院
職名：講師
研究者番号(8桁)：00579146

研究分担者氏名：佐藤 裕樹
ローマ字氏名：SATO hiroki
所属研究機関名：新潟大学
部局名：医歯学総合病院
職名：特任助教
研究者番号(8桁)：50644556

(2)研究協力者

研究協力者氏名：田畑 泰彦
ローマ字氏名：TABATA yasuhiko

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。