

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17467

研究課題名（和文）粘膜下層剥離面治癒を促進するHGF含浸外用剤の開発

研究課題名（英文）Development of HGF-impregnated topical application to promote healing of submucosal ulcer

研究代表者

佐々木 文郷（Sasaki, Fumisato）

鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・講師

研究者番号：40735297

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）：内視鏡的粘膜下層剥離術（ESD）は広く普及したが、合併症の問題は今だ解決すべき重要な課題である。我々は、ESD後潰瘍の動物モデルを用いて、高接着性ゼラチン噴霧剤の有用性を検討した。その結果、高接着性ゼラチン噴霧型被覆剤は、胃ESD後潰瘍の粘膜下層の炎症・線維化、固有筋層の線維性肥厚を抑制したことを明らかにした。さらにミニブタを用いた十二指腸ESD潰瘍微小穿孔モデルにて噴霧剤をESD後潰瘍に噴霧することにより、筋層および漿膜側への炎症を抑制した。本製剤は、ESD後合併症を軽減させる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

今回の研究にて高接着性ゼラチン噴霧剤が、ESD後潰瘍に対して抗炎症に作用し、微小穿孔の被覆、過度な瘢痕収縮の抑制を通じて消化管狭窄をはじめとするESD後の偶発症予防に有用である可能性が示唆された。本製剤が、臨床日常診療で使用可能となれば、ESD関連偶発症の抑制に寄与する可能性がある。さらには、より安全な低侵襲治療の提供に寄与するだけでなく、日帰り手術が可能になることも考えられ、医療経済的にも貢献する可能性が考えられ、社会的意義は高いものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Although endoscopic submucosal dissection (ESD) has become widely used, complications are still an important issue to be resolved. We investigated the usefulness of a highly adhesive gelatin spray formulation using an animal model of post-ESD ulcers. We found that a highly adhesive gelatin spray coating inhibited inflammation and fibrosis of the submucosa and fibrous thickening of the intrinsic muscularis propria of gastric post-ESD ulcers. Furthermore, spraying the spray formulation on post-ESD ulcers in a duodenal ESD ulcer microperforation model using miniature pigs suppressed inflammation in the muscular layer and on the serosa side. The results suggest that this formulation may reduce post-ESD complications.

研究分野：消化器内視鏡学

キーワード：ESD 偶発症予防 合併症予防 低侵襲治療

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

早期消化管癌に対する内視鏡的粘膜下層剥離術(ESD)が広く普及し、病変のサイズに関わらずに切除可能になった。しかし、粘膜広範な粘膜下層剥離後の消化管狭窄を中心とした課題が残されている。物質・材料研究機構 田口哲志らは、強力な接着性と組織傷害部位において産生される内因性の増殖因子と結合かつ徐放化する作用を有する疎水化ゼラチン多孔膜を開発した。また、我々は、組み換え型ヒト肝細胞増殖因子(rh-HGF)が傷害消化管粘膜の再生・修復および抗潰瘍効果を報告し、さらに rh-HGF は食道潰瘍の修復を促進し、かつ癒痕収縮を改善することを報告した。

2. 研究の目的

本研究は、この疎水化ゼラチン多孔膜および rh-HGF を用いて、消化管粘膜剥離面に対する被覆材の臨床開発を目指して、中動物(ミニブタ)を用いた薬効・薬理試験を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 皮膚潰瘍モデルでの検討(マウス)

マウス皮膚潰瘍モデルを用いて皮膚潰瘍に対する疎水化ゼラチン多孔膜および HGF 含浸疎水化ゼラチン多孔膜の潰瘍修復促進効果および rh-HGF の体内における影響を明らかにする。

(2) 消化管粘膜傷害モデルでの検討(ミニブタ)

クラウン系ミニブタを用いて食道または胃 ESD による消化管粘膜傷害モデルを作成し、疎水化ゼラチン多孔膜および rh-HGF 含浸疎水化ゼラチン多孔膜を潰瘍底に内視鏡的に貼付し、消化管粘膜傷害に対する粘膜再生、修復および抗潰瘍効果を内視鏡的および組織学的な評価を行う。また、rh-HGF の体内における影響を明らかにする。

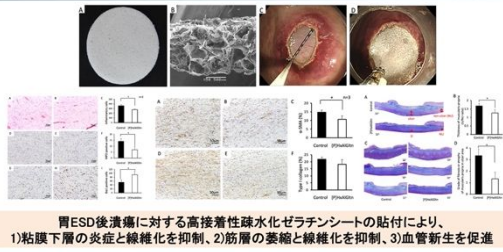
4. 研究成果

(1) rh-HGF 含浸疎水化ゼラチン多孔膜については、rh-HGF の不安定性およびその半減期の短さから、皮膚潰瘍での研究での有用性は明らかにすることができなかった。

(2) 消化管傷害モデルでの検討にて、ミニブタを用いて新規ゼラチン被覆剤(シート剤型)の胃 ESD 後人工潰瘍に対する有用性を明らかにした。

クラウン系ミニブタに ESD の手法を用いて人工潰瘍を作成し、ESD 後潰瘍に新規被覆剤を貼付し、内視鏡的および病理学的にその有用性を検討した。その結果、新規被覆剤貼付した潰瘍は、(i)粘膜下層の炎症細胞が有意に少なく、 α -SMA 陽性細胞が有意に少な

Figure.1 高接着性疎水化ゼラチンシートの胃ESD後潰瘍に対する有用性



かった。ii) 新生血管数が有意に増加した。
iii)固有筋層の萎縮・線維化 (AF score) が有意に低下した(Figure 1)。

その後、シート製剤は使用部位を制限すること、デリバリー性の問題から、ゼラチン噴霧型製剤にその剤形を変更し(Figure 2)、シート剤同様、クラウン系ミニプタを用いた検討を行った。その結果、噴霧製剤を噴霧した胃 ESD 後の人工潰瘍は、噴霧なしの潰瘍に比較し、(i)粘膜下層の炎症細胞浸潤を有意に抑制した (Figure 3)、 α -SMA 陽性細胞が有意に少なかった (Figure 4)。また、新生血管数が有意に増加した (Figure 5)。以上より、新規高接着性ゼラチン噴霧型被覆剤は、これまでのシート剤同様に胃 ESD 後潰瘍の粘膜下層の炎症・線維化を抑制したことを明らかにした。

さらに噴霧型被覆剤の ESD 後潰瘍穿孔閉鎖能力について検討した。その結果、切除胃を用いた胃 ESD 後潰瘍穿孔モデルにて直径 2.7mm の穿孔を胃内圧 26mmHg まで加圧しても、持続して穿孔部を閉鎖することを確認した (Figure 6)。加えて、生体ミニプタを用いた十二指腸 ESD 潰瘍微小穿孔モデルにて噴霧製剤を ESD 後潰瘍に噴霧することにより、筋層および漿膜側への炎症を抑制可能であったことを肉眼所見および病理学的所見にて確認した (Figure 7,8)。

噴霧製剤への剤形変更により、臨床応用へ大

Figure.2 疎水化シートから疎水化マイクロ粒子 (Hydrophobized Microparticles : hMPs)への剤形変更

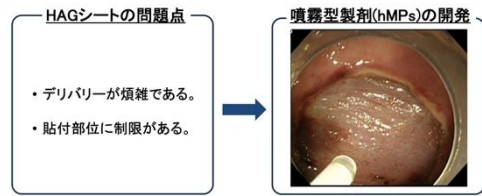


Figure.3 胃ESD後潰瘍に対する粘膜下層の抗炎症効果

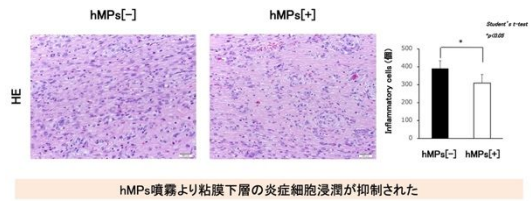


Figure.4 胃ESD後潰瘍に対する粘膜下層の抗線維化効果

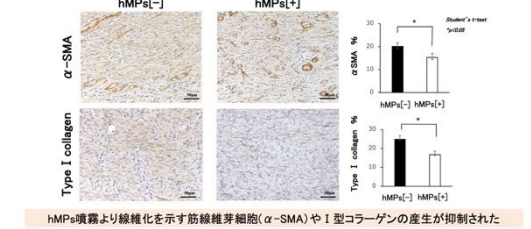


Figure.5 胃ESD後潰瘍に対する粘膜下層の血管新生能

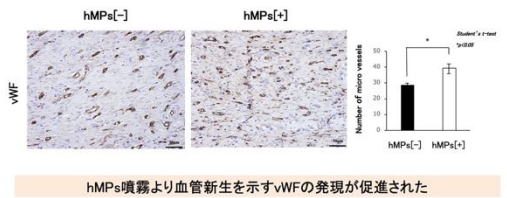


Figure.6 胃ESD穿孔モデルにおける穿孔被覆効果

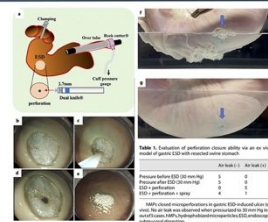
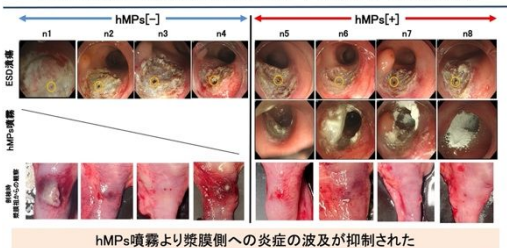
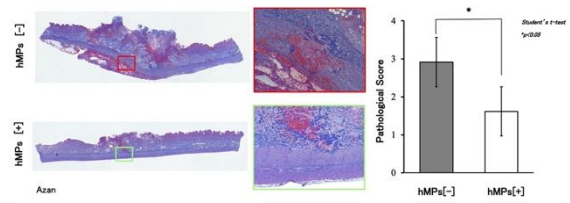


Figure 7_十二指腸ESDモデルに対する微小穿孔被覆効果



きく前進できた。しかし、HGF 含浸疎水化ゼラチン製剤については、膜型および噴霧型ともに、rh-HGF の不安定性およびその半減期の短さから、消化管潰瘍での研究での有用性は明らかにすることができなかった。

Figure8_十二指腸ESDモデルに対する抗炎症効果



hMPs噴霧の漿膜側への炎症波及抑制効果が病理学的に示された

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Maeda Hidehito, Sasaki Fumisato, Morinaga Yuko, Kabayama Masayuki, Iwaya Hiromichi, Komaki Yuga, Arima Shiho, Nasu Yuichiro, Tanoue Shiroh, Hashimoto Shinichi, Kanmura Shuji, Nishiguchi Akihiro, Taguchi Tetsushi, Ido Akio	4. 巻 102
2. 論文標題 Covering Post-Endoscopic Submucosal Dissection Ulcers in Miniature Swine with Hexanoyl (Hx:C6) Group-Modified Alkaline-Treated Gelatin Porous Film (HAG) Induces Proper Healing by Decreasing Inflammation and Fibrosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Digestion	6. 最初と最後の頁 415 ~ 427
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000509056	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Masayuki Kabayama, Fumisato Sasaki, Akio Ido
2. 発表標題 Usefulness of sprayable, highly adhesive, hydrophobized gelatin microparticles following endoscopic submucosal dissection : A miniature swine model
3. 学会等名 The 101st Congress of the Japan Gastroenterological Endoscopy Society
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 樺山雅之、佐々木文郷、前田英仁 上村修司、井戸章雄
2. 発表標題 高接着性ゼラチン疎水化マイクロ粒子の ESD後潰瘍に対する作用
3. 学会等名 第101回日本消化器内視鏡学会九州支部例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Fumisato Sasaki, Masayuki Kabayama, Akio Ido
2. 発表標題 Ability of closure for post-endoscopic submucosal dissection perforation by hydrophobized microparticles (hMPs) wound dressing
3. 学会等名 JDDW2021
4. 発表年 2021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
---------	---------