

平成 22年 4月 1日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）
 研究期間：2008 ～ 2009
 課題番号：20890125
 研究課題名（和文） 早期食道癌全周性切除後狭窄に対する予防法の開発
 研究課題名（英文） Development of the prevention for the esophageal stenosis after endoscopic resection of all circumferences for early esophageal cancer

研究代表者
 豊永 高史（TOYONOGA TAKASHI）
 神戸大学・医学部附属病院・准教授
 研究者番号：40464268

研究成果の概要（和文）：

本研究は、早期食道癌に対し、より低侵襲治療を目指す消化器内視鏡治療分野、とくに広範囲粘膜切除術において、しばしば問題となる術後食道狭窄の予防をキチン含有微生物由来バイオマテリアルシートを用いて行うという試みである。本研究では、生体ブタモデルを用いた広範囲食道粘膜切除による狭窄モデルの開発に成功、また、生体ブタ皮下移植モデルによるキチン含有微生物由来バイオマテリアルシートの有効性を確認した。消化管での検討では、シートがずれたり、破れたりと潰瘍部にとどまらせることが困難であり、現在、原材料の改良など、さらなる工夫・改良を行っている。

研究成果の概要（英文）：

In digestive endoscopy field aspiring to less invasive therapy, especially extensive endoscopic submucosal dissection (ESD), the stenosis after ESD is a serious problem. In this study, we examine the prevention for extensive ESD for early esophageal cancer using chitin-containing biomaterial sheets derived from yeast. We succeeded in developing of the esophageal stenosis model after extensive ESD and confirmed the effectiveness of the biomaterial sheets for subcutaneous implantation model using a living pig. In the digestive tract, it was difficult to fix the sheets on the ulcer, we are making the improvement of the raw material and further device.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,340,000	402,000	1,742,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,540,000	762,000	3,302,000

研究分野：内科系臨床医学

科研費の分科・細目：消化器内科学

キーワード：早期食道癌、バイオマテリアルシート、生体ブタモデル

1. 研究開始当初の背景

我が国において食道癌は5対1の割合で男性に多く、その死亡率(人口10万対)は1980年から2001年の約20年間に男性で7.8から14.7へと88%増加、女性も2.1から2.6へと24%増加し、悪性新生物の死亡率ではそれぞれ第6位と第13位に位置している。また、食道は解剖学的に他の消化器臓器と異なり漿膜を有していないことから、食道癌は周囲に浸潤しやすく、またリンパ節転移も多く全体として予後不良な疾患である。食道癌の治療法は一般的に次にあげる3本柱である。すなわち、1. 内視鏡的切除、2. 外科的切除(手術)、3. 放射線化学療法である。過去の多数の手術例の検討から、粘膜上皮内(m1)、あるいは粘膜固有層にとどまる(m2)場合、リンパ節転移の可能性は0%とされており、粘膜筋板に達する(m3)、あるいは粘膜下層表層にとどまる(sm1)場合は10から15%とされている。したがって2002年12月に発行された「食道癌治療ガイドライン」においては、内視鏡的切除の絶対適応として深達度的にm1ないしm2、周在性2/3以下、相対適応として画像上リンパ節転移を有しなければ同様に深達度的にm3ないしsm1、周在性では術後狭窄の観点から内視鏡治療後の粘膜欠損が3/4周以上となるものとされている。

一方近年、内視鏡機器開発・技術の進歩は著しく、消化管腫瘍に対する内視鏡的治療法は急速な発展を遂げ、内視鏡的粘膜切除術

(Endoscopic Mucosal Resection; EMR) の時代から内視鏡的粘膜下層剥離術 (Endoscopic Submucosal Dissection: ESD) の時代へと大きく変貌しつつある。ESDは1983年の平尾らによるERHSE法 (Endoscopic Resection with Hypertonic Saline- Epinephrine) (胃の腫瘍性病変に対する内視鏡的切除法, 平尾雅紀, Gastroenterol Endosc 25: 1942-1953, 1983) を基に開発・改良された手技で、1998年に細

川、小野らによるITナイフ法 (早期胃癌の内視鏡的粘膜切除術, 細川浩一, 癌と化学療法 25(4): 476-483, 1998)、2001年に小山によるHOOKナイフ法(食道癌に対するEMRの新しい選択方法; 新しいEMR手技-Hooking EMR methodの有用性, 小山恒男, 臨床消化器内科 16: 1609-1615, 2001) 等として進化を遂げた。ESDは日本独自の世界に誇る画期的方法であり、スネアリングによる従来のEMRに比べ、病変周囲の粘膜層を切開後、粘膜下層を直接内視鏡で視認しながら病変部を剥離切除するため、大きさや潰瘍痕の有無に関わらず腫瘍の一括完全切除が可能で正確な病理組織学的評価が可能、遺残再発率の減少、内視鏡治療の適応拡大に伴うover surgeryの減少などの利点がある。

本研究の代表者である豊永は2001-2002年にかけて、岸和田徳洲会病院, 神戸大学医学部附属病院にて主に IT ナイフ、フラッシュナイフを用いたESDを導入し現在までに胃病変を中心として合計で約1000例以上の早期消化管癌のESD治療を行い、一括切除率97%と非常に良好な治療成績をおさめてきた。

最近では早期食道癌においても積極的にESDによる治療を行い、現在までに約650例を施行している。その中には外科的切除(手術)による肉体的負担から、内視鏡的切除の相対適応病変も多数含まれるが、前述のように広範囲病変の内視鏡治療においては食道の管腔が狭いことから生じる術後狭窄の問題が残されている。そのような場合、術後狭窄予防のためESD後、週1から2回の頻度で、数か月にわたり内視鏡的バルーン拡張術を行っているが、患者に大きな肉体的、経済的負担を強いることになっている。よって低侵襲治療である内視鏡治療の利点を活かすため、何らかの術後狭窄の予防に関する新たなアプローチが必要であると考えられる。

2. 研究の目的

我々はこのようなESD治療後の狭窄を予防するために、切除部を細胞培養シートで覆うことを考えた。これまで、ヒト、牛、ブタ、魚などのコラーゲン質を中心とした生物由来のものがあるが、これらは強度や品質の安定性に問題がある。また、ポリグリコール酸やポリ乳酸、ポリエステル、ポリ塩化ビニールなど、また、それらの重合体などの高分子化学合成品なども存在するが、これらは生体吸収性に劣っていることが臨床応用の課題となっている。これらの問題点を克服可能な生体親和性に優れた、より物性に優れた医療材料が求められている。近年、神戸大学農学部ならびにイーストマン(株)が開発したKGF菌という植物、食物の常在菌である酵母菌由来のキチン・キトサン含有多糖体は、これらの求められる要件に答える極めて優れた生体親和性を保持していることが明らかになった。これは人体の細胞・組織を構成する重要な成分のひとつであるN-アセチルグルコサミンがいくつにも繋がった(β -1,4結合)ヒアルロン酸と同じ基本骨格を持つ高分子多糖体である。この酵母菌由来バイオマテリアルの特徴として、特殊な溶媒を用いる事なく、水に容易に分散可能であるため、簡単な工程で乳状化、ゲル化、シート化が行える。更に生体内への吸収が良く、生体親和性に優れ、さまざまな成長因子を誘導することが予備実験で確認されている。これらの条件は、生態材料として極めて高いポテンシャルを備えていることから、医療用の創傷保護材、すなわち早期食道癌のESD治療後に応用できないかと着想した。

そこで今回、早期食道癌に対する広範囲切除の合併症である術後食道狭窄の予防に、切除後にバイオマテリアルを貼り付けること

で可能かどうかを検討する。

3. 研究の方法

(1) 生体ブタモデルを用いた広範囲食道粘膜切除による狭窄モデルの開発

現在我々は、神戸ポートアイランド内に開設された「神戸医療機器開発センター、Kobe Medical Device Development Center (MEDDEC)」に入居しており、そこではウェットタイプの実験ラボ、内視鏡処置に最適な実験用オペ室、3T-MRIやX線システム、ブタ飼育観察施設を完備しているため、ミニブタ生体を用いた各種動物実験が対応可能となっている。具体的には全身麻酔を施行したミニブタの食道に全周性の仮想病変を想定し、ESDによる全周性の食道粘膜切除術を行う。すなわち、ESDの型通り、食道壁は非常に薄いため、術中穿孔予防のため粘膜下層に生理食塩水で希釈したヒアルロン酸ナトリウムを局注し、十分に筋層との距離を確保した後、フラッシュナイフTM等の電気メスを用いて食道粘膜を切開した後、直接粘膜下層を視認しながらそのまま粘膜下層の剥離を行い、仮想病変の切除を行う。ここに筋層表面が露出した人工潰瘍を有する「狭窄モデル」が出来上がる。一般的にこのままProton Pump Inhibitor (PPI)等の酸分泌抑制剤や粘膜保護剤を投与しても約2週間で食道は完全に狭窄することが知られている(消化器内視鏡 vol. 19, No. 5, 679-688, 2007)。なお、このモデルの作製はESD専門の内視鏡医である豊永行う。これまで食道におけるESDを合計650例以上経験しているため、手技においては、まったく問題がないと考えられる。

(2) 生体ブタ皮下移植モデルによるキチン含有微生物由来バイオマテリアルシートの機能評価

本申請で用いる酵母由来キチン含有多糖

体シートが医療用創傷保護被覆剤として適合する特定・機能を備えているかどうかの検証するため、生体ブタ皮下移植モデルにおける検討を行う。

生後6週齢のミニブタに酵母由来キチン含有多糖シートを3cm四方の大きさに裁断し用いる。対象として市販の海老・蟹由来の医療材料であるキチン創傷保護シートを同様の大きさ、質量のものを使用する。この2つのシートをミニブタの右側ならびに左側の背部の皮下ならびに真皮との間に、それぞれ12箇所ずつ移植し、切開部位を閉じて縫合する。この後、飼育管理して経過観察を行い、移植後30日目、60日目、90日目にそれぞれ3箇所ずつ移植部位の皮膚組織を採取して組織切片を作成する。得られた食道組織のパラフィン切片を用いたヘマトキシリン・エオジン染色を用いて、病理組織評価を検討する。

(3) 酵母由来キチン含有バイオマテリアルシートを用いた食道予防効果の検討

上述1.の要領で作製した「狭窄モデル」において、キチン含有微生物由来バイオマテリアルシートを内視鏡を用いて人工潰瘍部に移植し、その経時的変化を観察する。すなわち、拡大内視鏡を用いて、シート周囲の新生血管出現の有無、さらにはシートの生着具合や狭窄の有無につき詳細に観察する。シート移植後30日目位を目途にミニブタを安楽死させ、食道を摘出し、組織学的な変化を詳細に観察する。

4. 研究成果

(1) 生体ブタモデルを用いた広範囲食道粘膜切除による狭窄モデルの開発

全周性切除の長径を10cm以上剥離することで確実に狭窄病変をミニブタモデルで作成可能であることを確認した。

(2) 生体ブタ皮下移植モデルによるキチン

含有微生物由来バイオマテリアルシートの機能評価

これまでにマウスを用いた同様の皮膚移植実験では、移植30日後、酵母由来キチン含有多糖シートは50%が生体に吸収されていた。コントロールの海老・蟹キチン創傷保護シートは、ほとんど生体内への吸収は認められなかった。興味深いことに酵母由来キチン含有多糖シートの埋没部位に向かって新生血管の発現がコントロールシートの約10倍程度認められた。生体ブタモデルにおいても、同様の結果が認められ、これらは、キチン含有多糖シートは、海老・蟹キチン創傷保護シートと比較して、生体親和性に優れていると考えられた。

(3) 酵母由来キチン含有バイオマテリアルシートを用いた食道予防効果の検討

消化管での検討では、ブタの人口食道潰瘍に酵母由来キチン含有多糖シートを貼ることを試みていたが、シートがずれたり、破れたり潰瘍部にとどまらせることが困難であった。そこで同じ成分の液状の薬液を作り、現在、潰瘍周囲に局注を行うことを検討している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

豊永 高史 (TOYONOGA TAKASHI)

神戸大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：40464268