

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07991

研究課題名（和文）UV照射で可逆的に拡張 収縮する胆道ドレナージステントの創製

研究課題名（英文）Creation of a biliary drainage stent that expands and contracts reversibly with UV irradiation.

研究代表者

殿塚 亮祐（Tonozuka, Ryosuke）

東京医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40532239

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：光に反応して硬化が軟化する新しいステントの開発を目的とした。異なる波長の光照射を行うことで硬化・軟化するクマリン化ゼラチン（CG）ステントを作製した。机上実験では、CGステントが十分なUV照射を行うことで硬化することが確認された。ステントの拡張を試みたが破断し、柔軟性の課題が残された。一方で、生体内でのステント留置と拡張、硬化を実現するために、既存の拡張用バルーンカテーテルと細径光ファイバーを用いて作製を試みたが、カテーテルの外側まで十分なUV光が得られなかった。生体内での実現のためには、光反応性ゼラチンの柔軟性と高出力UV光源との接続を可能とするシステムの開発が課題と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既存の胆管を含めた消化管用ステントでは、閉塞をたびたび起こし患者のQOLを著しく障害していた。そのため、新たな胆管ステントの開発、創生が求められていた。本研究では、新たな概念である異なる波長のUV光照射により硬化・軟化するクマリン・ゼラチン（CG）ステントの開発を行なった。机上実験では、独自に作製したCGステントが、十分なUV照射により硬化することが確認され、本ステントが生体内に留置できた場合には、より長期のステント開存や容易な交換の実現が期待された。一方で、より柔軟性のある素材の選定や、より強度の強い照射を可能とするUV照射システムの開発が今後の課題として明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：The aim was to develop a new stent that reacts to light to harden or soften. A coumarin-gelatin (CG) stent, which hardens or softens with irradiation of light of different wave lengths, was fabricated. Benchtop experiments confirmed that the CG stent hardens sufficiently with UV irradiation. Attempts to expand the stent led to rupture, leaving the challenge of flexibility unresolved. Meanwhile, in pursuit of deployment and expanding the stent in vivo, and achieving hardening, attempts were made using a balloon catheter and thin optical fibers. However, adequate UV light could not be reached beyond the exterior of the catheter. For realization in vivo, the challenge identified was the development of a system that allows the flexibility of the photo-reactive gelatin and the connection to a high-output UV light source.

研究分野：消化器内視鏡

キーワード：光硬化ステント

## 1. 研究開始当初の背景

光刺激により可逆的に硬化・軟化を示す、従来にない消化管ステントのコンセプト創出を本研究の目的とした。研究代表者は胆膵内視鏡の日常臨床において、既存のステント、すなわち早期に閉塞するプラスチックステント (PS) および閉塞後の抜去が困難なメタルステント (SEMS) が、がん患者の治療後生存期間の延長に対応できていないという深刻な課題に直面していた。

## 2. 研究の目的

本研究では、バルーンで拡張可能な光応答性素材として coumarin 化ゼラチン (CG) を開発し、それを軟質チューブステント (CG ステント) に成型する。in situ 光照射により硬化させて閉塞胆管を開通させ、その後に波長を変えた照射により軟化させて容易に抜去する『可逆的硬軟化ステント』を世界に先駆けて創出する。

## 3. 研究の方法

### (1) Coumarin の選択と光化学的特性

水溶性が期待できる 3 種類の coumarin 誘導体を選択した。これらの誘導体粉末を純水に懸濁させ、塩酸もしくは水酸化ナトリウムを添加して酸性 ( $\text{pH} > 2$ ) もしくはアルカリ性 ( $\text{pH} < 10$ ) へと変化させ、水溶性を目視で確認した。得られた水溶液の UV スペクトルを紫外可視分光光度計で測定した。

### (2) CG の合成と光架橋評価

#### ・CG の合成

濃度 2% の牛骨ゼラチン水溶液に 7-(Carboxymethoxy)-4-methylcoumarin (7C4M) 水溶液を加えた後、架橋剤として 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDC) 粉末を加えて攪拌し、CG を合成した。一定時間経過後にセルロースチューブを用いた流水透析を開始し、反応を停止させるとともに CG 以外の水溶性成分を除去した。透析内容物を凍結乾燥し、精製 CG を得た。本合成においては、7C4M の COOH 基とゼラチンの NH<sub>2</sub> 基のモル比、および EDC とゼラチンのモル比を変化させた。精製 CG の置換度 (ゼラチンの NH<sub>2</sub> 基に coumarin が結合した割合) はトリニトロベンゼンスルホン酸を用いた常法により決定した。

#### ・CG の光架橋

石英セルに入れた CG 水溶液に対し、極大吸収波長 ( $\lambda_{\text{max}}$ ) 近傍の UV を、バンドパスフィルター付きキセノン光源 (MAX-301, 朝日分光社製) で一定時間照射した。UV スペクトルの変化を追跡した。波長  $\lambda_{\text{max}}$  のバンドパスフィルターを通過させた UV、もしくは極大吸収波長  $\lambda_{\text{max}}$  を有する LED 光源から得られた UV を “UV  $\lambda_{\text{max}}$ ” と表記する。

### (3) ゼラチンの軟質化

経済的な観点から CG を基材に用いた実験が困難であったため、CG の原料である牛骨ゼラチンを基材に用いて糖類およびポリオールによる軟質化を試みた。可塑剤には糖類 (グルコース (GLU)、フルクトース (FRU)、スクロース (SUC)) もしくはポリオール (グリセロール (GLY)、1,3-ブチレングリコール (BG)、プロピレングリコール (PPG)) を用いた。可塑剤 / ゼラチン重量比を変えた混合水溶液を風乾し、シート状検体を作製して引っ張り試験に供した。

### (4) CG ステントの作製

CG 水溶液 (0.6 g の CG-A、0.8 g の FRU、および 3.6 g の純水) を 60℃ で調製し、円筒容器に流し込み、円筒の中心に軸を通して両端に蓋をした。冷蔵庫で CG 水溶液をゲル化した後、CG ゲルが付着した軸を円筒容器から取り出し、風乾させた。乾燥した CG を軸から引き抜き、円筒状の CG ステントを得た。

### (5) 内視鏡的 UV 照射系の開発

ガイドワイヤーチャネルを経由してバルーン内部に光ファイバーを通すことができ、かつバルーン内部のルーメンが透明である唯一の市販デバイスとして、胆管用ワイヤーガイド付きバルーン拡張カテーテル (CRE PRO Wireguided Biliary 240cm; Boston Scientific) を選定した。ガイドワイヤー径がわずか 0.89mm であるため、直径 0.90 mm × 長さ 3 m の光ファイバー (ファイバーコア径: 105  $\mu\text{m}$ ; 開口数: 0.22 (ソーラボジャパン社)) をカスタムメイドで作製した。出力に優れるキセノン光源を用いる場合、光ファイバーと光源との光学的接続は事前に設計・作製されたものでなくてはならないため、光源には特注光ファイバーと接続可能なソーラボジャパン社の LED 光源 (M310F1,  $\lambda_{\text{max}}=310 \text{ nm}$ ) を用いた。ファイバーコア径 105  $\mu\text{m}$  の光ファイバーは出力が極めて低いため、光架橋実験には全長 1 m の太い光ファイバー (fiber core 径: 1,500  $\mu\text{m}$ ; 開口数: 0.39 (ソーラボジャパン社)) を用いた。

## 4. 研究成果

### (1) Coumarin の選択と光化学的特性

Coumarin 誘導体の水溶性を表 1 にまとめた。Coumarin-6-carboxaldehyde は酸・アルカリによらず水に不溶で、エタノールにも不溶であった。DMSO には可溶化された。7-Hydroxycoumarin はアルカリ側で水に可溶化されたが、酸を加えて pH を中性にすると析出した。一方、アルカリ側で可溶化された 7C4M は中和しても析出せず、PBS で pH をコントロールできた。そこで本研究では、CG の合成に 7C4M を用いることにした。

PBS にわずかに溶解した 7C4M は波長 321 nm に極大吸収を示した。アルカリで高濃度に可溶化した 7C4M のスペクトル形状は大きく変化したが、中和によって PBS に溶解した 7C4M と同一になった。このことから、アルカリでの可溶化は 7C4M の化学構造に変化を与えず、CG の合成に利用できることが示された。

## (2) CG の合成と光架橋評価

7C4M を用いてゼラチンに coumarin 基を導入した。ゼラチンに対する 7C4M の添加量が高くなるほど、そしてゼラチンに対する EDC の添加量が高くなるほど、ゼラチンの coumarin 置換度が増加した。この結果を受け、7C4M の大量合成条件を以下のように決定した：

- $7C4M-COOH / Gelatin-NH_2$  [mol/mol] = 40
- EDC / gelatin [wt/wt] = 1.5

この条件で合成した CG を“CG-A”と呼称する。

CG-A の水溶液に対して  $UV_{>300}$  を照射したときの UV スペクトルの変化を計測した。max のピーク強度は照射時間とともに減少し、CG-A に導入された coumarin 基間の 2+2 cycloaddition が生じたことが実証された。一方、2+2 cycloaddition 後の CG-A に  $UV_{250}$  を照射すると、max のピーク強度は部分的に回復した。この結果は、結合した一対の coumarin 基に cyclocleavage が生じたことを示すが、回復率は十分でなかった。 $UV_{250}$  の波長が短いため、CG-A 水溶液に対する透過率が低いことがその原因と考えられた。この程度の cyclocleavage が CG ステントの柔軟化に寄与するかどうかについては、評価には力学試験が必要である。

## (3) ゼラチンの軟質化

ゼラチンは室温でガラス化するためバルーン拡張が困難であり、拡張する柔軟性を付与するためには可塑剤の添加が有効である。CG-A を基材として可塑剤の検討を行うことが理想であるが、7C4M が高価であるため、原料の牛骨ゼラチンを基材とした可塑剤の評価を行った。可塑剤として、食品向けゼラチンの可塑剤として用いられている糖類およびポリオールから有望と思われる 6 種類を選択した。ゼラチンシートの引っ張り試験により得られるヤング率(硬さの指標)と可塑剤添加量の関係を調べた。可塑剤の過疎化効果の序列は  $GLY > FRU > GLU > SUC > BG > PPG$  であった。GLY の過疎化効果は著明であったが、ゼラチン基材にべたつきを生じた。同様に、GLU および BG でもべたつきを生じた。以上の結果から、ステント用ゼラチン基材の可塑剤として FRU を選択した。

## (4) 軟質化 CG-A の UV 架橋

FRU で軟質化した CG-A シートに対し、LED 光源から  $UV_{310}$  を照射した。用いた LED 光源から発生する UV は 310 nm の max を持ち、きわめて狭い波長分布を示す。蛍光板で照射範囲を確認した後、円盤状の乾燥 CG-A 試験片に一定時間  $UV_{310}$  を照射した。水溶性により求めた架橋度は  $UV_{310}$  照射時間とともに増加し、照射時間 10 min で架橋度は 71% に達した。この結果は、十分な強度の UV を CG ステントに照射できれば胆管内でステントを効果できることを示唆した。

#### (5) CGステントの拡張とUV架橋

項目3 - 5で柔軟性を最適化したCGステント(CG-A基材)であったが、バルーン拡張により破断した。FRUによる過疎化により屈曲性は得られたものの、拡張に追随する柔軟性は得られなかった。ゼラチンを coumarin で修飾したことにより分子の疎水性が高まり、過疎化効果が得られにくくなったものと推察された。ガイドワイヤーチャンネルを通すことができる細径の光ファイバーを開発したが、出力が不足してバルーン(ポリウレタン)外部まで透過するUV光は微弱であることが蛍光板を用いた定性的評価により確認された。CGステントのバルーン拡張と架橋を実現するためには、原料の牛骨ゼラチンではなくCGを基材とした柔軟性を確認したうえで、LED光源ではなくキセノン光源と細径光ファイバーを接続するコネクタの開発が必要と考えられた。

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	柚木 俊二  (Yunoki Shunji)  (20399398)	北海道大学・産学・地域協働推進機構・特任教授   (10101)	
研究分担者	系井 隆夫  (Itoi Takao)  (60338796)	東京医科大学・医学部・主任教授   (32645)	

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