

審査の結果の要旨

氏名 戚 蟠

本研究は内視鏡的粘膜下層剥離術（ESD）後の食道狭窄を予防するため、*in situ* で架橋できる且つ ESD 後の粘膜下層への接着性を有するハイドロゲルや粉体材料の開発、及び長さ 1m、直径 3.2mm の内視鏡チャンネルを通して粉体を散布できるデバイスの開発を目的とした。また、食道狭窄予防材料を評価するための適切な小型動物モデルが存在しなかったため、本研究で初めて ESD 起因の狭窄に極めて近いラット食道狭窄モデルを開発した。このモデルを用いて材料の狭窄防止効果を評価し、下記の結果を得ている。

1. ESD 起因の狭窄に近いラット食道狭窄モデルの開発を試みた。ESD を模擬するため、小動物用内視鏡で観察しながら、ヤスリとトリプシン・EDTA を併用することで、ラット食道の粘膜下層まで剥離するモデルの作製に成功した。この食道狭窄モデルの病理特徴は ESD 後の狭窄と極めて似ていることが確認できた。
2. ESD 後の粘膜下層と正常の粘膜層への接着性を有する *in situ* で架橋できるハイドロゲルの開発を検討した。ゼラチン(Gela)とトランスグルタミナーゼ(TG)を混合し、ESD 後の粘膜下層に架橋されることで、材料が創傷部位に接着することができた。アルギン酸(Alg)は  $\text{Ca}^{2+}$  の存在下で瞬時にゲル化し、マレイミド修飾アルギン酸(Alg-Mal)を用いて、正常食道粘膜への接着性を向上させることができた。また、開発したラットモデルにおける食道狭窄防止効果の評価を行った結果、Alg-Mal/  $\text{Ca}^{2+}$  と Gela/TG の混合材料はラットの体重減少、 $\alpha$ -SMA 発現量の差が見られなかったが、再上皮化を促進し、コラーゲン蓄積を抑制する効果が観察された。また、混合材料は Control より高い食道開存率を示したため、これらのハイドロゲルは *in situ* で架橋できる食道狭窄防止材料として使用できることが示された。
3. 内視鏡下での操作性を考慮し、内視鏡チャンネル経由で散布できる *in situ* 架橋粉体の開発を行った。粉体を濡れた食道表面に散布し、組織表面に付着した粉体の上から液体架橋剤をかけることで、粘膜下層のコラーゲンと架橋され、さらに長時間の接着ができた。Alg と Gela 粉体の粒子サイズを測定し、吸水膨潤を観察し、粉体接着量及び必要架橋剤の量を測定した上で、ブタ食道を用いて組織接着性を評価し、正常粘膜には約 10 日間、粘膜下層には 2 週間ほどの材料接着が検証された。さらに、ラットモデルにおける食道狭窄防止効果の評価を行い、Alg/ $\text{Ca}^{2+}$  単体投与群と Alg/  $\text{Ca}^{2+}$ +Gela/TG の混合材料群の食道開通率は Control 群よりが高かったが、両群の間に有意差は見られなか

った。Alg/ Ca<sup>2+</sup>+Gela/TG の混合材料は再上皮化を促進し、コラーゲン蓄積を抑制する効果が見られた一方、Alg/Ca<sup>2+</sup>単体投与群と比べると、 $\alpha$ -SMA 発現量の有意差が見られなかった。これらの結果からは ESD 後の食道狭窄の重症度を軽減できると示唆された。

4. 医療現場で使用されるシチュエーションを考慮し、内視鏡の鉗子口からデバイスを挿入し、細長い内視鏡鉗子孔チャンネルを通して粉体材料を散布するデバイスを設計と作製した。粉体の飛行方向をコントロールするため、3D CAD ソフトでアプリケーションの先端ノズルをデザインし、3D プリンターを用いて作製した後、粉体散布の条件を最適化した。本研究で開発したデバイスを用いて粉体を散布することで、材料が ESD 部位に満遍なく且つ効率的に付着させることに成功した。
5. ブタを用いて材料とデバイスの評価を行い、2 週間評価する時に材料が残存している検体の食道開存率が高いことが観察された。食道開存率の低い検体にはより高い再上皮化率を持っていることから、再上皮化速度が早ければ狭窄も予防できるという考え方は必ずしも正しいとは限らないことがわかった。また、検体の Masson Trichrome 染色の結果から、線維化浸潤の厚さや食道の狭窄率は内輪筋の萎縮率との関係性は見られなかった。そして、 $\alpha$ -SMA 発現量の評価によって、材料残存している検体と術後 1 週間評価した個体ではより低い  $\alpha$ -SMA 発現率を示している、狭窄率と内輪筋萎縮率の高い検体にはより高い  $\alpha$ -SMA 発現率が観察された。

以上本論文では、新規食道狭窄防止材料を開発するにあたって、内視鏡下での操作性を考慮し、スプレーで投与可能な材料に着目した。ESD 後の創傷面に接着可能且つ *in situ* で架橋できるハイドロゲルまたは粉体を用いた食道狭窄予防材料の開発に取り組み、ESD 後の食道狭窄の重症度を軽減する効果が得られた。ESD 起因狭窄に極めて近いラット食道狭窄モデルの開発に成功した。本研究で開発したモデルを用いることで、ESD 後食道狭窄の予防または治療するために薬剤や材料設計に重要な貢献をなすと考えられる。

よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。