

(様式4)

学位論文の内容の要旨

中田 昂 印

(学位論文のタイトル)

The feasibility of a fully synthetic and self-assembled peptide solution as submucosal injection material: A preliminary animal study.

自己組織化ペプチド溶液の粘膜下局注材としての有用性に関する先行的研究

(学位論文の要旨)

内視鏡的粘膜切除術や、内視鏡的粘膜下層剥離術などの内視鏡切除術において、粘膜下層への局注は最初のステップであり、治療の成否や偶発症減少の面からも重要な役割を持っている。現在、世界的には生理食塩水が粘膜下層への局注材として広く使用されている。しかし、生理食塩水では内視鏡治療に十分な高さの粘膜下膨隆の形成および維持が難しく、より適切な局注材の開発が望まれている。

優れた粘膜下局注材の条件は、十分な高さの粘膜下膨隆を形成し、維持できることである。そこで我々は、これまで開発してきた自己組織化ペプチド溶液の新規粘膜局注材としての適性を検討した。

自己組織化ペプチド溶液はアルギニン、アラニン、アスパラギン酸から化学的に人工合成された水溶性のペプチド溶液であり、中性環境下で血液や体液と接触するとペプチドが集合体を形成して即座にナノファイバーを形成してゲル化する。この特徴から、自己組織化ペプチド溶液が粘膜下局注液として最適であると仮説を立て、本研究を行った。

方法として、5匹の生体イヌにプロポフォルで麻酔導入し、イソフルランで全身麻酔を維持した後、腹腔を開放した。その後、胃と大腸を切開して粘膜面を露出し、サンプルの粘膜面が水平になるように板へ固定した。

粘膜下膨隆能の比較のために、0.3%の自己組織化ペプチド溶液の他に、市販の局注液である、E leview、ヒアルロン酸ナトリウム溶液、生理食塩水をそれぞれ0.5mlずつ、全てのイヌの胃および大腸の粘膜下層にランダムに局注した。局注液の情報を知らない独立した研究者が、粘膜下膨隆の高さ・長軸・短軸を、デジタルノギスを用いて局注直後、10, 20, 30, 40分後にそれぞれ測定した。体積は測定した結果をもとに算出した。

形成した粘膜下膨隆の高さおよび算出した体積の平均値を、一元配置分散分析を用いて比較した。一元配置分散分析の結果が有意であった場合、追加でBonferroniの多重比較検定を行い、実際のどの物質間で有意差が生じていたのかを評価した。

また、組織傷害性を評価するため、粘膜下出血、浮腫、粘膜下細胞浸潤、炎症細胞の存在、粘膜固有層の出血や浮腫を、Slight (1+) , Mild (2+) , Moderate (3+) , Severe (4+) の4段階に分けた独自のグレーディングシステムを作成した。局注の情報を知らない動物病理学者が、本グ

レードを用いて病理組織学的評価を行った。

結果は、大腸において自己組織化ペプチド溶液局注部の粘膜膨隆能は高さ・体積において他の3つの局注液と比較し、同等以上の良好な成績を示した。また、Eleviewや生理食塩水と比較すると時間経過による急な低下がみられず、高さ・体積ともに時間経過後も維持されやすい結果がみられた。

一元配置分散分析の結果は、局注後20分後の高さ・体積、40分後の高さ・体積のいずれにおいても有意であった。自己組織化ペプチド溶液の粘膜下膨隆は、局注20分後の時点で生理食塩水に対して高さ・体積ともに有意に上回る結果を示した。局注40分後の時点ではEleviewと生理食塩水に対して有意に高く、生理食塩水に対しては体積も有意に上回る結果であった。

胃における結果は大腸での結果と比較するとやや劣るものの、大腸の場合と同様に時間経過による急な低下がみられず、高さ・体積ともに時間経過後も維持されやすい結果がみられた。

一元配置分散分析をおこなうと各計測時点で有意な結果を認めたが、追加のBonferroniの多重比較検定を行うと、自己組織化ペプチド溶液とヒアルロン酸ナトリウムの間には統計学的な有意差は認めなかった。

また、各粘膜下局注液による粘膜下膨隆部の病理組織学的検討によると、大腸・胃の両方で、自己組織化ペプチド溶液とそのほかの局注液の病理組織学的な傷害スコアに有意差は認めなかった。

本研究から、自己組織化ペプチド溶液が粘膜下局注材として、適切に使用できる可能性が特に、大腸で示唆された。胃と大腸で結果が異なる理由は明らかではなかった。

自己組織化ペプチド溶液はいくつかの特徴を有しており、次のことが臨床的使用における利点になる可能性が考えられる。本ペプチド溶液は、完全人工合成により生成されるため、使用に伴う感染リスクがない。さらに、局注前は液体であるため、粘膜下局注時に扱いやすいという利点もある。また、本剤はナノファイバーから構成されたゲルを形成し、組織学的な再生を促進することも知られている。こうした特徴は、従来の局注液にはない、本ペプチド溶液特有のものである。今回の実験は粘膜下膨隆能に注目したものであったが、今後更なる実験により、本剤のもつ組織再生学的機序が治療に伴う偶発症を減少できるか、確認していく予定である。

本研究において、自己組織化ペプチド溶液は高く、かつ維持されやすい粘膜下膨隆を安全性をもって形成することができたことから、本剤の粘膜下局注材としての使用可能性が示された。

今後、本剤の臨床的使用に向けて、更なる研究を進めていく予定である。