

博士学位論文審査要旨

2019年2月14日

論文題目： APPLICATION OF SODIUM ALGINATE AS A MEDICAL MATERIAL AIMED TO PREVENT AIR LEAK AND ADHESION
アルギン酸ナトリウムのエアリークと癒着の防止のための医療材料への応用

学位申請者： 的場 麻理

審査委員：

主　　査： 生命医科学研究科 教授 市川 寛
副　　査： 滋賀医科大学医学部 客員教授 萩原 明於
副　　査： 草津総合病院 副院長 ト部 諭

要　　旨：

術中術後に生じる肺等からの空気漏れ（エアリーク）や、内臓からの消化液漏出は、合併症に繋がりかねない大きな課題である。現在の一般的な対策は、ポリグリコール酸（PGA）等の生体吸収性の縫合補強材やフィブリン糊などのヒト血液製剤の使用だが、その効果は限定的である。加えて、PGAは生体内で癒着を惹起し、フィブリン糊はヒト感染性病原体の感染リスクとそれに関する対策コストがいまなお解決を望まれている。上記の従来材料に替わるバイオマテリアルに、海藻由来の多糖類であるアルギン酸ナトリウムを利用することを着想し、臨床応用を最終的な目標に定めて次の4つの研究を行った。

エアリーク防止効果の検討（STUDY 1 & STUDY 2）：

用手縫合でも自動縫合器使用でもどちらの場合も、脆弱化した肺組織をエアリーク無く縫合閉鎖することは容易ではなく、組織補強材やシーラントが必要となる。どちらの実験も、肺損傷部位の修復を行う場合のエアリーク防止について、PGAとエアリーク防止材（アルギン酸ナトリウムまたはフィブリン糊）の効果を比較検討した。

STUDY 1では、ラット肺のピンポイント損傷部位からエアリークを作製し、アルギン酸溶液の高いエアリーク防止効果を明らかにした。STUDY 2では、胸腔鏡下肺切除手術を想定し、自動縫合器を用いてイヌ肺の部分切離縫合モデルを作製し、自動縫合器との操作性も良いスポンジ状のアルギン酸が高いエアリーク防止効果を示した。

癒着防止効果の検討（STUDY 3 & STUDY 4）

術後、癒着が生じると、術部臓器の機能低下及び腸閉塞や女性の不妊等の合併症を生じる可能性がある。また、エアリーク防止材でもこの課題は非常に重要であるので、術後癒着の防止材が必要となる。STUDY 3ではゲル状のアルギン酸と、STUDY 4ではスポンジ状のアルギン酸とをPGAと併用し、PGA惹起性癒着の防止効果を比較検討した。

どちらの実験でも、肉眼的スコアによる評価で有意に腹腔内癒着防止効果が高いのみならず、組織学的にも炎症・癒着発生時に増殖する線維芽細胞の増殖抑制、癒着発生防止に重要な中皮細

胞層の再生が認められた。

以上、本論文では、臨床的課題を解決するために、臨床的にも安全性に優れたアルギン酸ナトリウムを至適な材形に加工し、エアリーク防止効果および癒着防止効果に優れる新規医療材料を開発し、臨床的課題解決の手段を見出した。

よって本論文は、博士（理学）（同志社大学）の学位を授与するにふさわしいものであると認められる。

総合試験結果の要旨

2019年2月14日

論文題目： APPLICATION OF SODIUM ALGINATE AS A MEDICAL MATERIAL AIMED TO PREVENT AIR LEAK AND ADHESION
アルギン酸ナトリウムのエアリークと癒着の防止のための医療材料への応用

学位申請者： 的場 麻理

審査委員：

主　　査： 生命医科学研究科 教授 市川 寛
副　　査： 滋賀医科大学医学部 客員教授 萩原 明於
副　　査： 草津総合病院 副院長 卜部 諭

要　　旨：

上記審査委員会は、的場麻理氏に対する総合試験を、2019年1月30日午後6時より口頭発表60分、質疑応答30分、口頭試問30分の構成で行った。総合試験において学位申請者は、提出された学位論文の内容や意義、研究の発展などに関する質問に対して的確に応答した。本論文では、動物実験や病理組織といった基礎医学的実験手法に加え、臨床課題やその解決の重要性など、研究背景について広範な専門知識を有していることが示された。申請者は社会人大学生であり、本論文作成にかかる研究時間の確保は容易ではなかったが、クリニックで得た知識等も活用し、工夫と努力によって全うしたことが窺われた。

申請者は、本研究科修了に必要な所定の単位を修得しており、また語学試験「英語」は入学時に合格している。研究を行うに必要な語学力については、本論文は200ページを超える英語論文であり、さらに参考論文にある、学術雑誌 *Biomed Research International* への2本の投稿論文の執筆内容から、申請者が研究遂行上必要な読解能力と英文作成能力を有することが確認された。よって、総合試験の結果は合格と認める。

博士学位論文要旨

論文題目 : APPLICATION OF SODIUM ALGINATE AS A MEDICAL MATERIAL AIMED

TO PREVENT AIR LEAK AND ADHESION

アルギン酸ナトリウムのエアリークと癒着の防止のための
医療材料への応用

氏名 : 的場 麻理

要旨 :

背景 :

呼吸器外科や腹部外科では、肺などの呼吸器の手術部位からの空気漏れ（エアリーク）や、動脈の吻合・縫合部からの血液漏出や腹部内臓の手術部位からの消化液漏出は、手術合併症にも繋がりかねない術中術後における大きな課題である。このようなエアリークや消化液漏出といった課題に対して、現在臨床では、ポリグリコール酸（PGA）などの生体内分解吸収性ポリマーからなる不織布を縫合部補強材として使用したり、ヒト血液製剤であるフィブリン糊をシーラントとして使用する対策が一般的には用いられる。しかし、それらの効果は、たとえ両者を併用しても限定的であることに加えて、PGAなどの生体内分解吸収性ポリマーでは分解吸収に伴い癒着を生じる欠点が大きな課題である。また従来製剤のフィブリン糊などの動物（ヒト）由来の生体材料では、HIVや肝炎のウイルスなどの動物（ヒト）感染性病原体の感染リスクとそれに関する対策コストがいまなお解決を望まれる大きな課題である。

これらの課題に対する解決策の一つとして、筆者は、海藻由来の多糖類でヒトを含む哺乳類の消化酵素では分解されないが生体内で吸収されるアルギン酸ナトリウムを、フィブリン糊に替わるシーラントとして用いると共に癒着防止材としても利用することを着想した。本研究では、アルギン酸ナトリウムの医療材料としての臨床応用を最終的な目標に定めて、そのための基礎的な研究を動物実験により行った。本研究の前半の STUDY 1 と STUDY 2 ではアルギン酸ナトリウムを、従来から臨床で汎用されている補強材の PGA 不織布と併用することで、フィブリン糊よりも優れたエアリーク防止効果を示すか否かを検討し、また後半の STUDY 3 と STUDY4 では術後癒着防止効果について腹腔内癒着モデルを用いて検討した。

エアリーク防止効果の検討 (STUDY 1 & STUDY 2) :

STUDY 1 と STUDY 2 では、縫合閉鎖部位からの内容物漏出の防止対策として、特に呼吸器外科領域で課題となるエアリークに焦点を当てて、その防止効果を検討した。呼吸器の分野では、肺の損傷部位や縫合閉鎖部位からのエアリークは重篤な罹患状態の原因となり、またエアリーク発生により治療入院期間が延長し医療費の高額化の原因となる場合が多く、疾患治療上も医療経済上も重大な課題となるからである。

用手縫合でも自動縫合器使用でもどちらの場合も、肺気腫や炎症で脆弱化した肺組織を縫合閉鎖する場合、エアリーク無く縫合閉鎖することは必ずしも容易ではなく、しばしば縫合部の組織を補強する組織補強材やエアリーク部位のシーラントなどの医療材料の使用が必要となる。従来からこの課題に対する様々なエアリーク防止用の医療材料が検討開発されてきた。しかし、未だにその効果は不十分である。例えば従来からそして現在も組織補強材として最も広く臨床で使用されている PGA 不織布も、他の組織補強材よりも優れたエアリーク防止効果が認められているが、それでもエアリークを十分に防止することは困難である。また従来製剤のフィブリン糊も、総合的には優れたシーラントではあるものの、その効果は限定的であると言わざるを得ない。また両者の併用もその効果は、臨床的に十分とは言い難く、エアリーク防止性能の改良向上が望まれる。

そこで本研究の前半の STUDY 1 と STUDY 2 では肺の損傷部位修復を行う場合のエアリーク防止効果について、アルギン酸ナトリウムと PGA 不織布を併用した場合と、フィブリン糊と PGA 不織布を併用した場合とを比較検討した。STUDY 1 では、最も単純な実験モデルであるラットの肺のピンポイント損傷部位からのエアリークについて、それぞれのエアリーク防止効果を比較検討した。STUDY 2 では、より臨床に近い実験モデルとして、胸腔鏡下肺切除手術を想定し、自動縫合器を用いてイヌの肺の部分切離縫合におけるエアリーク防止効果を比較検討した。

材料と方法 (STUDY 1 & STUDY 2) :

STUDY 1 では、アルギン酸ナトリウムのエアリーク防止材として、アルギン酸ナトリウムを水溶液にして研究に用いた（以下、アルギン酸溶液とする）。ラットの肺を針で穿刺してピンポイントに損傷してエアリークを生ずる状態を作製した。その部位の処置に、アルギン酸溶液と PGA 不織布を併用した場合と、フィブリン糊と PGA 不織布との併用の場合とのエアリーク防止効果と比較検討した。ラットに気管挿管し、その気道内圧を $20\text{cmH}_2\text{O}$ に維持し、針で肺表面を穿刺してエアリークを惹起した。その後、自然に $5\text{cmH}_2\text{O}$ まで気道内圧が下がりエアリークが止まった状態を作製した。この状態で、アルギン酸溶液と PGA 不織布の併用、またはフィブリン糊と PGA 不織布の併用によりエアリーク防止処置を施し、次に徐々に気道内圧を上昇亢進させて人為的に肺を膨らませた。この気道内圧亢進の過程で処置部からの空気漏れを目視で確認でき

た時点の、最も低い気道内圧を破裂圧として測定し、それぞれの破裂圧を比較することによりエアリーク防止効果を検討した。

STUDY 2では、アルギン酸エアリーク防止材として、アルギン酸ナトリウム溶液を凍結乾燥によってスポンジの形状にしたもの用いた（以下、アルギン酸スポンジとする）。アルギン酸スポンジとPGA不織布の併用を含む幾つかのアルギン酸系新規エアリーク防止材、あるいは従来から使用されているフィブリン糊とPGA不織布の併用を含む複数の従来型エアリーク防止材を作成した。これらを自動縫合器による肺の切除（切離縫合）のエアリーク防止材として用いる実験モデルを用い、各防止材の間でエアリーク防止効果を比較検討した。自動縫合器はヒトの肺の手術用に開発されているので、本実験では、ヒトの肺に近いビーグル犬を用い、イヌの肺を自動縫合器で切離縫合した。破裂圧は人工呼吸器に接続した状態で、その人工呼吸器の回路内気圧を測定して決定した。

結果 (STUDY 1 & STUDY 2) :

STUDY 1の結果は、アルギン酸溶液の単独使用の場合であっても、フィブリン糊と同等の破裂圧であった。アルギン酸溶液をPGA不織布と併用すると、フィブリン糊とPGA不織布の併用を含む他すべての群と比べて有意に破裂圧が高かった。STUDY 2の結果は、アルギン酸スポンジ単独使用において十分なエアリーク防止効果を認め、さらに、アルギン酸スポンジをPGA不織布と併用することで、フィブリン糊とPGA不織布の併用を含む従来のすべての製材の単独使用や併用に比較して、有意に高いエアリーク防止効果が認められた。

癒着防止効果の検討 (STUDY 3 & STUDY 4)

STUDY 3とSTUDY 4ではアルギン酸の術後癒着防止効果の検討を行った。PGA不織布は一般臨床で使用される非常に有用な生体吸収性組織補強材である。しかし、生体内で分解される過程で周囲組織のpHを酸性側に傾かせ、癒着を引き起こすという課題がある。一般的に、消化器や胸部、産婦人科などの手術後に胸腹腔内に癒着が生じると、臓器の機能が妨げられ、時には腸閉塞や慢性腹部痛、女性の不妊の原因となり、癒着が生じた部位の手術の困難性や、入院の長期化が医療費を圧迫するなど社会的影響も大である。この様な理由から術後癒着は可及的に防止することが望ましく、エアリーク防止材でもこの課題は非常に重要である。

STUDY 3とSTUDY 4では、PGA不織布にアルギン酸ナトリウムのゲルまたはスポンジ製材をPGAと併用した場合の、PGAによる癒着の課題解決について検討した。

材料と方法 (STUDY 3 & STUDY 4) :

STUDY 3 では、ラットの腹腔内癒着モデルを用いた。PGA 不織布をラット腹腔内の壁側腹膜に固定し、その PGA 不織布上を、カルシウム架橋度の異なる 3 種類のアルギン酸ゲル、あるいはフィブリン糊で覆った状態にした。その後腹壁を縫合閉鎖した。この手術操作の後に PGA により惹起される癒着の防止効果を、アルギン酸とフィブリン糊との間で比較検討した。術後癒着が固定する 8 週間後にラットを犠牲死せしめ、肉眼的癒着スコアによる評価と、ヘマトキシリニーエオシン染色と免疫学的染色標本の顕微鏡的評価により癒着防止効果を評価した。さらに *in vitro* では各癒着防止材上の線維芽細胞の増殖を比較検討した。

STUDY 4 では、手術中の操作性を向上させる目的で、エアリーク防止材としての有効性と癒着防止効果を持ちかつ操作性に優れた補強材として、凍結乾燥によりスポンジ化したアルギン酸ナトリウムと PGA 不織布を一体化させた新材形を新規開発した。この形状でも、STUDY3 で検討した場合と同じように癒着防止効果が発揮されるか否かを、術後 2, 4, 8 週間後に評価検討した。

結果 (STUDY 3 & STUDY 4) :

STUDY 3 でも STUDY 4 でも PGA による癒着惹起に対して、アルギン酸ナトリウムの優れた癒着防止効果が認められた。PGA 不織布との併用では、肉眼的スコアによる評価で有意に腹腔内癒着防止効果が高いのみならず、組織学的にも炎症・癒着発生時に増殖する線維芽細胞の増殖抑制、癒着発生防止に重要な中皮細胞層の再生が認められた。また *in vitro* の研究において、アルギン酸塩の表面での線維芽細胞の増殖を検討した結果、癒着形成や瘢痕形成に主な役割を果たす線維芽細胞の増殖は、アルギン酸塩の表面では抑制されることが明らかになった。

総合結論

臨床で使用されているアルギン酸ナトリウムは、安全性に優れた植物由来の多糖類である。このアルギン酸ナトリウムをゲルやスポンジの材形に加工して PGA 不織布と併用することで、優れた空気漏出防止効果および癒着防止効果を発揮することが可能となった。この結果から、将来的には、アルギン酸と PGA 不織布とを併用したエアリーク防止材は、従来の補強材やシーラントの併用よりもエアリーク防止材効果と癒着防止効果の両面において優れた医療材料として、臨床に応用されることが期待できると考えられる。