

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10808

研究課題名(和文) 咽頭表在癌内視鏡治療後潰瘍に対する扁平上皮細胞シートによる再生医療的治療法の開発

研究課題名(英文) Regenerative medicine therapy by squamous cell sheet transplantation for artificial ulcer by endoscopic assisted surgery for pharyngeal cancer

研究代表者

堀 圭介 (Keisuke, Hori)

東京女子医科大学・医学部・研究生

研究者番号：30749651

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：医療用内視鏡分野の発展により、内視鏡補助下の早期の咽頭癌に対する経口的切除が広く行われるようになってきた。切除後早期合併症の予防、治癒後瘢痕形成による機能障害を予防する為、咽頭に対する扁平上皮細胞シート移植の臨床応用への基盤となる動物モデル(ミニブタモデル)での移植実験を行った。ワークスペースが限られる咽頭内腔における細胞シート移植の為、咽頭領域に扁平上皮細胞シートを運搬する新規移植デバイスを3Dプリンターにより作成した。移植群、対照群を比較した実験において、移植群において有意な創傷治癒の促進効果を確認し、今後の臨床応用に向け、非臨床POCを取得した。

研究成果の概要(英文)：With the improvement of the endoscope technology, transoral surgery supported by endoscopy is widely spreaded as the less invasive therapeutic method for the pharynx superficial cancer. To prevent early complications by inflammations and late complications by scar contracture we conducted the non-clinical study of squamous epithelium cell sheet transplantation for porcine model to show the anti-inflammatory action, and inhibition of excessive fibrosis. To transplant cell sheets onto entire field of the pharynx after procedure, novel devices were designed and developed with a 3-D printer. Successful cell sheets transplantation are conducted for all models and the effect of transplantation has been confirmed. We obtained non-clinical proof of consent which lead to the clinical application.

研究分野：消化管内視鏡

キーワード：再生医療 咽頭癌 経口的治療 内視鏡

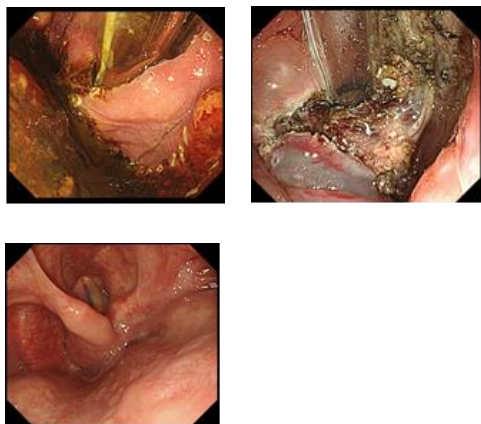
1. 研究開始当初の背景

近年、内視鏡的技術の発展により早期の咽頭、喉頭癌が発見される様になり、内視鏡的、又は内視鏡補助下に経口的切除が行われる様になってきている。かつて咽頭、喉頭癌の多くは進行がんにより発見され喉頭摘出を余儀なくされてきたが、喉頭を温存した状態で低侵襲な治療が普及しつつある。

内視鏡的粘膜下層剥離術は当初消化管領域より始まり、胃、食道、大腸に対し様々な機器の工夫により安全に施行される様になってきつつある。咽喉頭領域に関しても上部消化管内視鏡器具を用いた内視鏡的治療の有用性、及び内視鏡補助下の経口的切除の有用性が報告されつつある。しかしながら特に食道領域においては広範な病変を治療した際の癒痕収縮による狭窄が問題となっている。内視鏡的治療後のステロイドの局注、及び経口的投与による狭窄予防に一定の効果を認めてはいるが、広範な病変に関してはその治療効果は十分ではなく、創傷治癒遅延、及び感染の合併も危惧される。

内視鏡的治療後の癒痕収縮は食道癌、咽喉頭癌治療後に類似した傾向を持ち、咽喉頭の内視鏡的治療後に梨状陥凹の癒痕収縮による変形が高頻度に認められる。咽喉頭の内視鏡的治療後の炎症による変形は術後早期、及び長期経過後の嚥下能の低下、誤嚥性肺炎の発症につながる。又、咽喉頭癌を一度発症した患者は再度他部位の咽喉頭に多発癌を発症し易く、癒痕による変形を伴う患者に関しては追加の内視鏡的、経口的治療は施行困難となり得る。術後早期の炎症、咽頭痛の遷延は咽頭膿瘍の発症、及び嚥下能の短期的低下による誤嚥性肺炎の発症につながる。食道と比較して咽頭領域の粘膜切除後は疼痛が強く、食事摂取開始時期の遷延により入院期間の延長もしばしば認められ、疼痛そのものが患者に負担を強いる事より創傷部を保護する適切な処置が期待されている。

Fig.1 広範囲な下咽頭病変に対する内視鏡的切除と術後癒痕、変形)



近年、口腔粘膜より採取した扁平上皮組織をシート状に培養した細胞シートを移植する事により食道の内視鏡的治療後の癒痕を予防する方法が提案されており、良好な成績を収めつつある。食道、咽頭領域の組織学的背景は類似しており、食道領域の内視鏡的治療後癒痕狭窄の予防と同様、咽喉頭領域の内視鏡的治療後の癒痕変形の予防に細胞シートの移植が有用である事が期待される。創傷部位を保護し治癒を早める効果により術後早期の炎症、咽頭痛、誤嚥予防にも有用性が期待される。

2. 研究の目的

上皮細胞シート移植は食道の ESD (内視鏡的粘膜下層剥離術) 後の潰瘍治癒過程で狭窄を予防する効果が認められており、咽頭 ESD 後に同様に移植することで、拘縮変形の予防効果が期待できるが、その施行報告は存在しない。ワークスペースが限られ、粘膜筋板が存在しない事、嚥下による機械的刺激も含め、食道と異なる臓器への細胞シート移植の施行可能性、有効性の評価の為、大動物を用いた前臨床の試験を実施する。

3. 研究の方法

ミニブタに対して咽頭、食道入口部領域の内視鏡的切除、癒痕モデルを作成する。ミニブタモデルに対して腹部の皮膚より作成した扁平上皮シートの作成を行い、下咽頭から喉頭にかけて内視鏡的粘膜下層剥離術施行後の創傷部位に対して細胞シート移植を行う。扁平上皮シートの作成、及びシート移植に関しては食道領域において東京女子医大の大和らが現在まで安定したモデルを作成しており、移植用のデバイス、および細胞シート移植に関して食道領域で用いた手技を参考に東京女子医大にて施行する。移植に関する問題点を明らかにし、新たな移植用機器の開発、及びシート生着の為の方法を探索する。

4. 研究成果

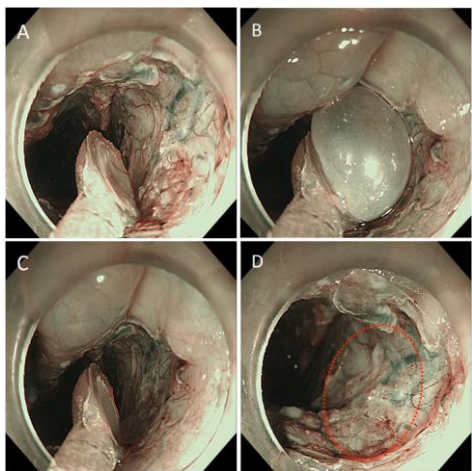
1) 新たな細胞シート移植デバイスの作成

食道と比較して狭小で複雑な立体構造を持つ咽頭領域への細胞シート移植を行う為、新たなデリバリーシステム (指向性拡張型デバイス) を 3D プリントを用いて開発した。

Fig.2 咽頭用指向性拡張型デバイスの構造
カップの上面にバルンが張り付けられており、バルン上部に細胞シートを載せ、吸引して収縮、拡張して移植する。



Fig. 3 新規デバイスを用いた咽頭 ESD 後潰瘍への細胞シート移植



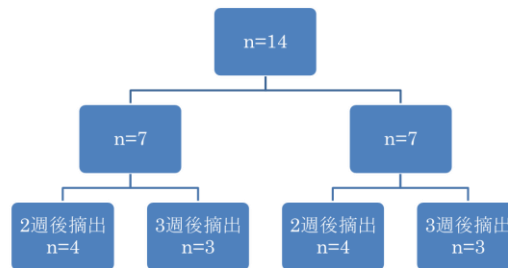
新規デバイスを用いてミニブタに対して移植実験を行い、既存のデバイス（全周拡張型）と比較して拡張バルンによる咽頭、喉頭への干渉が無く目的の位置に細胞シートの移植が可能であった。本新規移植デバイスにつき知財申請を行った。

2) ミニブタに対する下咽頭 ESD 後の細胞シート移植の効果検証

ミニブタに対して下咽頭に全身麻酔下に全周性 ESD を施行したモデルを作成した。計 14 頭のミニブタを細胞シート移植群と対照群に無作為に振り分けた。細胞シート移植群に対しては、あらかじめ下腹部の皮膚由来の自己上皮細胞シートを作成し、ESD 終了直後に、新規に開発したシート移植デバイスを用いて細胞シートを移植した。移植数は可能な限りの枚数とした。

術後 2 週間、3 週間後に内視鏡にて経過観察を行い、2 週間後に両群 4 頭ずつ、3 週間後に両群 3 頭ずつ犠牲死させ、咽頭組織を摘出した。摘出標本の食道入口部の狭窄率、ESD 施行範囲および、潰瘍の再上皮化の面積、粘膜下組織の肥厚距離を、病理組織所見をもとに測定し比較検討した。

Fig. 4 Study フローチャート



両群で術後潰瘍は継時的に収縮していたが、細胞シート移植群では術後 2, 3 週ともに ESD 施行範囲が有意に広く保たれており、また、再上皮化領域も有意に広がった。術後 3 週の時点で細胞シート移植群では再上皮化はほぼ終了していたが、対照群では 60%程度しか再上皮化が進んでおらず、今後さらに組織の収縮が進むことが示唆された。細胞シートを移植することで、下咽頭の潰瘍は瘢痕拘縮を抑制しつつ、早期に治癒することが示された。

Fig. 5 咽頭 ESD3 週後に摘出した標本の比較（左対照群、右細胞シート移植群。青枠領域：ESD 後範囲、黒枠領域：未上皮化領域）

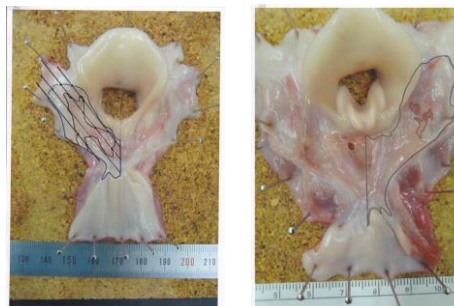
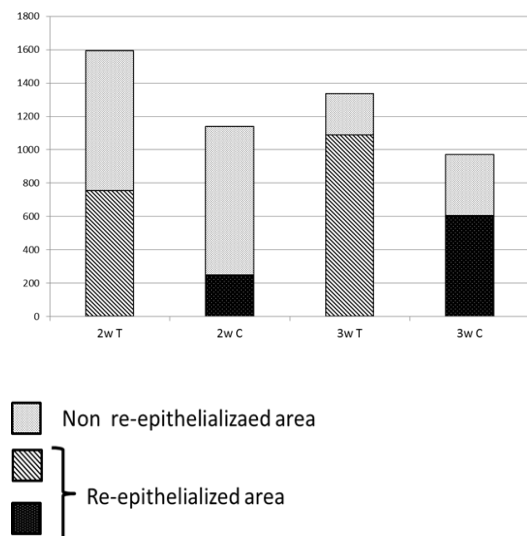


Table 1 咽頭細胞シート移植と ESD 後創傷の関連

	2w T	2w C	p value	3w T	3w C	p value
n	4	4		3	3	
Resected mucosa (g)	2.45	2.53		2.46	2.75	
BW change (kg)	0	-0.68	0.46	-0.67	-0.7	0.97
Complications (n)	0	1		0	0	
Dysphagia (n)	0	1		1	1	
Stricture rate (%)	60	70.1	0.2	79.4	82.3	0.42
Post ESD area (mm ²)	1592.5	1137.8	0.024	1336.8	971	0.026
Re-epi area (mm ²)	688.1	255	0.017	890.9	544.1	0.02
Re-epi. Rate (%)	47.4	22	0.033	81.3	62.2	0.15
SM thickness (um)	2275.9	2676	0.29	2708.2	3324.5	0.25

2wT : 2 週間後摘出移植群、2wC : 2 週間後摘出対照群、3wT : 3 週間後摘出移植群、3wC : 3 週間後摘出対照群

Fig. 6 ESD 施行領域の収縮と、再上皮化の関連



本研究において、新規に開発した細胞シートデリバリーデバイスを用いてミニブタに施行した下咽頭全周性 ESD 後の潰瘍は、細胞シート移植群で対照群と比較して有意に拘縮が抑えられ、再上皮化が促進していることが確認できた。本研究結果により、咽頭細胞シート移植に関して、臨床応用に向け非臨床 POC の獲得が可能となった。今後ヒト臨床試験に向け体制構築を行っている。

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 5 件)

- ① 安部真、金井信雄、岡田裕之、消化管領域における上皮細胞シート製品の有効性と新たな展開 JDDW 2016, 2016 年 11 月 (神戸)
- ② Abe M, Kanai N, Hori K, Kawahara Y, Yamato M, Okada H. Epithelial Cell Tissue Products for Prevention of Post-ESD Complications in the Area of Pharynx. Digestive Disease Week 2016 San Diego, 2016, May (San Diego)
- ③ 安部真、金井信雄、岡田裕之. 上皮細胞シート製品による上部消化管再生～機器開発による咽頭への展開～ 第 102 回 日本消化器病学会総会, 2016 年 4 月 (東京)
- ④ 安部真、金井信雄、大和雅之、岡田裕之. 機器開発による細胞シート医療の咽頭領域への展開・第 15 回 日本再生医療学会総会, 2016 年 3 月 (大阪)
- ⑤ Abe M, Kanai N, Hori K, Kawahara Y, Yamato M, Okada H. Epithelial Cells Tissue

Products for Prevention of Post-ESD Complications in the area of Pharynx. United European Gastroenterology Week 2015 Barcelona, 2015, Oct (Barcelona)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 治療物質運搬デバイス、及び治療物質運搬キット

発明者: 前田真法、金井信雄、安部真、藤井祐介、大和雅之

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 2015-177993 号

出願年月日: 平成 27 年 9 月 9 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀 圭介 (HORI, Keisuke)

東京女子医科大学・医学部・研究生

研究者番号: 30749651

(2) 研究分担者

岡田 裕之 (OKADA, Hiroyuki)

岡山大学・医歯(薬)総合研究科・教授

研究者番号: 60263563

河原 祥朗 (KAWAHARA, Yosirou)

岡山大学・大学病院・准教授

研究者番号: 30420483

高木 章乃夫 (TAKAKI, Akinobu)

岡山大学・医歯(薬)総合研究科・准教授

研究者番号: 80359885

岩室 雅也 (IWAMURO, Masaya)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号: 30645403

小野田 友男 (ONODA, Tomoo)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号: 20420482

木股 敬裕 (KIMATA, Yoshihiro)

岡山大学・医歯(薬)総合研究科・教授

研究者番号: 50392345

(3) 連携研究者

金井 信雄 (KANAI, Nobuo)
東京女子医科大学・医学部・特任講師
研究者番号： 90318056

(4) 研究協力者

安部 真 (ABE, Makoto)