

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 1 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10595

研究課題名(和文) 自己細胞および幹細胞を用いた人工食道作製による再生医療

研究課題名(英文) Regenerative medicine for esophagus using a scaffold-free structure created with bio-three-dimensional printing technology

研究代表者

谷口 大輔 (TANIGUCHI, Daisuke)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員

研究者番号：20773758

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：人工食道の研究では、免疫拒絶や生体適合性の問題から、いまだ臨床応用に至っていない。本研究では、バイオ3Dプリンティング技術を用いて、細胞のみからなる三次元構造体の食道モデルを作製し、力学的強度試験、組織学的検討による基礎実験と人工食道の移植実験を行った。ヒト間葉系幹細胞を用いた人工食道は、ラット腹部食道から胃へのバイパスとしてシリコンステント補助下に移植可能であった。移植30日間後の検討では、食道上皮層が人工食道の内腔を覆い、食物残渣も人工食道内腔に認められ、機能的であることも確認された。本研究により、バイオ3Dプリンティング技術の食道置換再建における可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞のみからなる人工臓器による再生医療は、自己細胞やiPS細胞を利用できる点や異物を必要としない点などから理想的である。我々は、細胞凝集現象を応用したバイオ3Dプリンターを用いた食道再生の研究を行った。人工食道を用いた食道の再生医療は、成人、小児双方において、現治療の代替医療として重要な意味を持つ。これを治療に用いることができれば、食道疾患治療において、大きなオプションを持つことになるとともに、再生医療に画期的な変革をもたらすことができると考える。今回の研究では、人工食道のラットへの移植へ成功しており、食道再生の第一歩としての学術的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Various strategies have been attempted to replace esophageal defects, however, these methods have not yet reached clinical application. In this research project, we developed a scaffold-free structure with a mixture of cell types using bio-3D printing technology. The artificial esophageal-like tube structures were prepared by bio-3D printing, then structures were transplanted into rats as esophageal grafts. Mechanical and histochemical assessment of the structures were performed. The scaffold-free structures had sufficient strength for transplantation between the esophagus and stomach using silicon stents. The structures were maintained in vivo for 30 days after transplantation. Flat epithelium extended and covered the inner surface of the lumen. Food had also passed through the structure. These results suggested that the esophagus-like scaffold-free tubular structures created using bio-3D printing could hold promise as a substitute for the repair of esophageal defects.

研究分野：移植学・再生医療学

キーワード：移植・再生医療

1. 研究開始当初の背景

食道に関して、世界的には食道がんは500,000例診断され、2030年までには850,000症例まで増加すると考えられている。また、先天性食道閉鎖など、先天性食道疾患(1/2500-1/4500出生)においても手術を要する場合もある。手術症例において、胃、大腸、小腸など他臓器を用いた再建が必要となる。また、術後胃管再建による食事摂取の低下、逆流性食道炎、吻合部狭窄などの問題点が存在する。とくに、小児手術症例において、81%が嚥下障害や逆流性食道炎などの機能的な障害を有することになる。このような症例に対して、人工臓器による再生医療は、理想的であり、世界中で様々な臓器に関して研究が行われている。また、近年の3Dプリンターの進化は目覚ましく、その一つの形としてバイオ3Dプリンターという技術が登場してきた。我々は、細胞凝集によるスフェロイドを用いて、構造体を立体化することによって、Scaffoldを使用しない理想的な臓器の作製が可能で、Regenova™というバイオ3Dプリンターに着目して研究を進めてきた(図)。食道の再生は、これまで Scaffold や脱細胞化した食道(Takimoto, J Thorac Cardiovasc Surg. 1998, Sjöqvist, Nat Commun. 2014)を用いたものなどが報告されてきた。しかしながら、Scaffoldには、感染の原因になりうること、成長が望めないこと、生体刺激による劣化、経時的な強度の低下など様々な問題があることも事実であり、これまでの研究では、これらの問題を解決できていない。人工食道を用いた食道の再生医療は、成人、小児双方において、現治療の代替医療として重要な意味を持つ。これを治療に用いることができれば、食道疾患治療において、大きなオプションを持つことになるとともに、画期的な変革をもたらすことができると考えられる。



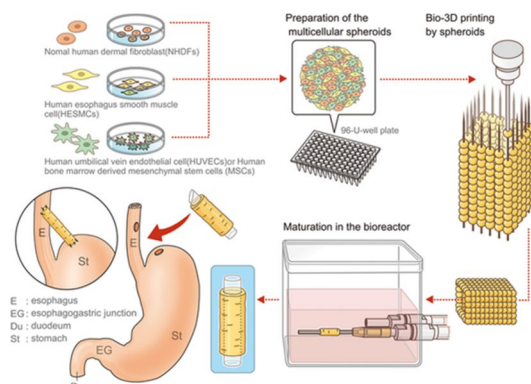
2. 研究の目的

人工食道を用いた食道の再生医療は、成人、小児双方において、現治療の代替医療として重要な意味を持つ。これを治療に用いることができれば、食道疾患治療において、大きなオプションを持つことになるとともに、画期的な変革をもたらすことができると考えられる。さらには、先進的な技術であるバイオ3Dプリンターによって作製した人工臓器による再生医療が実現すれば、自己細胞や iPS 細胞などをソースとして利用できる点や、異物を必要としない点などから、感染に強く、また免疫抑制の必要がない理想的な再生医療になりうる。しかしながら、バイオ3Dプリンターによる食道再生の報告はいまだ存在せず、未開拓の領域である。

本研究の目的は、バイオ3Dプリンター技術の食道再生医療への応用の可能性を検討し、その feasibility について評価することである。

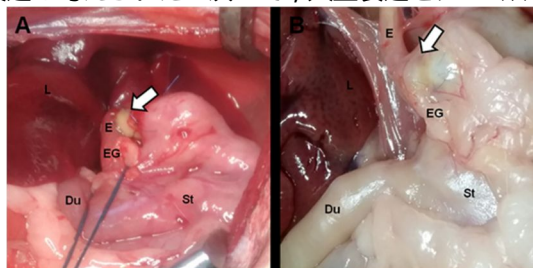
3. 研究の方法

本研究では、バイオ3Dプリンティング技術を用いて、体組織細胞、幹細胞から、Scaffold-freeの人工食道の構造体を作製した。さらには、人工食道を作成するための最適な細胞ソースの選択・組み合わせの解明が必要であり、これらについての評価・検討も併せて行った。具体的には、体細胞などの細胞ソース(ヒト線維芽細胞、ヒト臍帯静脈内皮細胞、ヒト間葉系幹細胞、ヒト平滑筋細胞等)を用いて、バイオ3Dプリンティングシステム(Regenova)を用いて食道構造体を作製し、バイオリアクターシステムで成熟せしめた。これらの細胞の種類や、食道構造体内での割合などについて検討を行い、最適な構造体についての検討を行った。さらに、この人工食道をラット腹部食道へと移植し、術後免疫抑制剤を投与しながら経過観察し、feasibility、その組織学的変化などについて検討した。(図)



4. 研究成果

ヒト線維芽細胞，ヒト間葉系幹細胞，ヒト臍帯静脈血管内皮細胞，ヒト食道平滑筋を用いて，元も適切な細胞ソース，またその割合などについて検討を行った．結果としては，ヒト間葉系幹細胞を用いた構造体が，力学的強度や組織学的検査の結果，最適と考えられた．次いで，人工食道をアニマルモデルにおける移植実験に用いた．今回の人工食道は F344 ラットの腹部食道から胃へのバイパスとして，シリコンステント補助として用いた移植が可能であった（図）．免疫抑制剤投与下に 30 日間の経過観察を行ったところ，食道上皮層が人工食道の内腔を覆っており，平滑筋細胞は保たれていた．さらには食物残渣も人工食道内腔に認められた．本研究により，バイオ 3D プリンティング技術の食道置換再建における可能性が示唆された．



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takeoka Y, Matsumoto K, Taniguchi D, Tsuchiya T, Machino R, Moriyama M, Oyama S, Tetsuo T, Taura Y, Takagi K, Yoshida T, Elgalad A, Matsuo N, Kunizaki M, Tobinaga S, Nonaka T, Hidaka S, Yamasaki N, Nakayama K, Nagayasu T.	4. 巻 14
2. 論文標題 Regeneration of esophagus using a scaffold-free biomimetic structure created with bio-three-dimensional printing.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0211339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0211339.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 武岡陽介
2. 発表標題 バイオ3Dプリンティングを用いた細胞のみからなる人工食道作製の試み
3. 学会等名 第17回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2017年

〔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	國崎 真己 (KUNIZAKI Masaki) (10533747)	長崎大学・病院 (医学系)・助教 (17301)	
研究分担者	土谷 智史 (TSUCHIYA Tomoshi) (30437884)	長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学系)・准教授 (17301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	中山 功一 (NAKAYAMA Koichi) (50420609)	佐賀大学・医学部・特任教授 (17201)	
研究分担者	永安 武 (NAGAYASU Takeshi) (80284686)	長崎大学・医歯薬学総合研究科（医学系）・教授 (17301)	
研究分担者	松本 桂太郎 (MATSUMOTO Keitaro) (80404268)	長崎大学・医歯薬学総合研究科（医学系）・講師 (17301)	