

令和元年6月7日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15377

研究課題名(和文) 生体内組織形成術を利用した猫の尿管再建術の開発

研究課題名(英文) Reconstruction of feline ureter using in vivo tissue architecture (iBTA)

研究代表者

藤田 淳(Fujita, Atushi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任助教

研究者番号：00554487

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：猫尿管再建に用いる材料として生体内組織形成術(iBTA)を用いて作製した猫バイオチューブの有用性と安全性を検討した。まず、尿管ステントとバイオチューブを併用して移植したところ、ステントによる医原性尿管損傷がおりバイオチューブ移植部位の線維化がみられ、組織再生所見は得られなかった。そこで、移植方法を改めて検討するため、ラット尿管拡張モデルを用いて、バイオチューブ単独による尿管移植の安全性を評価した。その結果、ステントを設置せず、バイオチューブは尿漏出もなく良好に生着した。しかし、吻合部吻側において、fibrosisとみられる構造による尿路閉塞がみられ、今後、その抑制法を開発する必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

尿路結石などによる尿管閉塞は、猫で最も多くみられる疾患の一つであり、現在ステント等の人工材料による尿管再建が行われているが、合併症も多く、根治的治療には至っていない。本研究では、猫尿管再建材料として、生体内組織再建術を利用した新規尿管再建法の開発を目指し、移植材料としての安全性と有用性を明らかにし、バイオチューブ単独での尿管再建の可能性を示した。Fibrosisの抑制が大きな課題として残ったが、今後、猫の飼育頭数の増加や高齢化が予想されるため、獣医療における重要な疾患に対する新規治療法を提案できる研究と考える。

研究成果の概要(英文)：We developed a feline bio-tube as a biomaterial to reconstruct feline ureter using in body tissue architecture (iBTA). After implantation of bio-tube to a naive feline ureter with a ureteral stent, an iatrogenic injury to the ureter occurred and a severe fibrosis was observed at the implanted site and proximal ureter. No apparent regenerative findings was observed in urothelial and muscular layers. Then, we revised the method of bio-tube implantation without using a ureteral stent using a rat ureterectasia model. A bio-tube can be engrafted with host ureter with no urine leakage and reconstructive findings of urothelial and muscular layers was found in distal anastomotic region. However, in proximal region, fibroblastic cells severely invaded and urinary obstruction appeared. A control method of fibrosis should be required for ureter reconstruction using iBTA.

研究分野：獣医外科学

キーワード：猫 尿管閉塞 生体内組織形成術 尿管再建

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、猫の飼育意向の上昇から、猫の診察頻度が上昇している。尿管結石等による尿路閉塞は猫で最も多く遭遇する疾患の一つで、再発や慢性症状に陥り尿路再建が必要となる場合も少なくない。従来、ヒト医療で利用されているインプラントを適応した尿路再建術が行われているが、サイズの不一致やインプラントへの生体反応の問題から、長期成績は良好とはいえず、猫に適したインプラント開発が望まれる。

生体内組織形成術 (iBTA) は、皮下に埋め込んだ鋳型周囲に形成される線維組織を移植材料として用いる技術であり、我々はこれまで、猫皮下で iBTA を用いて作製したシート状線維組織 (バイオシート) を膀胱壁へ移植し、バイオシートが猫尿路再建に利用可能な材料であることを明らかにし、尿管再建材料としての有用性が期待された。

2. 研究の目的

本研究では、猫で iBTA を利用して形成した管状線維組織 (バイオチューブ) をインプラントとして、猫尿管バイオチューブの作製と移植効果を検討し、将来的に増加が予想される猫の尿路再建に向けた、新たな根治的治療法の開発を目的とし、研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 尿管バイオチューブによる猫尿管再建の安全性・有効性の検討

- ① 猫背部皮下に長さ 2-3cm の尿管バイオチューブの鋳型を埋め込み、2 か月後に取り出してバイオチューブを得た。得られたバイオチューブは移植まで 70%エタノール中で保存した。
- ② 近位尿管を 2cm 切除し、自己あるいは他家の尿管バイオチューブを移植した。バイオチューブには尿管ステントを通し、移植した。
- ③ 移植後は血液検査・排泄性尿路造影 CT 検査、エコー検査を定期的に行い、血尿・感染等合併症の有無の評価や腎及び尿管の形態・機能的評価を行った。
- ④ 3 か月の観察期間終了後、移植部位を含む尿管を採取し、H&E 染色、マッソントリクローム染色、免疫染色 (α SMA、CD31) を行った。

(2) ラット尿管拡張モデルを用いた尿管バイオチューブの移植法の検討

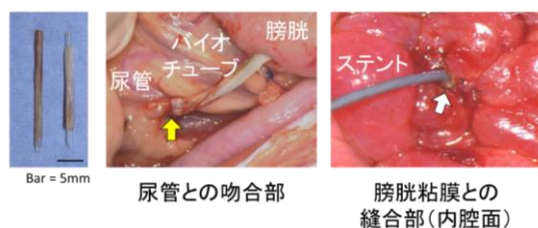
当初の目的とは異なるが、(1) の結果、尿管バイオチューブの移植法の検討が必要と考えられたため、計画を変更し実施した。

- ① ラット背部皮下に尿管バイオチューブの鋳型を埋め込み 6 週後に回収してバイオチューブを得た。得られたバイオチューブは移植まで 70%エタノール中で保存した。
- ② ラット左側尿管遠位を 3 日間結紮し、尿管拡張モデルを作製した。
- ③ 尿管拡張モデルの拡張部位尿管約 3 mm をラット尿管バイオチューブにて置換した。
- ④ 8 週間の観察期間終了後、移植部位の組織学的評価を行った。

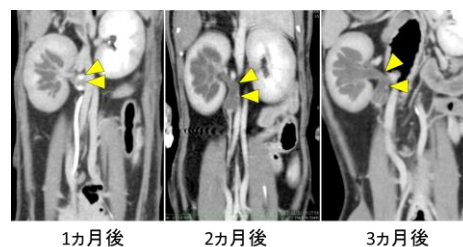
4. 研究成果

(1) 尿管バイオチューブによる猫尿管再建の安全性・有効性の検討

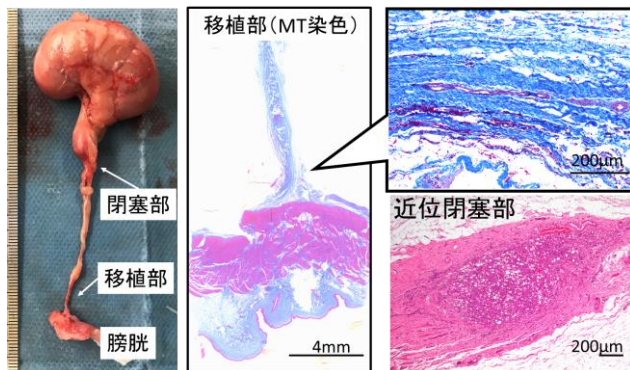
猫背部皮下に尿管移植用鋳型を埋め込み、2 か月間の埋没でバイオチューブを得ることが可能であった (図 1)。尿管への吻合を試みたが、正常猫尿管の遠位での吻合が手技的に困難であったため、バイオチューブ遠位は膀胱壁への縫合を行った (図 1)。移植後、血液検査で Cre が上昇し、腹部エコー検査および尿路造影 CT 検査では腎盂および近位尿管の拡張がみられた (図 2)。移植 1 か月後にステントを抜去したが、1 か月間でステントの変位や脱落が認められた。病理組織学的評価では、移植部位はコラーゲンの増生と血管浸潤がみられたが、尿路上皮や筋層の浸潤はみられず、移植部位より近位の尿管において線維組織増生による尿管閉塞がみとめられた (図 3)。このことから、正常尿管に対するステント設置時の医原性損傷が示唆され、尿管への移植手技の見直しが必要と考えられた。



【図 1】猫尿管バイオチューブと尿管への移植。本研究ではバイオチューブ内にステントを設置して吻合した。



【図 2】移植後の尿路造影 CT。左側(尿管移植側)の腎盂および近位尿管の拡張(矢頭)がみられる。

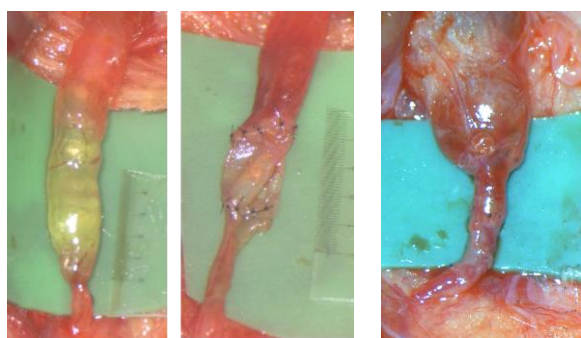


【図3】移植3カ月後の肉眼所見および移植部位のマッソントリクローム染色

移植部位は線維組織で置換されており、内部は線維芽細胞・炎症細胞が充満し、尿路上皮や筋層の再生は見られなかった。また、移植部位より近位で閉塞がみられ、閉塞部には血栓がみとめられ、ステントの設置や脱落に伴う医原性損傷と考えられた。

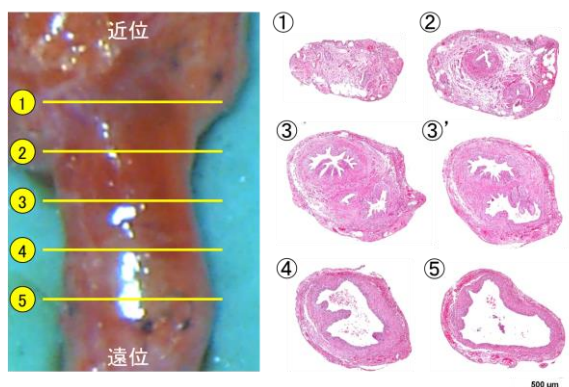
(2) ラット尿管拡張モデルを用いた尿管バイオチューブの移植法の検討

猫への尿管バイオチューブ移植における手技確立を目的として行った。ラット皮下では6週間で移植可能なバイオチューブの作製が可能であった。ラット尿管は3日の結紮で十分拡張し、バイオチューブの移植が可能であった(図4)。移植直後より尿漏出は確認されず、2カ月間の観察期間中、死亡した個体はいなかった。2カ月後の肉眼所見では、移植部は正常尿管と近い径を保っており、生着がみられたが、移植部吻側における尿管拡張が残存していた(図5)。病理組織学的評価では、移植部遠位では尿路上皮および筋層の再生がみられたが、一方、吻側では線維芽細胞が浸潤しfibrosisが認められた。以上から、バイオチューブ移植においてはステント設置は必要ないことが明らかとなったが、バイオチューブを用いた尿管の再建においては、浸潤可能な尿路上皮が不足している近位での組織再建において、線維芽細胞浸潤を抑制し、尿路上皮による内腔の早期再建が必要と考えられた。



【図4(左・中)】左側遠位尿管を結紮し、ラット尿管拡張モデルを作製した。拡張部位を一部切除し、ラットバイオチューブを移植した。

【図4(右)】移植後8週目の肉眼所見。移植部位は正常尿管と同等の径であったが、より近位では尿管は拡張している。



【図5】移植部位の連続横断面

移植部遠位では上皮と筋層が浸潤し、正常な層構造を有する組織が再建されたが、近位では尿路上皮の浸潤がみられず、線維性組織によって内腔が占拠されている。

(3) 総括

ステントを利用せず、バイオチューブの縫合のみでバイオチューブの吻合が可能であったことから、今後猫で、ラットと同様の手技を用いた試験が可能と考えられた。また、移植後、遠位尿管は上皮・筋層が再生するのに対し、近位では上皮の再生はみられず、線維芽細胞の浸潤が顕著であった。これは、遠位では膀胱・正常尿管が残存しており尿路上皮が浸潤しやすいことが一因と考えられ、近位尿管は拡張に伴う炎症や上皮の脱落により再生が起こりにくい環境にあると考えられた。したがって、バイオチューブが定着し、尿管の組織学的・機能的再建を達成するには、近位での尿路上皮再生促進と線維芽細胞浸潤抑制が重要である

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計3件)

1. 藤田直己、西村亮平、iBTAを用いた尿路再建、第1回 iBTA 研究会、2019年3月、東京
2. 藤田淳、藤田直己、杉山史、木之下怜平、飯塚智也、遠藤健太郎、大田拓也、坪井誠也、西村亮平、中山泰秀、生体内組織形成術を応用した猫尿路組織再建法の安全性と有用性の検討、第96回獣医麻酔外科学会、2018年6月、大宮
3. 杉山史、藤田淳、木之下怜平、飯塚智也、遠藤健太郎、大田拓也、坪井誠也、藤田直己、西村亮平、中山泰秀、生体内組織形成術により作製したバイオシートの猫膀胱壁欠損モデルへの移植効果、第17回東京大学生命科学シンポジウム、2017年4月、東京

[その他]

東京大学獣医学専攻獣医外科学研究室 HP (<http://www.v.m.a.u-tokyo.ac.jp/labo/10.html>)

6. 研究組織

(1) 研究協力者

研究協力者氏名：中山 泰秀

ローマ字氏名：Nakayama, Yasuhide

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。