

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09017

研究課題名（和文）再生医療工学を応用した新しい潰瘍性大腸炎手術の開発

研究課題名（英文）Development of new ulcerative colitis surgery applying regenerative medicine technology

研究代表者

小山 文一（Koyama, Fumikazu）

奈良県立医科大学・医学部・病院教授

研究者番号：40316063

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）：回盲弁と直腸肛門部の解剖学的類似性、回盲弁運動と排便運動の生理学的類似性に着目し、ラット大腸全摘モデルで回盲弁付き終末回腸と内肛門括約筋を吻合しNeorectumを創出することで、新しい潰瘍性大腸炎手術の開発を目指した。

ラット直腸肛門部と回盲部の精細解剖から直腸剥離ラインと終末回腸の切離ラインを考案した。ラット大腸全摘を行い、回腸-肛門吻合、回腸嚢-肛門吻合、回盲弁-肛門吻合の比較を試みた。COVID-19感染流行の影響を受け、継続したラット手術が行えず、多数例での評価ができなかった。回盲弁温存終末回腸肛門手術の可能性は示せたが、機能について明らかにすることはできなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、現在の潰瘍性大腸炎根治手術の限界を、最新の解剖生理知見と再生医療工学を駆使して克服することを目指したものである。本研究の結果からその可能性の一端は示せたが、実現性についてはさらなる研究が必要である。

研究成果の概要（英文）： Focusing on the anatomical similarity between the ileal valve and the anorectal region, and the physiological similarity between ileal valve movement and defecation movement, we aimed to develop a new ulcerative colitis surgery by creating a Neorectum in a rat model by anastomosing the terminal ileum with ileal valve and the internal anal sphincter.

Based on the detailed dissection of the rat anorectal and ileal regions, we devised a method for dissection of the rectum and the terminal ileum with ileal valve. Ileal-anal anastomosis, ileal sac-anal anastomosis, and ileal valve-anal anastomosis were compared in rats. Unfortunately, the epidemic of COVID-19 infection prevented continued experimentation, and results could not be evaluated in many cases. Although we demonstrated the possibility of Neorectum creation in ileal valve-preserving terminal ileal-anal anastomosis, we could not clarify the function of Neorectum creation.

研究分野：消化器外科

キーワード：潰瘍性大腸 大腸全摘・回腸嚢肛門吻合術 ileocecal valve cuff neorectum

## 1. 研究開始当初の背景

我が国では、潰瘍性大腸炎は近年著しい増加傾向にある。内科的治療の進歩により、手術率は低下傾向にあるが、罹患率の上昇のために手術件数は減っていない。大腸全摘・回腸囊肛門吻合術 (IPAA) は、回腸囊を用いた自然肛門温存術式で潰瘍性大腸炎に対する標準的根治手術であるが、術後に頻便・漏便や排便困難に悩まされることも多い。要因として、回腸囊作成による蠕動相殺、回腸囊と肛門管との間の神経ネットワーク欠如が考えられている。

排便反射は、直腸を加圧伸展させたときに直腸-直腸収縮反射 (R-R 反射) と直腸-内肛門括約筋弛緩反射 (R- IAS 反射) が同時に起こることで生じる。IPAA の回腸囊は二つ折りに縫合して作成されるため、蠕動運動は相殺される。また回腸囊と内肛門括約筋は回腸漿膜を介して接するために、漿膜が障壁となって神経ネットワークは形成されない。すなわち、IPAA では R-R 反射経路、R- IAS 反射経路が共に失われ、排便反射は消失する。以から、IPAA 術後の排便障害は起こるべくして起こっていると考えられる。逆に、大腸全摘しても貯留能のある腸管を用いて排便反射を再生できれば、UC 術後の排便障害は克服できる可能性がある。このことから再生医療工学を応用した新しい術式を考案した。

回盲弁 (ICV) を温存して ileocecal valve cuff を作成する。回盲弁の盲腸側粘膜を切除し、回盲弁筋層を露出させる。回盲弁筋層と直腸粘膜剥去によって露出した内肛門括約筋を、GFP 遺伝子を導入した神経幹細胞シートと Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) 徐放ビーズを介して互いに密着するように吻合する。神経幹細胞と BDNF により回盲弁筋層と内肛門括約筋との間に新たな神経ネットワークが形成される。神経ネットワークの形成によって回盲弁と内肛門括約筋が一体化すれば、貯留能を有し、括約作用が強化された Neorectum となることが期待される。

## 2. 研究の目的

本研究では、ラット大腸全摘モデルを用いて、回盲弁付き終末回腸と内肛門括約筋を神経幹細胞シートと Brain Derived Neurotrophic Factor 徐放ビーズを介在させて吻合する。括約作用のある回盲弁筋層と内肛門括約筋との間にカハール介在細胞を含めた新たな神経筋ネットワークを形成させ、括約作用を強化し排便反射を再生させた Neorectum を創出する。Neorectum の貯留能・排便機能・カハール介在細胞と神経筋ネットワークを解析し、再生医療工学を応用した新しい潰瘍性大腸炎手術の開発を目指す。

## 3. 研究の方法

### 直腸肛門部の精細解剖の検討と最適な直腸切離レベルの検討

ラット直腸肛門管を精細解剖し、温存すべき神経の走行、至適直腸壁剥離ラインを明らかにする。

### 回盲部の精細解剖と最適な ileocecal valve cuff 作成法の検討

ラット回盲部を精細解剖し、ileocecal valve cuff 作成における至適盲腸剥離ライン・粘膜切除長を明らかにする。

### 直腸/終末回腸貯留能の検討

健常ラット終末回腸と直腸の貯留能・静止圧と機能的肛門管長を評価する。

### ラット神経幹細胞培養と細胞シート作製の最適条件の設定

ラット神経幹細胞に GFP 遺伝子を導入する。GFP 発現神経幹細胞の一部を細胞シート回収用温度応答性細胞培養器材上で培養し、手術使用時の最適条件を検討する。

### ラット IPAA/ICVAA における排便機能の継時的評価

ラットに開腹のみ行う群 (A 群)、大腸全摘を行い回腸と肛門を吻合する群 (B 群)、回腸囊肛門吻合 (IPAA) を行う群 (C 群)、回盲弁肛門吻合 (ICVAA) を群 (D-1 群)。ICVAA 吻合を BDNF 徐放ビーズを介して行う群 (D-2 群)、ICVAA 吻合を神経幹細胞シートを介して行う群 (D-3 群)、ICVAA 吻合を神経幹細胞シートと BDNF 徐放ビーズを介して行う群 (D-4 群) を作成し、術後の便の性状、肛門機能を評価する。

### ICVAA における Neorectum の貯留能と相同性収縮の有無の評価

A-D の各群において、Neorectum からの肛門排泄過程を評価する。

### 神経・筋・ICC ネットワークの 3 次元画像解析

Neorectum 切除標本から ICC の分布とセロトニン作動性ニューロンのネットワークの 3 次元立体画像化を行う。GFP 発現神経の回盲弁内神経と内肛門括約筋内神経とのネットワー

ク,ならびに ICC とのネットワークを詳細に検討する .GFP 発現神経細胞のネットワーク状態と排便機能結果から , 神経幹細胞シートと BDNF 徐放ビーズの意義を検討する .

#### 4 . 研究成果

回盲弁と直腸肛門部の解剖学的類似性 , 回盲弁運動と排便運動の生理学的類似性に着目し , ラット大腸全摘モデルで回盲弁付き終末回腸と内肛門括約筋を吻合し Neorectum を創出することで , 新しい潰瘍性大腸炎手術の開発を目指した .

ラットで直腸肛門部と回盲部の精細解剖を行い , 回盲弁温存終末回腸肛門吻合に最適な直腸剥離ラインと回盲弁を温存した終末回腸の剥離ラインを考案した ( 研究方法 ) . ラット大腸全摘を行い , 回腸-肛門吻合 , 回腸囊-肛門吻合 , 回盲弁-肛門吻合の比較を試みた ( 研究方法 ) . COVID-19 感染流行の影響を受け , 継続したラット手術が行えず , 多数例での評価はできなかった ( 研究方法 ) .

回盲弁温存終末回腸肛門吻合での Neorectum 創出手術の可能性は示せたが , その機能について明らかにすることはできなかった .

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	福岡 晃平  (Fukuoka Kohei)  (20812316)	奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員   (24601)	
研究分担者	久下 博之  (Kuge Hiroyuki)  (30801774)	奈良県立医科大学・医学部・講師   (24601)	
研究分担者	森田 剛平  (Morita Kohei)  (60533718)	奈良県立医科大学・医学部・助教   (24601)	
研究分担者	松本 弥生  (Matsumoto Yayoi)  (90833707)	奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員   (24601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関