

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 3 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2012

課題番号：21390472

研究課題名（和文）小児外科疾患に対する幹細胞とその微小環境制御を利用した再生医療

研究課題名（英文）Regenerative medicine for pediatric surgical diseases using stem cells with their improved microenvironments.

研究代表者

小室 広昭（KOMURO HIROAKI）

東京大学・医学部付属病院・准教授

研究者番号：80296128

研究成果の概要（和文）：排便筋の発達の悪い鎖肛の患者の排便筋を再生させるために、骨格筋由来の筋芽細胞移植の有効性を検討し、さらに効率よく骨格筋の再生を起こさせるべく、gelatin hydrogel microsphere を用いた bFGF の徐放システムを併用して筋芽移植細胞の効率化を図ることを目指した研究を行った。徐放化 bFGF によって、移植した筋芽細胞の生存率の向上効果とホストの骨格筋の再生促進効果がみとめられた。bFGF の徐放の効果は血管新生効果によるよりも、筋芽細胞の分化促進効果と筋繊維の再生促進効果によるものと考えられた。このように成長因子を併用した筋芽細胞移植は鎖肛患者の排便機能の改善に寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：Infants with higher anorectal anomalies often develop fecal incontinence after surgical reconstruction mainly due to the incomplete development of defecation muscles. We investigated the possibility of defecation muscle regeneration by myoblast transplantation to improve fecal continence. The efficacy of myoblast transplantation in combination with the controlled and sustained delivery of basic fibroblast growth factor (bFGF) is investigated. The controlled and sustained release of bFGF from gelatin hydrogel microspheres improves the survival rate of transplanted myoblasts and promotes muscle regeneration by facilitating myogenesis rather than angiogenesis. Myoblast transplantation coupled with growth factors may provide a novel treatment strategy for improving fecal continence after repair of anorectal anomalies in infants.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2010年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2011年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2012年度	2,500,000	750,000	3,250,000
年度			
総計	12,800,000	3,840,000	16,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・小児外科学

キーワード：鎖肛・排便・骨格筋・再生・筋芽細胞移植・bFGF・マイクロパターンニング

研究開始当初の背景

(1) 再生医療は成人に比べ小児にとってより大きな恩恵をもたらすことが期待される。

(2) 先天的な臓器や機能の障害を伴って生まれてくる小児外科疾患を持つ患児への応用は有意義な研究と思われる。

2. 研究の目的

- (1) 幹細胞をもちいた再生医療の可能性：小児外科領域において幹細胞を利用した再生医療は先天的に失われた臓器や機能を回復させるための非常に魅力的な治療戦略と考えられる。本研究では幹細胞を利用した再生医療を小児外科疾患治療に応用することを第1の目的とする
- (2) 幹細胞の微小環境制御による組織再生の効率化：成長因子と足場（細胞外マトリックス）を駆使して、微小環境を整えることによって幹細胞を制御し、より効果的な組織再生を可能にしていくことで、臨床応用可能なレベルまで研究を高めていくことも本研究の目的である。

3. 研究の方法

- (1) 筋由来の幹細胞を用いた鎖肛術後の排便機能の改善：高位鎖肛の場合、肛門筋群の低形成のために術後に満足に行く肛門機能がえられないことも多い。そこで、筋由来の幹細胞を移植し、形成の悪い肛門筋群を再生させ、鎖肛術後の肛門機能の改善を目指すための研究を行った。
- (2) さらに、成長因子を用いて再生効果を上げるべく bFGF を用いて、作用が長期にわたるよう徐放化 drug delivery system (DDS) を利用して再生効率の向上を検討した。
- (3) マイクロパターンニング技術を用いた骨格筋の再生：細かな溝を利用して細胞を整列させることによって、筋芽細胞から筋シートを作成することを目的に工学的手法を用いて骨格筋の in vitro での構築実験を行い、骨格筋の再生に最適な足場の条件を検索し、構築した筋管細胞の太さや動態について検討した。

4. 研究成果

- (1) ラットを用いて筋芽細胞を肛門挙筋周囲に移植し、移植した細胞が筋管細胞に分化していることを確認した
- (2) bFGF の徐放化 DDS を用いることで筋芽細胞移植による骨格筋の再生効率と筋への分化が促進されることを確認した。
- (3) マイクロパターンニング技術により、in vitro で収縮する 3 次元筋組織の構築に成功した。本研究により効果的な骨格筋構築に向けて大きな成果が上がった。
- (4) 今後大動物への研究を経ての臨床応用への期待がもたれる。

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 9 件)

- (1) Hagiwara K, Chen G, Kawazoe N, Tabata Y, Komuro H: Promotion of muscle regeneration by myoblast transplantation using the controlled delivery system of bFGF. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine 2013 Apr 1. doi: 10.1002/term.1732. [Epub ahead of print]
- (2) Ishimaru T, Komura M, Komura H, Otani Y, Komuro H, Sugiyama M, Terawaki K, Suzuki K, Tabata Y, Iwanaka T: Slow release of basic fibroblast growth factor (b-FGF) promotes growth of tracheal cartilage. J Pediatr Surg. 48:288-292, 2013
- (3) Nozato M, Kaneko S, Nakagawara A, Komuro H: Epithelial mesenchymal transition-related gene expression as a new prognostic marker for neuroblastoma. International Journal of Oncology 42: 134-140, 2013
- (4) 小室広昭：再生医療の小児外科領域への展開。日本周産期・新生児医学会雑誌 46(4):985-988, 2010
- (5) 小室広昭：特集 再生医療用多孔質材料の研究開発動向：先天性奇形に対する多孔質材料を用いた膀胱・横隔膜の再生。化学工業 61:50-55, 2010
- (6) Shinya M, Komuro H, Saihara R, Urita Y, Kaneko S, Kaneko M, Liu Y: Neural differentiation potential of rat amniotic epithelial cells. Fetal and Pediatric Pathology 29:133-143, 2010
- (7) Tatekawa Y, Kawazoe N, Chen G, Shirasaki Y, Komuro H, Kaneko M: Tracheal defect repair using a PLGA-collagen hybrid scaffold reinforced by a copolymer stent with bFGF-impregnated gelatin hydrogel. Pediatric Surgery International 26:575-580, 2010
- (8) Tatekawa Y, Ikada Y, Komuro H, Kaneko M: Experimental Repair of Tracheal Defect Using a Bioabsorbable Copolymer. Journal of Surgical Research 160:114-121, 2010
- (9) Saihara R, Komuro H, Urita Y, et al. Myoblast transplantation to defecation muscles in rats: A possible treatment strategy for fecal incontinence after the repair of anorectal anomalies. Pediatr. Surg. Int. 2009; 25: 981-986

[学会発表] (計 9 件)

- (1) 小室広昭、萩原幸輝、陳国平、田畑泰彦、

- 岩中督: Gelatin hydrogel microsphere を用いたbFGF徐放による筋芽細胞移植の骨格筋再生効果の促進。第12回日本再生医療学会総会、横浜、2013.3.22
- (2) 小室広昭、萩原幸輝、岩中督:ゼラチンハイドロゲルを用いたbFGF徐放による筋芽細胞移植の骨格筋再生効果の促進。第49回日本小児外科学会学術集会、横浜、2012.5.14
- (3) 小室広昭、瓜田泰久、萩原幸輝、陳国平、川添直輝:先天性奇形にたいする組織工学を用いた治療戦略。シンポジウム「組織3次元構築を目指した組織工学」第10回日本再生医療学会総会、東京、2011.3.1
- (4) 萩原幸輝、田畑泰彦、陳国平、小室広昭: bFGF徐放と筋芽細胞移植の併用による骨格筋再生効果。第10回日本再生医療学会総会、東京、2011.3.2
- (5) Koki Hagiwara, Song Wei, Naoki Kawazoe, Guoping Chen, Hiroaki Komuro: Aligned myotubes on polyvinyl alcohol micro patterned plates in vitro. Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society 2010 Asia-Pacific Meeting, Sydney, Australia, 2010.9.15
- (6) Koki Hagiwara, Guoping Chen, Naoki Kawazoe, Hiroshi Kohara, Yasuhiko Tabata, Hiroaki Komuro: Promotion of muscle repair by myoblast transplantation using the controlled delivery system of bFGF. Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society 2010 Asia-Pacific Meeting, Sydney, Australia, 2010.9.17
- (7) Hiroaki Komuro, Ryoko Saihara, Kouki Hagiwara, Yasuhisa Urita, Michio Kaneko: Myoblast transplantation to defecation muscles in rats: A possible treatment strategy for fecal incontinence after the repair of anorectal anomalies. 2nd TERMIS World Congress, Seoul, 2009.9.3
- (8) Hiroaki Komuro, Ryoko Saihara, Kouki Hagiwara, Yasuhisa Urita, Michio Kaneko: Myoblast transplantation to defecation muscles in rats: A possible treatment strategy for fecal incontinence after the repair of anorectal anomalies? The 42th Annual Meeting of the Pacific Association of Pediatric Surgeons, Hong Kong, 2009.5.11
- (9) 小室広昭、才原良子、萩原幸輝、瓜田泰久、金子節子、金子道夫:筋由来の幹細胞

を用いた排便筋の再生—鎖肛術後の排便機能の改善に向けて— 第46回日本小児外科学会学術集会、シンポジウム「小児外科における先進医療」、大阪、2009.6.3

〔図書〕(計1件)

- (1) Hiroaki Komuro: Tissue engineering and regenerative medicine for treatment of congenital birth defects, Advances in Medicine and Biology. Volume 11, Leon V. Berhardt (Eds), pp.151-172, Nova Science Publishers Inc, New York, 2010

(2)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小室 広昭 (KOMURO HIROAKI)

東京大学・医学部付属病院・准教授

研究者番号: 80296128

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

① 陳 国平 (CHEN GUOPING)

独立行政法人物質・材料研究機構

主任研究者

研究者番号: 50357505

② 田畑 泰彦 (TABATA YASUHIKO)
京都大学再生医科学研究所
教授
研究者番号：50211371