

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462780

研究課題名(和文) Biotubeを用いた新規足場素材による複合的気道再生の為の研究

研究課題名(英文) Patch tracheoplasty in body tissue engineering using collagenous connective tissue membranes(biosheets)

研究代表者

佐竹 亮介 (Satake, Ryosuke)

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：70597525

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：【背景】心血管再生工学で有用なbiosheetの気道用パッチとしての可能性について検討した。【方法】家兔の皮下にシリコンチューブを移植し、チューブ周囲に形成されるシートをbiosheetとした。ゴアテックス(Group 1)、真皮(Group 2)、biosheet(Group 3)で気管孔パッチ閉鎖し、4週後に摘出した気管で組織学的検討を行った。【結果】全てのGroupで気管構造を維持していたが、Group3だけは気管上皮再生も確認された。また、免疫組織学的検討でもGroup3は再生能力が高いことが証明された。【考察】今回の研究でbiosheetによる気管軟骨再生を証明した。

研究成果の概要(英文)：【Background】The aim was to evaluate the use of biosheets(collagenous connective tissue membranes are useful for engineering cardiovascular tissue) as a potential substitute material on vivo in a rabbit model. 【Methods】Rectangular-shaped Gore-Tex was(Group 1), dermis(Group 2) and biosheets(Group3) implanted into the defect created in the midventral portion of the cervical trachea. Biosheets were prepared by embedding silicone moulds in dorsal subcutaneous pouches in rabbits. 【Main Results】All materials maintained airway structure for up to 4 weeks after implantation. Regenerative cartilage in implanted biosheets in group 3 was confirmed by histological analysis. Tracheal epithelial regeneration occurred in the internal lumen of group 3. There were significant differences in the amounts of collagen type and glycosaminoglycan between group 3 and group 1 or 2. 【Conclusion】We confirm that cartilage can self-regenerate onto an airway patch using biosheets.

研究分野：小児内視鏡外科

キーワード：biosheet biotube 気管再生 軟骨再生

1. 研究開始当初の背景

気道再生の研究は、1994年 Vacanti Cらが、牛軟骨の細胞から管状の再生軟骨を無胸腺ラットの頸部気管へ移植したのが最初である(1)。2012年には、気管狭窄症の患児に、死体気管由来のマトリックスと骨髄細胞を用いた臨床応用例が報告されている(2)。この報告では、気道の開存性について確認されているが、軟骨再生については確認されていない。残念ながら、解剖学的に忠実な複合組織による気道再生は、未だに報告されていない。我々は、気道軟骨の研究を中心に行ってきた。軟骨細胞を足場に播種し、生体へ移植した再生軟骨は、6週で気管軟骨と同じ硬さになることを証明した(3)。この基礎的研究から、ステント系足場を開発し、家兎の気管前壁欠損モデルにおいて、軟骨再生が可能であることを実証した(4)。また、気道粘膜は、足場表面をコラーゲンコートすることで、粘膜上皮の自律再生を確認した。さらに、再生軟骨プレートを気管前壁欠損孔に移植し、気管軟骨断端と再生軟骨が肉芽組織ではなく軟骨で接合されることを確認した(5)。しかし、軟骨プレート移植による下気道再建術は、気道円周の30%以上は危険とされ、適応症例が限定されている(6)。また、気管狭窄症、軟化症、気道外傷、気道腫瘍などに対する、下気道の広範囲に及ぶ標準的な気道再建術は確立されていない。血管再生の素材として開発された biotube (7) 上に、軟骨と輪状靭帯・膜様部様組織を同時に再生し、下気道への移植後に粘膜上皮を自律再生させる、複合的再生気道(Bio-Air-tube way)の開発を行う。

2. 研究の目的

本研究では、biotube, Biosheet の気道内での声帯適合性について検討する。また、再生軟骨と線維性自己組織による Biotube による管状の解剖学的に忠実な下気道再生の為の技術開発を行う。

3. 研究の方法

4週齢の白色ニュージーランド家兎の皮下にシリコンチューブを移植して、4週後に摘出した。このチューブ周囲に形成されるシートを摘出した。このシートを7x4mm大に成型した。頸部正中切開にて、頸部気管を露出して、6x3mm大に気管切開孔を作成して、成型したバイオシートを6-0プロリオンにて連続縫合し、気管パッチ閉鎖した。移植後4週、頸部気管を摘出した。摘出した気管をH&E染色、サフラニンO染色、トルイジンブルー染色にて組織学的に検討した。さらにコラーゲンタイプ による免疫組織学的検討を行った。

生後4~6週の家兎から軟骨細胞

を分離し、軟骨輪に成型した足場に細胞を播種する。この再生軟骨輪相当の移植片を直径6mm径のチューブに配置して、皮下に移植する。移植後4~6週で採取して、解剖学的に模倣された下気道が異所性に再生されるか検討した。次に、この再生下気道を家兎の気管に切除端々吻合して、短期的に気道として機能するかを検討した。

4. 研究成果

10例の家兎にて気管パッチ術を施行した。縫合ならびに結紮に十分耐えうる強度を持ち合わせており、リークテストにて気密性も確保されていることが確認した。移植4週後にバイオシートにて気管形成した部位を摘出して、組織学的に検討した。組織学的に軟骨が再生されていることを確認した。また、免疫組織学的検討にてコラーゲンタイプ 2 が陽性であることも確認している。皮下組織による気管形成では軟骨再生される場合もあるが、必ずしも軟骨が再生されないことが確認された。

バイオチューブ上に軟骨輪用の再生軟骨組織を確認した。また、再生軟骨輪は、バイオチューブの線維性組織によって連続しており、解剖学的に模倣された下気道が再生可能であった。この再生軟骨は、家兎の気管軟骨輪と同等の力学的強度を有していた。さらに、この BIO-AIR-TUBE は、短期的に気道として機能した。

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1件)

Satake R, Komura M, Komura H, Kodaka T, Terawaki K, Ikebukuro K, Komuro H, Yonekawa H, Hoshi K, Takato T, Nakayama Y. Patch tracheoplasty in body tissue engineering using collagenous connective tissue membranes (biosheets). J Pediatr Surg. 2016 Feb;51(2):244-8. 査読有 doi: 10.1016/j.jpedsurg.2015.10.068.

[学会発表](計10件)

古村 眞、古村浩子、中山泰秀
解剖学的に模倣された人工気管 BIO-AIR-TUBE 再生の研究
第15回日本再生医療学会(2016.3.17) 大阪国際会議場、大阪市

古村 眞、佐竹 亮介、合原 巧、小高 哲郎、寺脇 幹、古村 浩子、中山 泰秀
バイオチューブと再生軟骨輪による複合的

自己代替組織気管(バイオエアチューブ)の研究
第53回日本人工臓器学会(2015.11.21)東京ドームホテル、東京

古村 眞

次世代治療技術としての自己結合組織管による気道再建の研究
第67回日本気管食道科学会(2015.11.20)ザ・クレイトン福島・福島市

古村 眞

バイオチューブと再生軟骨輪による複合的自己代替組織気管(バイオエアチューブ)の研究
第26回日本小児呼吸器外科研究会(2015.10.24)倉敷芸文館、倉敷市

Ryosuke Satake, Makoto Komura, Hiroko Komura, Yasuhide Nakayama

Basic research toward a cylinder-type regenerative airway (BIO-AIR-TUBE)
2015 TERMIS WORLD CONGRESS
(2015.9.8)Boston, USA

Makoto komura, Ryosuke Satake, Hiroko Komura, Yasuhide Nakayama

Patch tracheoplasty in body tissue engineering using collagenous connective tissue membranes (biosheets).
BAPS(British Association of Pediatric Surgeons)2015. (2015, 7, 22) Cardiff, England

古村 眞, 佐竹 亮介, 鈴木 啓介, 小高 哲郎, 寺脇 幹, 池袋 賢一, 米川 浩伸, 古村 浩子, 中山 泰秀

円柱型再生気道の基礎的研究
第52回日本小児外科学会学術集会
(2015.05.28)神戸国際会議場、神戸市

Makoto komura, Ryosuke Satake, Hiroko Komura, Yasuhide Nakayama

Basic research toward a cylinder type regenerative airway(Bio-Air-Tube).
PAPS(Pacific Association of Pediatric Surgeons)015, (2015,5,17) Jeju, South Korea

佐竹亮介, 古村 眞, 中山泰秀, 寺脇 幹, 小高哲郎, 鈴木啓介, 古村浩子. Biosheetを用いた気道再建、第52回日本人工臓器学会大会、(2014, 10, 14) 京王プラザホテル 札幌、札幌

古村 眞, 佐竹亮介, 寺脇 幹, 小高哲郎, 小西健一郎, 鈴木啓介, 中山泰秀, 岩井良輔. 生体内組織形成術を利用した自己組織代替

組織気管(バイオエアチューブ)開発コンセプトと試作、第51回日本人工臓器学会大会(2013.9.28) パシフィコ横浜、横浜

〔図書〕(計0件)

なし

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

なし

名称:人工気管、人工気管の生産方法、及び人工気管形成用基材

発明者:中山康秀、古村浩子、古村 眞

権利者:国立大学法人東京大学 独立行政法人国立循環器病研究センター

種類:特許

番号:PCT/JP2014/070551

出願年月日:2014年8月5日

国内外の別:外国

取得状況(計0件)

なし

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

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

佐竹亮介(SATAKE, Ryosuke)

埼玉医科大学・医学部・小児外科・客員講師

研究者番号: 70597526

(2)研究分担者

古村 眞(KOMURA, Makoto)

東京大学・医学部付属病院・特任研究員

研究者番号:10422289

星和人(HOSHI, Kazuto)

東京大学・医学部・准教授

研究者番号:30344451

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

(3)連携研究者
なし