

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2007～2008
課題番号：19591624
研究課題名（和文） 医工連携による、肺組織再生をめざした新たな肺気腫の治療法の開発
研究課題名（英文） Novel treatment strategy for the chronic emphysema aiming for regeneration of the lung by collaboration between medicine and engineering research.
研究代表者
南 正人(MINAMI MASATO)
大阪大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：10240847

研究成果の概要：

肺気腫に対して、従来の肺容量減少手術(LVRS)に、再生医療を導入した新しい治療法、すなわち、気腫肺に効果的に成長因子を到達させる具体的な方法として、自己脂肪組織から分離した間葉系細胞を足場に培養付着させ貼布する細胞シート法、および細胞を用いず担体から直接成長因子を放出する Drug Delivery System (DDS) の臨床応用の可能性を動物実験において明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：肺気腫、再生医療、成長因子、ドラッグデリバリーシステム、組織工学

1. 研究開始当初の背景

肺気腫は、年余にわたる運動機能の低下により、次第に日常生活が制限されていく進行性、不可逆性疾患で、近年、社会の高齢化と喫煙習慣に伴って患者数は増加の一途をたどっており、2020年には、虚血性心疾患、脳血管障害に次いで全世界の死亡原因の第3位になることがWHOにより予測されている。

肺移植は長期生存例が得られる治療であるが、ドナー不足は世界的に深刻であり、特に本邦においては肺移植が施行される機会は極めて少ない。また、肺容量減少手術（Lung Volume Reduction Surgery: LVRS）もその適応には制限が多く、ほとんどの場合、気管支拡張剤やステロイド剤による対症療法が主な治療法であるなかで、新たな治療法の開発が希求されている。

一方、我々は、一連の基礎的研究で、肺器官形成因子としての Hepatocyte growth factor (HGF) の再生医療への応用の可能性を報告してきた。ラット肺気腫モデルにおいて、内因性 HGF 低下が病態形成に関与しており、これを遺伝子導入により外的に補充することにより、肺胞と血管が再生されること、外科治療である Lung volume reduction surgery (LVRS) と組み合わせることにより肺機能の一層の改善効果が得られることを示した。

さらに、HGF による再生治療の臨床応用を想定した場合に、遺伝子導入効率の向上、治療効果の持続期間および安全性の確保などの問題が明らかになってきた。

そこで、採取の比較的容易な自己の脂肪組

織由来間葉系細胞 (Adipose tissue-derived stromal cell: ASC) により、気腫肺に効果的に成長因子を到達させる方法、さらには細胞を用いずに成長因子を直接放出する医療材料の可能性に着目した。

2. 研究の目的

従来の肺気腫に対する外科治療（Lung volume reduction surgery: LVRS）に、再生医療を導入することにより、肺気腫に対する治療法に新たな展開を求めることを今回の研究の目的とした。すなわち、気腫肺に効果的に成長因子を到達させる具体的な方法として、①採取および処理の容易な自己脂肪組織から分離した間葉系細胞を scaffold に培養付着させ貼布する細胞シート法、および②細胞を用いず担体から直接成長因子を放出する Drug Delivery System (DDS) の開発を目的とした。

3. 研究の方法

①脂肪組織由来間葉系細胞(ASC)シートの作製と至適条件の検索：

ラット大腿から脂肪組織を採取し、浮遊液から付着細胞を分離した。この ASC をすでに外科領域で使用されている PGA (polyglycolic acid) フェルトを敷いたディッシュに散布し培養した。この細胞シートの培養上清の HGF を測定した。

②成長因子徐放シートの開発：

PGA (polyglycolic acid) フェルトを HGF 徐放担体として用いる場合、両者の結合性や親和性を検証した。

③上記①および②の方法の評価のために、ラット気管切断、および気管切開縫合モデルの実用性を検討した。

4. 研究成果

①脂肪組織由来間葉系細胞(ASC)が付着したフェルトの培養上清において、HGFをはじめ VEGF など成長因子が放出されていることを示した。肺にシートを貼布することにより局所的に HGF の供給が可能であることが示唆された。

②PGA フェルトを成長因子 (たとえば HGF) に浸透させてもほとんど保持できないことが判明した。よって、すでに親和性が報告されているゼラチンで架橋することとし、ゼラチンを PGF フェルトに、圧着・接着する方法を確立した。続いて、このゼラチン-PGF シートの生理的条件下での動態を調べたところ、ゼラチンは、培養 24 時間後から溶解しはじめ、約 7 日までに完全に形態を失う一方、PGF は、1 週間以上、その形状を維持することが判明、すなわち、生体内で十分な時間作用することが示唆された。

③汎用されているラット気管の切離・端々吻合モデルは、全身麻酔下に気管内挿管しながらの吻合を要するため、長時間かかり、成績もきわめて不安定であった。よって気管を長軸方向に 2 軟骨切開し、2 針結紮縫合して閉鎖する方法を確立した。これにより、気管内挿管が不要となり手術時間が短縮され、安定した吻合部治癒過程の組織学的評価が可能になった。このモデルを用いることにより、生体内で①細胞シートおよび②徐放シートにより HGF を供給する際の、最も有効な培養条件を評価する方法が確立した。

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)

重村周文、塩野裕之、奥村明之進、澤 芳樹 . レビュー 肺の再生医療—基礎研究から臨床への展開に向けて—、治療 90:2000-7, 2008. (査読無)

[学会発表] (計 1 件)

奥村明之進、重村周文、塩野裕之、南 正人、井上匡美、内海朝喜、澤 芳樹. Hepatocyte growth factor (HGF) による肺再生に関する実験的研究、第 107 回日本外科学会定期学術集会、2007. 大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

南 正人(MINAMI MASATO)
大阪大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：10240847

(2) 研究分担者

奥村 明之進(OKUMURA MEINOSHIN)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号：40252647

澤 芳樹(SAWA YOSHIKI)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号：00243220

内海 朝喜(UTSUMI TOMOKI)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：40423165

井上匡美(INOUE MASAYOSHI)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号：10379232

宇山 浩(UYAMA HIROSHI)

大阪大学・工学系研究科・教授

研究者番号：70203594