

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10278

研究課題名(和文) 気管の縫合不全や気管支断端瘻に対する再生医学を応用した新しい予防・治療法の開発

研究課題名(英文) The new methods of treatment for the anastomotic leakage of the trachea with regenerative medical application

研究代表者

田浦 康明 (TAURA, Yasuaki)

長崎大学・病院(医学系)・助教

研究者番号：60437887

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：Cell sheet technologyは、細胞を特殊な培養容器で培養することにより、細胞塊としてしか回収できなかった細胞をシート状で回収して医療に応用する再生医療の一技術である。我々は、Cell sheet technologyを利用して、細胞シートを用いた呼吸器外科手術後の気道縫合不全に対する予防法の確立を目的とした実験を行った。ラットの皮膚から作製した初代培養細胞を用いてシート作製を行い、損傷気管への貼付を行った。結果、移植部の線維化や一定の強度が得られたことを確認した。

研究成果の概要(英文)：Cell sheet technology is one of the regenerative medical applications, that is, we retrieve a planar sheet cultured cells in the special dish. We have reported the prevention of tracheal anastomotic leakage after the respiratory operations with cell sheet technology. Cell sheet made from primary culture from rats transplanted to the injured trachea of other rats, and so the fibrosis and strength of the trachea transplanted with cell sheet was confirmed.

研究分野：再生医療、気管再生

キーワード：再生医療 細胞シート

### 1. 研究開始当初の背景

呼吸器外科による肺切除術や片肺全摘術、小児外科による肺切除術や気管形成術において、気管形成術・気管縫合術はしばしば要求される再建術式である。気管はそもそも大気と接触しており、潜在的に感染症などのリスクがある。手術後も気管縫合不全のリスクがあり、合併症の予防を検討すべき喫緊の課題である。気管形成術・気管縫合術後の自己の心膜や筋膜を利用した縫合不全予防策は講じられているが、それでも一定の割合で縫合不全が起こりうる。気管・気管支の縫合不全は、呼吸障害による人工呼吸器管理、気管切開、あるいは再手術など困難な対応を求められる。

### 2. 研究の目的

再生医療のプラットフォーム技術としての細胞シート工学、すなわち Cell sheet technology は、温度応答性ポリマーが固定化された特殊な培養容器（以下 UpCell, CellSeed 社）で細胞を培養することにより、従来は細胞塊として回収されていた培養細胞を、培養容器の温度変化によりシート状に保ったまま回収する技術である。現在この技術は、食道癌術後の食道狭窄の予防や、虚血性心疾患による心機能低下に対する心機能改善に応用されている。Cell sheet technology は、現在角膜や心筋、食道や軟骨組織など様々な臓器の再生医療において研究・開発が進んでおり、一部の臓器ではすでに臨床治療が行われている。すべての細胞による細胞シートの作製が可能とされている。本研究ではこの技術を気管に応用することとし、損傷気管に細胞シートを貼付することで治癒機構を促進させ、気管縫合不全に対する新たな予防法として確立することを目的とした。

### 3. 研究の方法

研究の課題は、細胞シートの作製が可能かどうか、気管損傷モデルの作製、細胞シートの移植、移植後の損傷部の検証である。細胞シート作製において、使用する細胞は線維芽細胞 (Fibroblast) を用いた。気管損傷モデルとして、ラットを用いた。気管を縦に切開し、切開部の縫合を行わずに閉創しても (Control model) 生存が可能であることを確認した。気管損傷モデルに細胞シートを移植し、1-2 週間後に犠牲死させ、気管損傷部を回収した。移植後の損傷部の検証は、病理学的評価と物理学的評価を行った。特に物理学的評価については、気管内を加圧 (Burst pressure) して、損傷部が圧にどの程度耐えうるかの評価を行った。

### 4. 研究成果

細胞シートの作製には、UpCell を用いた。線維芽細胞をコンフルエントになるまで

UpCell 上で培養し、細胞が重層化した後、温度を下げて細胞シートが作製・回収できることを確認した (図 1、2)。

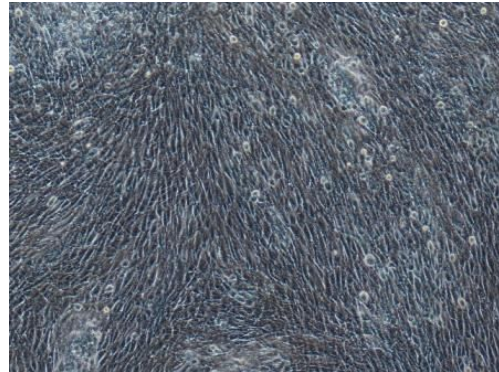


図 1

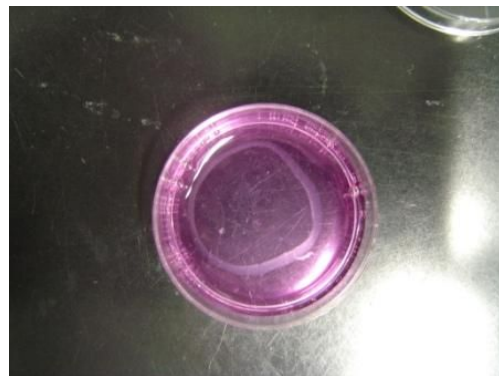


図 2

この技術を用いて、ラットの初代培養から採取した皮膚線維芽細胞を用いて同様に細胞シートを作製した。作製した細胞シートを、ラットの損傷気管の前面に移植貼付した (図 3)。



図 3

皮膚から採取した初代培養線維芽細胞を用いた細胞シートを、ラットの損傷気管に移植貼付した。病理学的に、損傷気管の前面に線維芽細胞シートが重層化して増殖していることを確認した (図 4)。

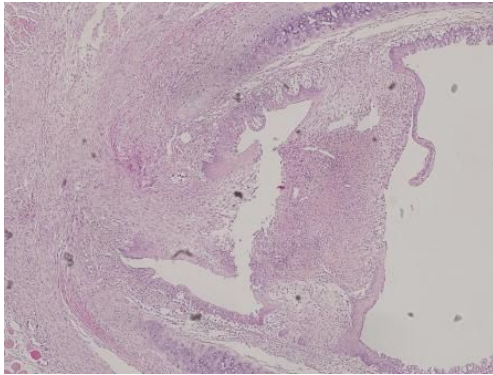


図 4

病理学的に、細胞シート移植部の細胞壁は厚くなり、強度が強くなっていることが示唆された。

物理学的評価として、細胞シートの移植気管と、非移植気管の強度測定を行った。移植と非移植のラットの気管を切離し、肺側断端を結紮閉鎖した。口側から挿管して結紮し、内腔に圧をかけて（Burst pressure）損傷部がどの程度の圧まで耐えうるかを検討した（図 5）。



図 5

細胞シートが移植貼付された気管と、非移植の症例の気管とを Burst pressure で測定すると、非移植例より移植例が強度が増していることが示唆された（図 6,7）

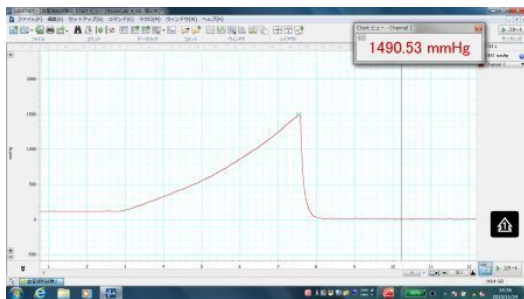


図 6 非移植気管

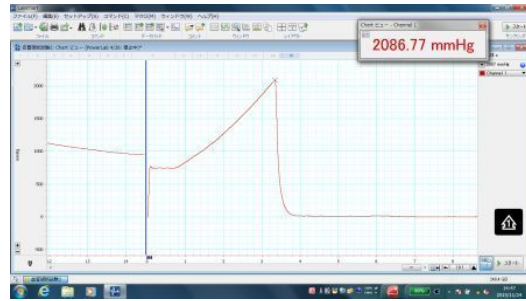


図 7 移植気管

細胞シートを移植した気管の強度は、非移植の気管よりも強度が強く、内腔からの圧にもより耐えうる可能性が示唆された。

Cell sheet technology は、細胞シートの作製が比較的容易で、扱いやすく、自己組織由来細胞のため原則的に拒絶が起きないため、今後も種々の治療に応用される可能性がある。今回移植された細胞シートは、炎症を惹起せずに線維化や強度の増生が見込めることが示唆された。細胞シートは作製が容易で、線維芽細胞は患者の皮膚の一部などから作製が可能である。線維芽細胞シートを気道縫合部に移植することにより、縫合不全のリスクが軽減し、合併症の予防に貢献できると考える。

#### 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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

田浦 康明 (TAURA, Yasuaki)  
長崎大学・病院 (医学系)・助教  
研究者番号: 60437887

##### (2) 研究分担者

松本 桂太郎 (MATSUMOTO, Keitaro)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学系)・講師  
研究者番号: 80404268

永安 武 (NAGAYASU, Takeshi)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学系)・教授  
研究者番号: 80284686

(3)連携研究者

谷口 大輔 (TANIGUCHI, Daisuke)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・  
医員  
研究者番号： 20773758

(4)研究協力者

なし