

平成 21 年 4 月 24 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591554

研究課題名（和文）羊膜を用いた非癒着性で蠕動運動を持つ消化管の再生

研究課題名（英文）Regeneration of non-adhesive intestine with peristalsis using amnion

研究代表者

萩原 明郎（HAGIWARA AKEO）

同志社大学・生命医科学部・教授

研究者番号：90198648

研究成果の概要：羊膜の抗癒着性に着目し、イヌの腹腔内で、口腔粘膜細胞・羊膜、自己平滑筋を用いた全周性消化管の二段階再生により、従来不可能であった、1年以上の長期間癒着化せず蠕動運動して内容物運搬機能を持つ消化管が再生された。この再生技術は、根本的治療方法がない炎症性腸疾患や腸間膜血管疾患の根本的治療、下部直腸癌根治手術における人工肛門回避の実現など、本研究の発展の臨床医学的意義と社会的貢献は大であると考えられる。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：小腸大腸肛門外科学・再生医学・腸管再生・羊膜

1. 研究開始当初の背景

(1) 研究動向及び位置づけ

消化管の再生は、従来の研究では癒着形成による狭窄・閉塞が問題点となり成功がなされていない。つまり様々な再生の足場を用いて消化管の再生が試みられてはいる。しかし当初は成功しても、長期的には徐々に癒着化し、癒着性硬化により蠕動運動をしない鉛管状の消化管を生じ、更に時間が経過すると癒着性収縮による管腔の狭窄・閉塞に至る。そのため長期にわたり開存し、かつ蠕動運動能力を持つ消化管の再生は、成功の報告がない

（マウスの嚢状腸管の形成の報告はあるが、いわゆる消化管の作成でなく、年余にわたる長期成功でもない。また犬の腸管再生の報告も、その後の追試研究で、長期には癒着化することが明らかになっている）。

この不成功の理由は次のような原則を克服する手段が無かったことによる。つまり、既に一旦個体が発生して体組織（臓器）が完成した状態では、臓器（組織）の再生修復は、炎症反応→癒着形成（つまり創傷治療）を含む一連の反応を経て行われる。従って、前記の消化管再生の不成功の原因となる、再

生過程で徐々に生ずる癒痕形成は、再生・修復・治癒という、生体組織の再生修復(=創傷治癒)の原則による不可避な過程と考えられる。

(2) 動機と経緯

(ア) 着想に至った経緯

上記の如く、一旦母体から体外へ生まれ出て体外生活を開始した動物やヒトは、皮膚などの体組織が創つけば、たとえ1次癒合した創でさえも、組織の治癒(再生修復)過程としての炎症反応を経て、何らかの癒痕形成を残して治癒する。一方、羊膜に包まれて母体内に存在している胎児の皮膚は、創をつけられても癒痕を全く形成せず完全に再生修復されて治癒することが、胎児手術の論文で報告されている。

これにヒントを得て、われわれは、「羊膜は、癒痕を形成せずに組織再生・修復を引き起こす能力があるのではないか」との着想を得た。その検討結果を次に述べる。

(イ) 予備的研究とその成果：その1

消化器癌の手術では、消化管壁の傷害に対する組織再生修復反応として癒痕形成や腸管癒着を生じて傷害・損傷が治癒するが、この癒痕や腸管癒着は、術後障害として腸管癒着や狭窄の原因となり、消化器外科領域の大きな課題である。この課題に対して、羊膜を用い、損傷された消化管壁を修復する実験をマウスやラットで行い、癒痕形成を全く伴わずに治癒して蠕動運動の良好な腸管壁や腹壁の再生と、癒着防止効果を認めた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、癒痕を形成しておらず従って癒痕による収縮や閉塞が無く、癒痕による壁硬化を起しておらず従って柔軟な壁を持ち蠕動運動を行う、このような消化管を、大動物(犬)を用いて再生することにある。

3. 研究の方法

(1) 方法の特徴

通常の内体での組織再生修復(創傷治癒)は必ず炎症反応→癒痕形成の過程を経過するので、癒痕形成は避けることは出来ない。この問題を解決する方法として羊膜の特殊性に着目した。すなわち、胎児における組織(臓器)発生過程では癒痕を形成せずに組織(臓器)が形成されるが、羊膜を再生の足場に用いれば、あたかも胎児における組織(臓器)発生と同じように、組織(臓器)の

再生修復が癒痕を形成せずに起こると考えられる。つまり羊膜を腸管再生の足場として用い、これに自己細胞を植え付けて体内で消化管を再生させるというものである。

(2) 実験動物としては、ヒトの消化管に近くまた手術操作でも類似の操作が出来る雑食性の大動物であるイヌ(ビーグル犬)を用いた。

(3) 羊膜の使用

羊膜を再生の足場の主材料とした腸管再生の複合足場を作成した。前述のように、胎児が胎内で発生する過程で臓器や組織が形成される臓器(組織)形成のメカニズムは、癒痕を形成しない点で、一旦発生して既に出来上がった個体の組織における通常の臓器(組織)の再生修復とは決定的に異なる。このような理由から、羊膜のこのような特質を利用した。

(3) 原型消化管の作成

自己口腔粘膜層を採取し、これから粘膜上皮と粘膜内Myofibroblastを分離し、自己血添加培養液を用いて培養しておいた(図1、2)。

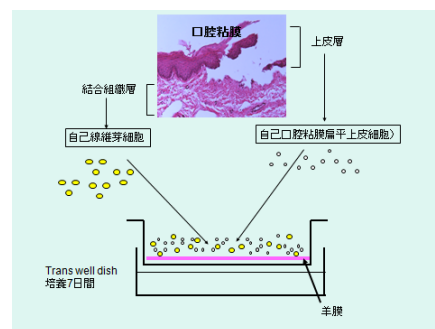


図1

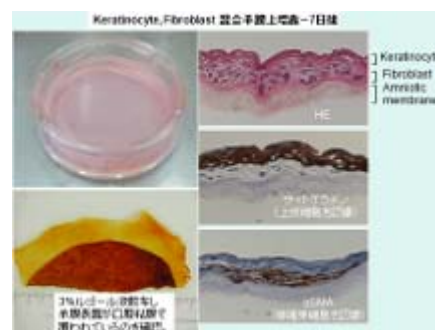


図2

消化管再生の足場の羊膜層の上にこの粘膜上皮細胞とMyofibroblastを播種し原型消化管とした(図3、4)。

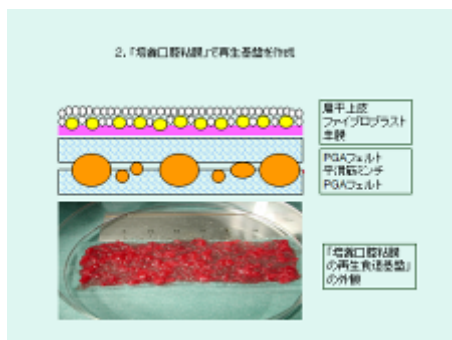


図3



図4

(4) 再生の手術操作

上記の羊膜を用いた消化管再生法により消化管を再生させる手術を行った。すなわち、1回目の手術でこの原型腸管を腹腔内に数週間置いて壁組織の成熟と血管化（大網を利用）をなさしめる。以上のように犬を用いて原型腸管を成熟させ腸管を再生させた。次に、第2回目の手術で再生腸管を自己の腸管と吻合して消化管再生を行った（図5）。



図5

(5) 評価方法

腸管の癒着形成と蠕動運動の状態を長期にわたって観察する必要から、評価方法は、術後1～18月に経時的にレントゲン消化管造影透視ビデオ撮影を行って、①蠕動運動の状態、②狭窄や拡張の有無、を検討した。

次に、実験動物を犠牲死せしめて再生腸管

を摘出し、摘出再生消化管の再生状態や癒着の有無につき病理組織学的に検討した。

4. 研究成果

(1) レントゲン画像による評価

レントゲン造影ビデオの画像により、再生消化管（食道）の狭窄や拡張の有無、蠕動運動、の2点について検討した。その結果、1年以上経過しても狭窄や拡張は認められず、かつ蠕動運動は良好であり、内容物の運搬能力を保持していることが明らかとなった（図6）。

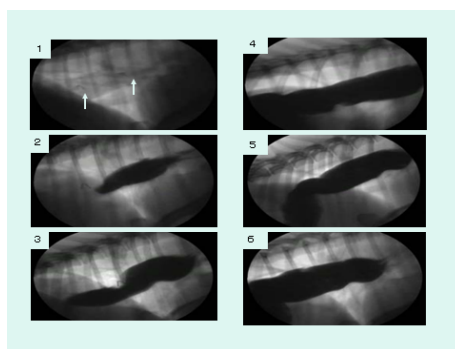


図6

(2) 病理組織学的検討

摘出された再生食道の写真を図7, 8に示した。

再生食道は狭窄や拡張を認めず、また粘膜面は正常に近い扁平上皮に覆われていて潰瘍等も認められなかった。

病理組織学的にも、癒着形成は認められなかった。内腔面は正常に近い粘膜の再生が認められたが、壁の固有筋層の再生状態は若干不十分であった。

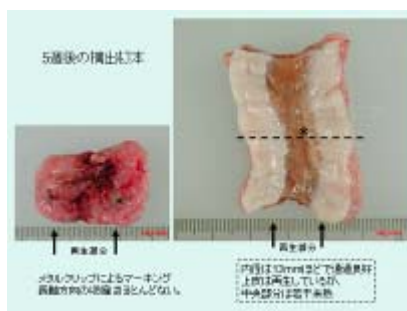


図7

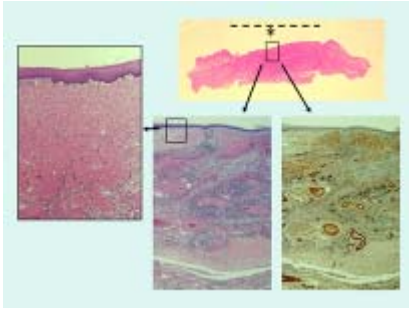


図 8

(3) 研究成果のまとめと意義

ヒトに近い雑食性動物であるイヌを用いて、腹腔内で食道再生を行う二段階再生と口腔粘膜細胞・羊膜と自己平滑筋を用いて全周性の消化管の再生を行った。その結果、1年以上にわたって癒痕や癒着を生ぜず、蠕動運動を持ち、内容物運搬機能を有する消化管が再生された。この結果、今までは実現されなかった全周性消化管を再生することが可能となった。

今後、上記のような機能を持った消化管を再生すれば、現在増加しつつあり、かつ根本的治療方法が存在しない炎症性腸疾患や腸間膜血管疾患の根本的な治療法を実現できる可能性がある。またこれも増加しつつある下部直腸癌では、根治手術における人工肛門が患者さん本人のQOL上も社会的にも問題になるが、この根本的解決も可能となる。更に食道癌における根治術後の再建臓器である胃管に原因する多くの問題点や、放射線化学療法後の食道狭窄・嚥下困難を根本的に解決する手段とも成り得る。

以上のように、この研究が成果をあげることによる臨床医学的意義と、社会的な貢献は大であると考えられる。

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1件)

① Yuen, Nakase

論文名「Intrathoracic esophageal replacement by in situ tissue-engineered esophagus」

掲載誌名「The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery」

巻：136

最初と最後の頁：850-859

発表年（西暦）：2008

査読の有無：有

[学会発表] (計2件)

① 中瀬有遠

「羊膜を使った食道および腹膜の再生」日本臨床外科医学会総会・2008.11.28

② 萩原明於

「口腔粘膜の抗癒痕性を利用した食道再生」日本外科学会総会・2008.5.16

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

萩原 明郎 (HAGIWARA AKEO)
同志社大学・生命医科学部・教授
研究者番号：90198648

(2) 研究分担者

中村 達雄 (NAKAMURA TATUO)
京都大学・再生医療研究所・准教授
研究者番号：70227908

阪倉 長平 (SAKAKURA CHOUHEI)
京都府立医科大学・医学研究所・講師
研究者番号：10285257

(3) 連携研究者

中瀬 有遠 (NAKASE YUEN)
同志社大学・生命医科学部・非常勤講師
研究者番号：10521528