

機関番号：16201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791327

研究課題名（和文） 生体内完全吸収型人工気管に関する実験的研究

研究課題名（英文） The experimental research on the artificial bioabsorbable trachea

研究代表者

張 性沫 (CHANG SUNSOO)

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00419508

研究成果の概要（和文）：BMP (bone morphogenetic protein)-2 および b-FGF (basic fibroblast growth factor) 徐放ゼラチンによる気管軟骨再生技術を応用し、生体吸収性人工気管でイヌの気管を管状置換し再生気管を観察することを目的とした。b-FGF および BMP-2 の軟骨再生のための至適用量はそれぞれ 100 μ g となった。生体吸収性材料であるポリ乳酸-カプロプロラクトン共重合体よりなる多孔性足場を用いたイヌ頸部気管置換実験では3頭中2頭が4週間生存した。気管狭窄は軽度であったが組織学的に軟骨再生は得られず、線維性組織の増生による気道保持であったと考えられた。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this research is a replacement of canine cervical trachea by the artificial bioabsorbable trachea with slow releasing cell growth factor. Optimum dose of cell growth factor (b-FGF: basic fibroblast growth factor, BMP-2: bone morphogenetic protein) was 100 μ g, respectively. Two-third of the cervical trachea replacement model with the use of a bioabsorbable poly-L-lactic acid and ϵ -caprolactone copolymer (PLAC) scaffold and slow releasing cell growth factor survived for 4 weeks without marked airway stenosis, cartilage regeneration was not revealed histologically.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,600,000	780,000	3,380,000

研究分野：再生医学

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：気管軟骨、b-FGF、BMP-2、組織再生、生体吸収性材料

1. 研究開始当初の背景

人工気管で気管を管状置換する試みは古

くからなされ、合成高分子化学の発展と共に種々の材料が検討されてきた。しかし生体適

合性が良いとされる非吸収性合成高分子製人工気管で、臨床応用された人工気管は Neville 型人工気管（ダクロン縫合輪を付けたシリコン管）、桂型人工気管（縫合用ダクロン帯をつけポリプロピレン螺旋で補強したシリコン管）以外にない。外界と接する気管は免疫応答が発達し移植局所で異物を体外に排出しようとする反応が強く働くため移植人工気管の脱落・吻合部肉芽形成による気道狭窄・気管内腔面に露出した人工気管の感染などの問題が発生したからである。一方自家・同種・異種の主に管腔臓器に様々な処理を施し代用気管とする研究も行われ、同・異種気管、食道・小腸・筋肉などが研究されたがこれらもその処理過程の煩雑さや感染や拒絶反応の問題、使用される化学薬品の安全性、ストックの煩雑さや安全性、倫理的問題などより、同種凍結気管が組織移植として特に欧州で臨床に供されているものの広く市販され臨床応用されるまでには至っていない。

気管の再生には気管の力学的強度を担う気管軟骨の再生が不可欠であり、我々はイヌ頸部気管部分欠損モデルにおいて BMP (bone morphogenetic protein)-2 および buff (basic fibroblast growth factor) 徐放ゼラチンを用いて気管軟骨の再生と新生骨の誘導に成功した。(①Igai H, Chang SS, Gotoh M, et al. Tracheal cartilage regeneration and new bone formation by slow release of bone morphogenetic protein (BMP)-2. *ASAIO J.* 54(1): 104-8, 2008. ②Igai H, Yamamoto Y, Chang SS, et al. Tracheal cartilage regeneration by slow release of basic fibroblast growth factor from a gelatin sponge. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 134(1): 170-75, 2007. ③Igai H, Chang SS, Gotoh M, et al. Regeneration of Canine Tracheal Cartilage by Slow Release of Basic Fibroblast Growth Factor from Gelatin Sponge. *ASAIO J.* 52(1): 86-91, 2006.)

この軟骨再生技術を応用して、生体吸収性人工気管による気管管状置換と気管再生を目指す。

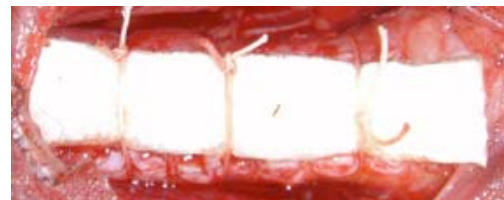
2. 研究の目的

(1) 頸部気管軟骨切除モデル犬の軟骨欠損部に細胞増殖因子徐放ゼラチンスポンジを移植することでより良好な気管軟骨再生を誘導することを目的としている。これまでの研究により b-FGF あるいは BMP-2 の単独徐放と比較しこれら細胞増殖因子の共徐放によってより良好な軟骨再生が可能であることが判明した。これらの二重移植による研究結果をもって、b-FGF と BMP-2 の二重移植における軟骨再生に対する至適濃度比率を決定する。

(2) 頸部気管管状切除モデル犬の気管欠損部に、生体吸収性足場と細胞増殖因子徐放ゼラチンスポンジよりなる人工気管を置換し、気道内腔保持と生存可能かどうかの評価と、組織学的評価、気管軟骨再生の有無についての評価を行うことを目的としている。

3. 研究の方法

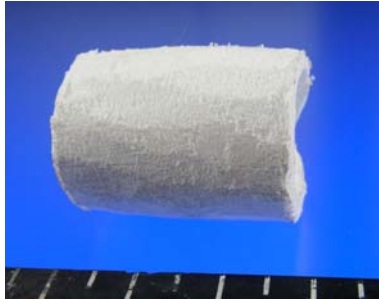
(1) 10 本のイヌ頸部気管軟骨輪腹側中央部を 1cm 部分切除し、気管軟骨欠損部に成長因子徐放ゼラチンスポンジを移植した。



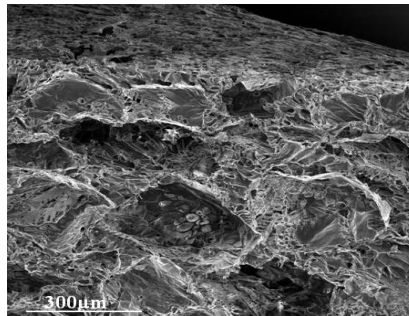
b-FGF 徐放には塩基性等電点のゼラチンを、BMP-2 徐放には酸性等電点のゼラチンを使用した。b-FGF および BMP-2 をそれぞれ 100 μ g および 1000 μ g 含浸させたゼラチンスポンジを作成し、これらの 2 重移植を各 1 頭ずつ作成した (計 4 頭作成)。気管軟骨再生の臨床応用へは早期の完成を要すると考え、当初の予定を変更し全例 1 ヶ月の時点で犠牲死させ組織学的に検討し、BMP-2 と b-FGF の軟骨再生に対する至適濃度比率を検討した。

(2) 生体吸収性材料であるポリ乳酸-カプロプロラクトン共重合体: PLAC (75 : 25、分子量 600000, BMG Co. Ltd. Kyoto, Japan) をジオキサンに溶解し、径 200~300 μ m の塩化

ナトリウムを混和、凍結乾燥後に塩化ナトリウムを溶解させるポローゲンリーチング法を用いて、長さ 30mm・厚さ 3mm の円筒状多孔性足場を作成した。気道再建には適度な硬度と elasticity を要するため同吸収性材料を選択した。



(図1) ポリ乳酸-カプロプロラクトン共重合体(PLAC)円筒状多孔性足場



(図2) 電子顕微鏡所見

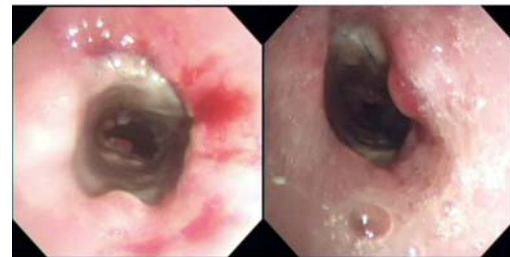
イヌ頸部気管を 3cm (5 気管軟骨輪) 管状切除した。BMP-2 と b-FGF それぞれ 100µg を含浸させた塩基性ゼラチン・酸性ゼラチン・PLAC 多孔性足場を bFGF+BMP-2 徐放人工気管とし、イヌ頸部気管欠損部に 3-0 プロリンで端々吻合した (計 3 頭作成)。気管軟骨再生の臨床応用へは早期の完成を要すると考え当初の予定を変更し全例 1 ヶ月の時点で犠牲死させ組織学的に検討する方針とした。

4. 研究成果

(1) b-FGF および BMP-2 をそれぞれ 100µg から 1000µg へ増量することによる軟骨再生の優位性は得られなかった。また b-FGF1000µg の標本では軟骨周囲の線維化と炎症が強く認められた。以上より軟骨再生のための至適用量としては b-FGF および BMP-2 それぞれ 100µg と結論した。

(2) 1 頭が 27 日目に死亡、2 頭は生存した。死亡例の死因は PLAC 足場の吸収に伴い気道内腔に PLAC 材料が落ち込んだことによる気道閉塞が原因であった。1 週ごとの内視鏡検査では死亡例を含めた全例において、1-2 週では内腔の狭窄は認めず吻合部の状態も良好であったが、3-4 週では吻合部の肉芽形成による軽度の狭窄を認めた (下図)。全例、感染や縫合不全などの合併症は認めなかった。

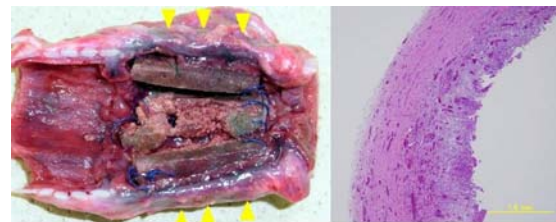
気管支鏡所見



置換1週後

置換4週後

組織学的評価では線維芽細胞の高度増生と血管新生を認めた。PLAC 足場材料の吸収に伴う内腔保持力低下にも関わらず明らかな狭窄を認めなかった要因としては、この著明な線維芽細胞増生により内腔保持が可能であったと考えられた。イヌ頸部気管軟骨輪腹側部欠損モデルで確認可能であった軟骨組織の再生は認められなかった。



線維性組織増生を認める

線維芽細胞の増生・血管新生を認める

本研究における気管管状切除モデルでは、気管部分欠損モデルで認めた気管軟骨の再生は認められなかった。その要因としては、部分欠損モデルでの欠損は 1cm と距離が小さいことが挙げられるが、軟骨膜や気道上皮粘膜を温存したモデルであることも大きな要因と考えられた。3 例中 2 例で 4 週の生存と内腔保持が得られたものの軟骨再生には至

っておらず、同モデルでの更なる長期生存の可能性は低いと考えられる。また、吸収性足場材料の気道内露出は、吸収に伴う破損による窒息の危険性が伴う。気道上皮の早期再生や自家移植などの工夫が必要と考えられた。

5. 主な発表論文等

なし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

張 性洙 (CHANG SUNSOO)

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00419508