

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：34310

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591986

研究課題名(和文)羊膜を用いた腸管粘膜を持ち栄養吸収を行う全周性腸管の再生：イヌを用いた研究

研究課題名(英文)Regeneration of circumferential intestine with mucosal layer and alimentary absorption-function using amniotic membrane: in dog experiment

## 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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：従来、全周性腸管の再生が不可能であった理由は、体組織の再生修復(=創傷治癒)が炎症反応・癒痕(線維化)を残し治癒するのと同様、再生腸管の壁も徐々に線維化・癒痕化すること、腸管再生の足場に播種した上皮細胞は数週で萎縮・消失し長期的な再生・定着をしない、にあった。本研究では、再生足場の内腔側の腸粘膜メッシュのかわりに同じ上皮系である肝細胞を用いて足場に播種し線維芽細胞と腹腔内共培養し、羊膜の代わりにP(LA/CL)コポリマーと大網のロール状の重層腸管壁チューブの作成に成功した。その結果、上皮系内層を持ちかつ癒痕が無く、その結果、栄養吸収機能の可能性を持つ全周性チューブ(腸管壁)の再生を行った。

研究成果の概要(英文)：There have been two reasons for the difficulty to regenerate circumferential intestine, namely (1) (2). In the present study liver cells were disseminated instead of intestinal mucosal cells on the inner layer of the scaffold as the epithelial cells, and P(LA/CL) co-polymer mesh was used as the scaffold instead of the amniotic membrane. The P(LA/CL) co-polymer mesh where the hepatic cells had been disseminated and the greater omentum were made into a double layered sheet, then the double layered sheet was wrapped overlapping three times into a shape of a tube in the abdominal cavity. Thus the tube was composed of the P(LA/CL) co-polymer mesh layer and the omentum layer overlapping three times each other. The tube was incubated in the abdominal cavity so that the epithelial cells should grow and the fibroblasts and bold capillaries should infiltrate into the tube should finally form the intestinal wall-like from.

研究分野：消化器外科学

キーワード：腸管再生 動物実験 再生医学

### 1. 研究開始当初の背景

従来、本研究課題の様な腸管粘膜を持ち栄養吸収を行う全周性腸管の再生が不可能であった理由は、(1)体組織の再生修復(=創傷治癒)が必ず炎症反応 何らかの癒痕(線維化)を残し治癒するのと同様、再生腸管の壁も徐々に線維化・癒痕化する。(2)腸管再生の足場に腸粘膜細胞塊を播種しても、腸管粘膜細胞は数週で萎縮・消失し、粘膜上皮は長期的な再生・定着をしない。これら(1)(2)が原因となり、再生腸管は数週間で粘膜層を失い、かつ壁内の癒痕(線維)化・硬化が進行し、長くとも1年以内に、栄養吸収機能を持つために必要な2要素、つまり腸粘膜層と蠕動機能の両方を喪失する。実際、1年以上の長期間、栄養吸収能を持つ(=腸の吸収粘膜を維持し蠕動運動する)腸管の再生は、国内外の何れでも成功報告がない。マウスの嚢状腸管や腸管壁の一部(全周性でない)の作成報告はあるが、「管」の再生ではない。他のイヌの腸管再生の報告も、後の追試研究で早期に粘膜消失と癒痕化(線維化)を起こすことが判り、1年余にわたる長期成功はない。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、腸管粘膜を持ち栄養吸収を行う(つまり腸の吸収粘膜を持ち癒痕(線維化)が無く蠕動運動する)全周性腸管を、イヌで再生することである。栄養吸収には、吸収粘膜と共に蠕動運動が必要で、この様な全周性腸管の再生は従来不可能であった。その理由は、(1)線維(癒痕)化と(2)腸粘膜層の再生困難、に要約される。応募者らは、H20年度までの科学研究費助成研究とH21-23年度科学研究費助成研究での研究成果を基に、この研究を更に発展させ、未だ成功報告のない腸粘膜層を持ち栄養吸収を行う全周性腸管の再生をイヌで行う。

### 3. 研究の方法

羊膜に包まれている胎児の皮膚等の組織は、通常再生修復と異なり、癒痕を生じない。この点に着目し、応募者らは、再生足場に羊膜シートを用い全周性食道の再生に成功した。また腸管再生足場の全層に豊富な血流を供給する方法として羊膜と大網を四重のロール状に重ね巻きした腸管再生チューブを工夫し、血流豊富な平滑筋・線維芽細胞層を持つ全周性腸管を再生した。これらこれまでの研究により確立した方法

を援用し、腸粘膜の再生維持を実現するため、(ア)羊膜シートの再生足場、(イ)再生足場の内腔側の腸粘膜メッシュを、足場に播種された消化管由来の平滑筋や線維芽細胞と腹腔内共培養、(ウ)羊膜と大網のロール状の重層腸管再生チューブの3つを工夫し、腸粘膜層を持ちかつ癒痕が無く、その結果、栄養吸収機能を持つ全周性腸管の再生を、最終的にはイヌで行う。

### 4. 研究成果

本研究では、再生足場の内腔側の腸粘膜メッシュのかわりに同じ上皮系である肝細胞を用いて足場に播種し線維芽細胞と腹腔内共培養し、羊膜の代わりに P(LA/CL)コポリマーと大網のロール状の重層腸管壁チューブの作成に成功した。その結果、上皮系内層を持ちかつ癒痕が無く、その結果、栄養吸収機能の可能性を持つ全周性チューブ(腸管壁)の再生を行った。

### 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13件)

Tsuyoshi Torii, Kentatsu Kanemitsu,

Akeo Hagiwara

Improving Serum Sialic Acid

Determination with

Cetyltrimethylammonium Bromide and

Clinical Significance of Sialic Acid Levels

in Colorectal Cancer

府立医科大学雑誌、査読有

124(2)2015、123-137

Mari Matoba, Ayumi Hashimoto, Ayumi Tanzawa, Taichi Oriyasa, Junki Ikeda, Yoshizumi Iwame, Yuki Ozamoto, Rie Abe, Hiroe Miyamoto, Chiko Yoshida, Toru Hashimoto, Hiroko Torii, Hideki Takamori, Shinichiro Morita, Hiroyuki Tsujimoto and akeo Hagiwara

Prevention of polyglycolic acid (PGA)-causing peritoneal adhesions using alginate in a rat model.

Biomedical Research International、査読有、in press

Akari kawasumi, Zhen Wang, Yutaka Kotani, Atsushi Tamura, Misaki Tsuji, Maho Hayashi, Junki Ikeda, Taichi Oriyasa, Hideki Takamori, Yuki Ozamoto, Shinichiro Morita, Hiroyuki Tsujimoto, Mamoru Urabe, akeo Hagiwara

New scaffolds for tissue engineering using adipose-derived stem cells、同志社大学理工学研究報告、査読有、54(1)、2013、41-51

Horii Tsunehito, Tsujimoto Hiroyuki, Miyamoto Hiroe, Ikeda Junki, Oriyasa Taichi, Narita Kazuyuki, Takamori Hideki,

Torii Hiroko, Ozamoto Yuki, Morita Shinichoro, Urabe Mamoru, Nakamachi Eiji, Hagiwara Akeo

A preliminary study of the physical properties of a new anti-adhesive material made of thermally cross-linked gelatin film、同志社大学理工学研究報告、査読有、54(1)、2013、52 - 58

Yutaka Kotani, Zhen Wang, Atsushi Tamura, Akari kawasumi, Misaki Tsuji, Maho Hayashi, Junki Ikeda, Taichi Orikasa, Hideki Takamori, Yuki Ozamoto, Shinichiro Morita, Hiroyuki Tsujimoto, Mamoru Urabe, Akeo Hagiwara

Non-woven PGA fabrics for the treatment of pancreatic juice leakage : a preliminary report、同志社大学理工学研究報告、査読有、54(1)、2013、66 - 74

Zhen Wang, Yutaka Kotani, Atsushi Tamura, Akari kawasumi, Misaki Tsuji, Maho Hayashi, Junki Ikeda, Taichi Orikasa, Hideki Takamori, Yuki Ozamoto, Shinichiro Morita, Hiroyuki Tsujimoto, Mamoru Urabe, Akeo Hagiwara

Gelatin sponge sheet combined with gelatin glue as new topical hemostatic materials : a preliminary report in an animal model、同志社大学理工学研究報告、査読有、54(1)、2013、36 - 40

Miyamoto Hiroe, Tsujimoto Hiroyuki, Horii Tsunehito, Ikeda Junki, Orikasa Taichi, Takamori Hideki, Torii Hiroko, Ozamoto Yuki, Morita Shinichoro, Urabe Mamoru, Hagiwara Akeo

The effects of thermally cross-linked gelatin film on intraperitoneal dissemination of cancer cells : an in vitro study using human gastrointestinal cancer cell lines、同志社大学理工学研究報告、査読有、54(1)、2013、16 - 20

Hiroyuki Tsujimoto, Hideki Takamori, Misaki Tsuji, Maho Hayashi, Junki Ikeda, Taichi Orikasa, Hiroko Torii, Yuki Ozamoto, Shuko Suzuki, Shinichiro Morita, Yoshito Ikada, Akeo Hagiwara Development of gelatin flakes, a new type of anti-adhesive material: a preliminary study of in vivo rat adhesion models、surgery Today、査読有、44(2)、2014、391-394

Chiko Yoshida, Ayumi tanzawa, Atsushi Tamura, Junki ikeda, taichi Orikasa, Hideki takamori, Shinichiro Morita, Hiroyuki tsujimoto, Akeo Hagiwara

The Biological Properties of the Alkali-treated Collagen and Gelatin -A preliminary study of their Influence on Cell Growth When Used as Scaffolds-、同志社大学理工学研究報告、査読有、53(3)、2012、121-126

Junki Ikeda, Taichi Orikasa, Ayumi

Tanzawa, Mari Matoba, Yoshizumi Iwame, Chiko Yoshida, Hiroko Torii, Yuki Ozamoto, Ayumi Hasimito, Hiroyuki Tsujimoto and Akeo Hagiwara、同志社大学理工学研究報告、査読有、53(1)、2012、49 - 53

Taichi Orikasa, Junki Ikeda, Ayumi Tanzawa, Mari Matoba, Yoshizumi Iwame, Chiko Yoshida, Hiroko Torii, Yuki Ozamoto, Shinichiro Morita, Koichi Hatakeyama, Hiroyuki Tsujimoto and Akeo Hagiwara The anti-adhesive effect of thermally cross-linked gelatin film and its influence on the intestinal anastomosis in canine models、J. Biomedical Materials Res、査読有、101(1)、2012、99 - 109

Yoshikawa T, Hamada S, Otsuji E, Tsujimoto H, Hagiwara A Endocrine differentiation of rat enterocytes in long term 3-dimensional co-culture with intestinal myofibroblasts、In-Vitro cell Dev. Biol、査読有、47、2012、707 - 715

〔学会発表〕(計 20 件)

辻本洋行、高森秀樹、吉田千子、宮本博恵、堀井常人、辻美咲、池田潤基、折笠太一、小座本雄軌、鳥井裕子、竹本洋一、鈴木周子、森田真一郎、筏義人、萩原明郎  
再生の足場材料を用いた癒着防止材 再生医療の手法の外科的応用の汎用化をめざして一、第 114 回日本外科学会、京都、2014/4/3-5

Yuki Ozamoto, Hiroko Torii, Takeshi Togawa, Akeo Hagiwara  
Efficacy of Bariatric Surgery for Severe Heart Failure with Morbid Obesity (Cases Report From Japan)、International Federation for the surgery of Obesity and Metabolic disorders 2014、Montreal、2014/8/26-30

Hiroko Torii, Yuki Ozamoto, Takeshi Togawa, Masanori Fujishiro, Mamoru Urabe, Hideki Takamori, Shinichiro Morita, Taichi Orikasa, Junki Ikeda, Akeo Hagiwara  
Successful Application of a New Reinforcement of PGA Non-Woven Fabric Combined with Stapler Installed to Sleeve Gastrectomy in Bariatric Surgery、International Federation for the surgery of Obesity and Metabolic disorders 2014、Montreal、2014/8/26-30

Takeshi Togawa, Yuki Ozamoto, Hiroko Torii, Akeo Hagiwara  
A First Case Report of Weight Loss Surgery for a Patient on Haemodialysis in Japan、International Federation for the surgery of Obesity and Metabolic disorders 2014、Montreal 2014/8/26-30

堀井常人、辻本洋行、辻美咲、阿部里恵、宮本博恵、山中皓暉、鳥井裕子、小座本雄軌、高森秀樹、鈴木周子、森田真一郎、筏義人、萩原明郎

再生の足場を用いた新規癒着防止材熱架橋ゼラチンフィルムの有用性 セルロースフィルムとの比較、第14回再生医療学会総会、横浜、2015/3/19-21

宮本博恵、辻本洋行、山中皓暉、韓沛、川澄あかり、王震、田中翔大、増井亮仁、堀井常人、鳥井裕子、小座本雄軌、高森秀樹、鈴木周子、森田真一郎、筏義人、萩原明郎

再生の足場を用いた新規癒着防止材熱架橋 gelatin film の癌の腹膜播腫性転移に与える影響について、第14回再生医療学会総会、横浜、2015/3/19-21

高森秀樹、辻美咲、小林大毅、阿部里恵、折笠太一、鳥井裕子、小座本雄軌、辻本洋行、萩原明郎

再生の足場材料からなる粉末状癒着防止材の癒着防止効果の検討、第13回日本再生医療学会総会、京都、2014/3/4-6

辻本洋行、高森秀樹、吉田千子、宮本博恵、堀井常人、辻美咲、池田潤基、折笠太一、小座本雄軌、鳥井裕子、鈴木周子、平嗣良、森田真一郎、筏義人、萩原明郎

再生の足場材料を用いた癒着防止材再生医療の手法の応用の汎用化をめざして、第13回日本再生医療学会総会、京都、2014/3/4-6

折笠太一、池田潤基、鳥井裕子、小座本雄軌、森田真一郎、高森秀樹、辻本洋行、萩原明郎

組織再生足場の繊維間距離が肉芽組織の形成に及ぼす影響、第13回日本再生医療学会総会、京都、2014/3/4-6

池田潤基、折笠太一、王震、田村篤、川澄あかり、辻美咲、高森秀樹、小座本雄軌、鳥井裕子、辻本洋行、萩原明郎

イヌ肺における生体吸収性不織布の癒着惹起及び組織再生促進効果の評価、第13回日本再生医療学会総会、京都、2014/3/4-6

折笠太一、池田潤基、鳥井裕子、小座本雄軌、森田真一郎、高森秀樹、辻本洋行、萩原明郎

Changes in granulation-formation induced by different fiber-diameters in scaffolds for tissue-regeneration、第34回日本炎症・再生医学会、京都、2013/7/2-3

池田潤基、辻本洋行、折笠太一、吉田千子、宮本博恵、堀井常人、辻美咲、小座本雄軌、鳥井裕子、高森秀樹、鈴木周子、森田真一郎、筏義人、萩原明郎

再生の足場材料を用いた癒着防止材熱架橋ゼラチンフィルムによる癒着防止・腹膜再生効果と消化管吻合部への影響、第34回日本炎症・再生医学会、京都、2013/7/2-3

辻本洋行、高森秀樹、辻美咲、池田潤基、折笠太一、吉田千子、宮本博恵、堀井常人、小座本雄軌、鳥井裕子、鈴木周子、森田真

一郎、筏義人、萩原明郎

再生の足場材料を用いた癒着防止材 - 腹腔鏡手術に応用可能な新規癒着防止材 gelatin flake の特性について、第34回日本炎症・再生医学会、京都、2013/7/2-3

辻本洋行、丹澤あゆみ、吉田千子、堀井常人、宮本博恵、折笠太一、池田潤基、高森秀樹、鳥井裕子、小座本雄軌、鈴木周子、森田真一郎、竹本洋一、筏義人、萩原明郎

新規癒着防止材熱架橋 gelatin film の物理的・生物学的特性 架橋度と癒着防止効果の関係について、第113回日本外科学会定期学術集会、福岡、2013/4/11-13

丹澤あゆみ、辻本洋行、折笠太一、池田潤基、吉田千子、阿部里恵、堀井常人、宮本博恵、鳥井裕子、小座本雄軌、鈴木周子、平嗣良、森田真一郎、筏義人、萩原明郎

新規癒着防止材熱架橋 gelatin film の生物学的特性 架橋度と癒着防止効果の関係について、第11回日本再生医療学会総会、横浜、2012/6/11-13

辻本洋行、丹澤あゆみ、折笠太一、池田潤基、吉田千子、鳥井裕子、小座本雄軌、竹本洋一、鈴木周子、平嗣良、森田真一郎、筏義人、萩原明郎

再生の足場材料を用いた癒着防止材熱架橋 gelatin film による腹膜の再生と消化管吻合部への影響、第11回日本再生医療学会総会、横浜、2012/6/11-13

鳥井裕子、丹澤あゆみ、池田潤基、折笠太一、小座本雄軌、辻本洋行、卜部諭、萩原明郎

ビーグル犬における特殊架橋ゼラチンシートによる子宮の癒着防止効果の検討、第11回日本再生医療学会総会、横浜、2012/6/11-13

萩原明郎、大辻英吾、阪倉長平、小座本雄軌、戸川剛、吉田俊秀、川村功 高度肥満症に対する減量消化管手術を安全に行うための手術手技と周術期の要点 われわれの経験から、第112回日本外科学会定期学術集会、千葉、2012/4/12-14

小座本雄軌、橋本歩、鳥井裕子、戸川剛、辻本洋行、中村達雄、鳥井剛司、桑原正喜、萩原明郎 新規開発縫合部補強材による自動縫合器の肺縫合部からの空気漏防止効果(犬の実験)、第112回日本外科学会定期学術集会、千葉、2012/4/12-14

辻本洋行、丹澤あゆみ、橋本歩、的場麻理、吉田千子、竹本洋一、石橋治昭、鈴木周子、森田真一郎、筏義人、萩原明郎 熱架橋 gelatin film を用いた癒着防止と消化管吻合部への影響、第112回日本外科学会定期学術集会、千葉、2012/4/12-14

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 3 件）

名称：組織再生基材  
発明者：萩原明郎、松崎光隆、高森秀樹、  
権利者：同上  
種類：

番号：PCT/JP2014/064101

出願年月日：2014/5/28

国内外の別： 国外

名称：内視鏡システム  
発明者：横内久猛、萩原明郎、廣安知之  
権利者：同上

種類：

番号：2013080456

出願年月日：2013/4/8

国内外の別： 国内

名称：生体吸収性癒着防止材料  
発明者：萩原明郎、辻本洋行、折笠太一、岩  
目芳純、丹澤あゆみ、池田潤基、森田真一郎、  
畠山紘一

権利者：同上

種類：

番号：2012-098310

出願年月日：2012/4/24

国内外の別： 国内

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

萩原明郎（ハギワラ アケオ）  
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

なし

研究者番号：

(3) 連携研究者

筏義人（イカダ ヨシト）  
京都大学 名誉教授  
研究者番号：00025909