

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 27 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462775

研究課題名(和文) 脂肪組織由来幹細胞を用いた三次元腸管組織再生法の開発

研究課題名(英文) Development of 3-D intestinal regeneration using the adipose tissue-derived mesenchymal stem cell

研究代表者

石橋 広樹 (ISHIBASHI, Hiroki)

徳島大学・大学病院・講師

研究者番号：20314867

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：腸管再生に関する研究として、ラットの小腸にシリコンチューブおよびバイクリルメッシュを挟み吻合する腸管再生モデルに、脂肪組織由来間葉系幹細胞(MSC)を投与することにより多中心的・三次元的腸管再生がおこると仮説を立て研究した。結果は、ラットで腸管再生モデルの作成に成功し、8週目に完全な腸管の再生が確認できた。vicryl meshを用いたモデルの作成にも成功した。しかし、vicryl meshモデルにMSCを投与したが有意な腸管再生の延長は得られなかった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to investigate intestinal regeneration in a surgical model using the adipose tissue-derived mesenchymal stem cell. Roux-en-Y bypass procedures using a silicone tube and a Vicryl mesh tube were performed on Wistar rats. In 8 weeks after implantation with a silicone tube, the complete intestinal regeneration was recognized. However, after implantation with a Vicryl mesh tube using MSC, the lengthening of intestinal regeneration was not recognized.

研究分野：消化器外科

キーワード：短腸症候群 腸管再生 脂肪由来幹細胞

1. 研究開始当初の背景

(1)短腸症候群は、広範囲小腸切除後に小腸が本来の1/2~1/3以下しか残存しておらず、経口摂取のみでの水分および栄養の吸収では生命を維持することが困難な状態である。Total paraenteral nutrition (TPN)の開発進歩により生命維持の延長が可能とはなっていないが、長期のTPNは肝不全へといった肝障害を引き起こすことや、sepsisの原因となること、さらには幾度となく起こるline閉塞および感染のためline確保困難などの予後不良因子としての問題を抱えている。またTPNは医療コストの面でも世界的に問題となっており、米国では在宅でのTPNでは年間に患者1人あたり100,000ドル以上の医療費が必要となると報告されている。このように本疾患は患者の予後の面および医療費の面双方からの問題がある。他の治療法として腸管の延長術があり、腸管を短冊状に交互に割をいれるものや、長軸方向に二分割する方法などが施行されているが、腸管長の延長には限界があり依然根本的な治療法としては確立していない。小腸移植も治療法の一つとして挙げられるが、ドナーの問題もあり、治療成績も依然満足は行くものとは言い難い。

(2)2008年にS. C. Jwoら(British J Surg, 2008)は、新たなモデルとしてラットの小腸にシリコンチューブを挟み吻合、チューブ内の完全な腸管再生を報告している。一方、脂肪組織由来間葉系幹細胞(MSC)は新たな幹細胞資源として期待され、すでに心疾患領域では臨床応用が展開されている。

2. 研究の目的

そこで我々は、JwoモデルにMSCを投与することにより多中心的・三次元的腸管再生がおり、さらなる再生能力促進、機能獲得が得られると仮説(図1)を立て、腸管再生における臨床応用を目指し、MSCの有効性について研究する。

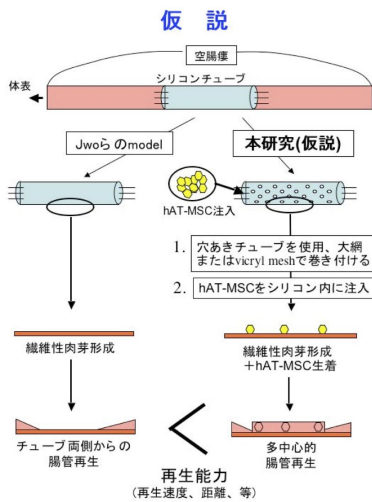


図1: 仮説

3. 研究の方法

(1)ラット腸管再生モデル作成: Jwoらが作成したモデルと同様の手技にてシリコンチューブを用いて、腸管再生ラットモデルを作成し、腸管再生を追試し、これをコントロール群とする。(図2)

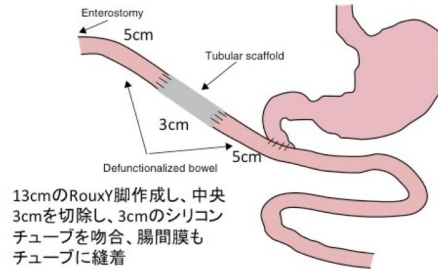


図2: モデルにおける腸管作成の手術法

(2)ラット腸管再生モデルでシリコンチューブの代わりに、生体吸収性素材を使用したモデルを作成する。吸収素材 Polyglactin からの vicryl mesh の内、腸管内容の漏れが少ないと考えられる woven type をチューブ外側に巻き付け、2、4、6週目にチューブを摘出、腸管再生を確認する。

(3) rMSC 投与による腸管再生性能の評価:

生体吸収性素材(vicryl mesh)を scaffold にして、ここへ rMSC(ラット脂肪由来間葉系幹細胞)を投与し、腸管の再生を確認する。rMSC の投与により腸管再生の速度が亢進することが期待されるとともに形成可能なチューブの最大長の延長が期待される。rMSC を最初の開腹手術時、vicryl mesh を巻き付ける際に、チューブ外側に投与する。

4. 研究成果

(1)ラット腸管再生モデルの作成

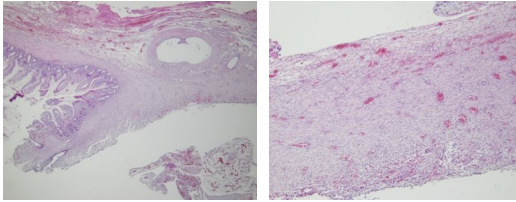
Wister rat(体重 250g)で、図2のように腸管再生モデルを作成した(n=5)。



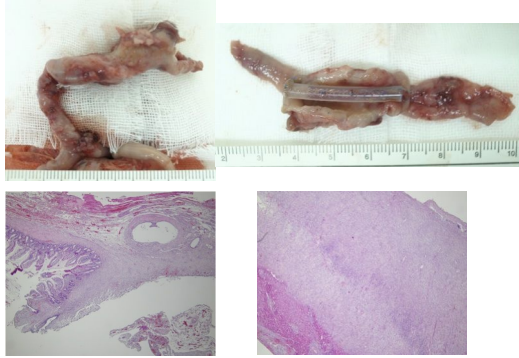
術後1週間目

シリコンチューブの周囲は、肉芽組織と膠原線維で覆われていた。粘膜なし。

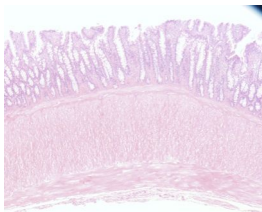
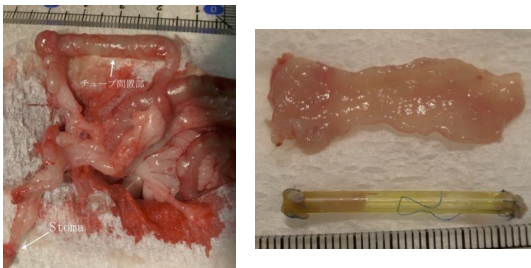




術後 2 週目
シリコンチューブの周囲の肉芽組織と膠原線維は、厚くなっていた。粘膜なし。

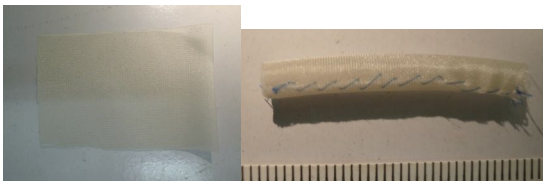


術後 8 週目



全例で、シリコンチューブの周囲に粘膜を伴う腸管が全層で再生していた。ラットの腸管生成モデルが完成した。

(2) 吸収性素材を使った腸管再生モデルの作成

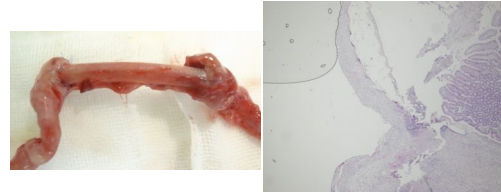


シリコンチューブの周囲にバイクリルメッシュ (Woven type) を上図のように巻き付けて同様の腸管再生モデルを作成した。



モデルの作成は可能であった。

術後 1 週目



しかし、被膜形成および腸管再生のスピードが、シリコンチューブ単独より遅かった。

(3) rMSC 投与による腸管再生性能の評価

上記のバイクリルメッシュを使った腸管再生モデルで、rMSC を初期手術時に、その外側に投与したが、シリコンチューブ単独を越える腸管再生は得られなかった。

まとめ

ラットでシリコンチューブを間置する腸管再生モデルの作成に成功した。シリコンチューブ周囲の肉芽組織と膠原線維形成を経て、8 週目に全層の完全な腸管の再生が確認できた。さらに vicryl mesh を用いたモデルの作成にも成功した。しかし、vicryl mesh モデルに MSC を投与したが、シリコンチューブ単独を越える有意な腸管再生の延長は得られなかった。

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 10 件)

Morine Y, Shimada M, Imura S, Ikemoto T, Hanaoka J, Kanamoto M, Ishibashi H, Utsunomiya T. : Detection of Lymph

Nodes Metastasis in Biliary Carcinomas: Morphological Criteria by MDCT and the Clinical Impact of DWI-MRI.

Hepatogastroenterology. (査読有),

62(140) : 777-781, 2016

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Detection+of+Lymph+Nodes+Metast>

[asis+in+Biliary+Carcinomas%3A+Morphological+Criteria+by+MDCT+and+the+Clinical+Impact+of+DWI-MRI.](#)

Kashihara H, Shimada M, Kurita N, Iwata T, Sato H, Yoshikawa K, Miyatani T, Takasu C, Matsumoto N, Ishibashi H.: Duodenal-jejunal Bypass Improves Insulin Resistance by Enhanced Glucagon-Like Peptide-1 Secretion Through Increase of Bile Acids. **Hepatogastroenterology**. (査読有), 61(132):1049-1054,2015
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Duodenal-Jejunal+Bypass+Improves+Insulin+Resistance+by+Enhanced+Glucagon-Like+Peptide-1+Secretion+Through+Increase+of+Bile+Acids.>

Ishibashi H, Oshio T, Sogami T, Nii A, Mori H, Yada K, Shimada M, Iliopsoas abscess in a infant.: **J Med Invest**. (査読有)、61(1-2),213-216,2014
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24705769>

Yada K, Ishibashi H, Mori H, Shimada M.: Laparoscopic resection of hepatoblastoma: report of a case.: **Asian J Endosc Surg**. (査読有), 7(3):267-270,2014
doi: 10.1111/ases.12106.

Kuyama H, Morine Y, Shimada M, Saito Y, Utsunomiya T, Ishibashi H, Imura S, Ikemoto T, Mori H, Hanaoka J.: Carcinogenic Potential of Biliary Epithelium of Congenital Choledochal Cyst Model in Rats: A Special Reference to HDAC Expression. : **Hepatogastroenterology**. 61(131):795-801. (査読有),2014
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?ter>

[m=Carcinogenic+Potential+of+Biliary+Epithelium+of+Congenital+Choledochal+Cyst+Model+in+Rats%3A+A+Special+Reference+to+HDAC+Expression.](#)

Yada K, Ishibashi H, Mori H, Sato H, Shimada M.: The Role Of Surgical Treatment In The Multidisciplinary Therapy For Hepatoblastoma. **Hepatogastroenterology**. 61(131):553-556. (査読有),2014
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26176034>

Batsaikhan BE, Kurita N, Iwata T, Sato H, Yoshikawa K, Takasu C, Kashihara H, Matsumoto N, Ishibashi H, Shimada M.: The role of activation-induced cytidine deaminase expression in gastric adenocarcinoma. **Anticancer Res**. (査読有) 34(2):995-1000.2014
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24511045>

Nii A, Utsunomiya T, Shimada M, Ikegami T, Ishibashi H, Imura S, Morine Y, Ikemoto T, Sasaki H, Kawashima A.: Hydrolyzed whey peptide-based diet ameliorates hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat nonalcoholic fatty liver. **Surg Today**. (査読有) 44(12):2354-2360.2014
doi: 10.1007/s00595-014-0853-0.

Ishibashi H, Mori H, Yada K, Shimada M, Sogami T, Nii A: Dye-assisted lymphatic sparing laparoscopic Palomo varicocelectomy in children. **J Med Invest**. ;61(1-2):151-155, (査読有),2014
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Dye-assisted+lymphatic+sparing+laparo>

[scopic+Palomo+varicocelelectomy+in+children](#).

Morine Y, Shimada M, Takamatsu H, Araida T, Endo I, Kubota M, Toki A, Noda T, Matsumura T, Miyakawa S, Ishibashi H, Kamisawa T, Shimada H.: Clinical features of pancreaticobiliary maljunction: update analysis of 2nd Japan-nationwide survey.

J Hepatobiliary Pancreat Sci.

20(5):472-480, (査読有), 2013

doi: 10.1007/s00534-013-0606-2.

〔学会発表〕(計5件)

第51回日本胆道学会学術集会

2015年9月17日 ホテル東日本宇都宮(栃木県宇都宮市)

石橋広樹、森根裕二、島田光生

全国集計からみた先天性胆道拡張症の診断上の問題点

第27回日本内視鏡外科学会総会

2014年10月2日-4日 マリオス・アイーナ・ホテルメトロポリタン盛岡 本館・ホテルメトロポリタン盛岡 NEW WING(岩手県盛岡市)

石橋広樹、森大樹、矢田圭吾、島田光生

成人腹腔鏡下鼠径ヘルニア手術における鼠径部膜構造から学ぶ小児LPEC法

23rd Annual Congress for Endosurgery in Children (IPEG 2014) 2014年7月22日-26日 Edinburgh International Conference Center(エディンバラ, スコットランド)

Ishibashi H, Mori H, Yada K, Shimada M

How many lymphatic vessels need to be preserved in dye-assisted lymphatic-sparing laparoscopic Palomo varicocelelectomy in children?

47th Annual Meeting of the Pacific Association of Pediatric Surgeons (PAPS 2014)、2014年5月24日-29日 FAIRMONT BANFF SPRINGS(バンフ, カナダ)

Ishibashi H, Mori H, Yada K, Shimada M

Risk of carcinogenesis in the biliary epithelium in children with pancreatobiliary maljunction through the epigenetic

regulation.

第51回日本小児外科学会総会

2014年5月8-10日 大阪国際会議場(大阪府大阪市)

石橋広樹、森大樹、矢田圭吾、島田光生

小児鼠径部ヘルニア疾患に対するLPEC法の基本手技と応用

〔図書〕(計1件)

シンプル小児科学 初版(2015年)南江堂
分担 石橋広樹
消化器疾患(第12章) 390頁 p243-256

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石橋 広樹 (ISHIBASHI, Hiroki)

徳島大学・病院・講師

研究者番号: 20314867

(2) 研究分担者

矢田 圭吾 (YADA, Keigo)

徳島大学・病院・助教

研究者番号: 00633893

宇都宮 徹 (UTSUNOMIYA, Toru)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・准教授

研究者番号: 30304801

栗田 信浩 (KURITA, Nobuhiro)

徳島大学・病院・特任教授

研究者番号: 30335814

森 大樹 (MORI, Hiroki)

大阪府立母子保健総合医療センター・病院・医長

研究者番号: 70448330