

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462569

研究課題名(和文)難治性中耳炎に対する細胞シート移植を用いた臨床研究

研究課題名(英文)Clinical study using Autologous human nasal epithelial cell sheet for transplantation after middle ear surgery.

研究代表者

谷口 雄一郎 (Yuichiro, Yaguchi)

聖マリアンナ医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30307475

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本臨床研究は、従来の中耳手術(鼓室形成術)後に鼻腔粘膜上皮細胞シートを移植して正常な粘膜を早期に再生させ、真珠腫性中耳炎の再発や鼓膜の再癒着を防止し、難治性中耳疾患に対する手術成績の向上を目指すものである。選定基準に基づき5人の被験者を選定し、適合性を確認した後に鼻腔粘膜上皮細胞シート移植を施行した。移植後6ヶ月以上が経過し、CTを施行した弛緩部型真珠腫症例では、細胞シートの移植した部位に一致して中耳腔、乳突腔の含気化が始まり、CT所見で非常に良好な含気化が確認され、理想的な術後形態が得られた。現在までのところ全ての症例で術後経過は良好である。

研究成果の概要(英文)：We developed a novel treatment method combining tympanoplasty and autologous nasal mucosal epithelial cell sheet transplantation for postoperative regeneration of the middle ear mucosa. In clinical research, we endoscopically removed an approximately 10×10mm piece of nasal mucosal tissue. Tissue-engineered autologous nasal mucosal epithelial cell sheets were fabricated by culturing the harvested cells in an aseptic environment in a good manufacturing practice-compliant cell processing facility. The cultivated cell sheets were transplanted, during tympanoplasty, onto the exposed bony surface of the attic of the tympanic and mastoid cavities where the mucosa had been lost. We performed this procedure on five patients with middle ear cholesteatoma and one patient with adhesive otitis media. All patients showed favorable postoperative course with no adverse events or complications and the patients' hearing ability post-transplantation remained good.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：再生医療 鼓室形成術 真珠腫性中耳炎 癒着性中耳炎 鼻粘膜上皮細胞シート

1. 研究開始当初の背景

鼓膜形成術では、自己の採取した移植片が足場として働き、残存鼓膜が再生し鼓膜穿孔が閉鎖される。このように古くから耳鼻咽喉科の治療においては再生医学に基づく基本概念が存在する。我々は以前より中耳粘膜再生の研究を行っており、難治性中耳疾患に対する術後の粘膜再生を目的とした細胞シート工学を用いた自己の培養鼻腔粘膜上皮細胞シート移植による新規治療を開発し、培養細胞の中耳への移植治療として臨床応用に成功した。

2. 研究の目的

癒着性中耳炎や真珠腫性中耳炎に対する治療は鼓室形成術であり、主な目的は病変の除去、合併症予防、再発防止、そして聴力改善である。この目的をかなえるためには中耳腔に含気が存在し、鼓膜の振動がロスなく耳小骨を經由して内耳まで伝わる必要がある。術後に含気のある中耳腔を形成するためには中耳粘膜の再生および生理的なガス換気能の回復と鼓膜の癒着防止がなされることが重要である。しかしながら中耳炎を伴った症例では中耳粘膜機能は障害されているため術後の粘膜上皮の再生は遅延し、有効な含気腔を作ることが困難なことが多い。特に癒着性中耳炎症例では手術時に上皮を剥離除去する際、粘膜を保存できないことも多い。このため癒着性中耳炎は他の中耳疾患と比較して術後の聴力成績が非常に悪い。これまでも如何にして中耳粘膜を早期に再生させるかが大きな課題とされており、術後鼓膜の再陥凹や再癒着の防止と中耳粘膜の再生を期待して、粘膜を直接移植する方法など様々な試みがなされたが、未だ確立された治療法はない。また、真珠腫手術の術式には外耳道後壁を保存する外耳道後壁保存型鼓室形成術と後壁を削

除する外耳道後壁 削除型鼓室形成術あり、外耳道の生理的形態を維持するという点で外耳道後壁保存型鼓室形成術が優れている。しかしながらこの術式の欠点は術後再発が多いことである。遺残性再発は内視鏡の使用などによりかなり制御可能となったが、再形成性再発を完全に抑えることは困難である。一方、外耳道後壁削除型鼓室形成術では再発率は低い、外耳道の生理的な形態は損なわれ、術後のcavity problemを生じる可能性がある。

我々が考える理想的な術式は、外耳道後壁は保存し、かつ術後の含気化が良好な乳突腔を形成することである。もちろん過去にも数々の工夫はなされてきたが、従来の方法だけでは限界があると考え。このような経緯から、術後に障害された中耳粘膜を早期に再生させることが可能になれば、癒着性中耳炎では鼓膜の再癒着を防止することができ、真珠腫性中耳炎においては外耳道後壁を保存した上で再形成性再発を予防できる可能性があると考え研究を行った。

3. 研究の方法

中耳炎もしくは癒着性中耳炎の患者に対して、外来にて内視鏡下に約10×10mmのヒト鼻腔粘膜組織を採取し、自己血清含有KCM培地を用いて、あらかじめ作成した製造記録書に沿って細胞培養センター(CPC: cell processing center)での無菌操作により約26日間の培養期間を経て、自己鼻腔粘膜上皮細胞シートを作成した。外耳道後壁保存型鼓室形成術施行時に上鼓室や乳突腔の中耳粘膜が欠損し露出した骨面や、鼓膜の癒着を防止する目的であぶみ骨周囲や軟骨による形成鼓膜に裏面に細胞シートの移植を施行した(Fig1)。

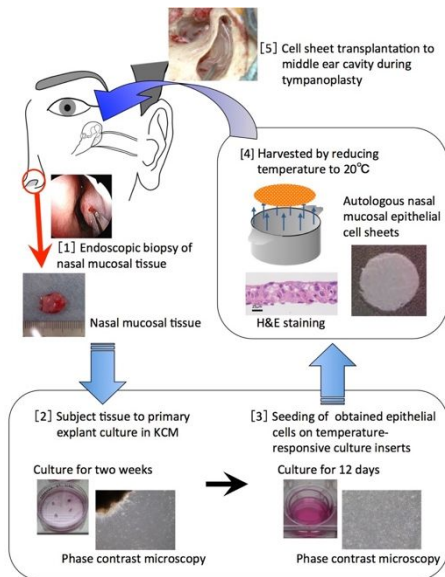


Fig1.

Yamamoto K, et al. NPJ Regen Med 2017

4. 研究成果

細胞シート工学を用いた再生医療は心筋、肝臓、膀胱など様々な組織を対象とした新規技術の開発が進められ、角膜、食道などほすでにヒト臨床応用に成功しており、良好な治療効果が得られている。我々は術後中耳 粘膜の再生を促し、鼓膜の再癒着および再形成真珠腫を予防する目的として、自己の鼻粘膜培養上皮細胞シートを作製し、術後の粘膜欠損部位へシートを移植する新たな治療法を開発した。細胞ソースとして鼻粘膜に着目した理由は、鼻粘膜は外来にて低侵襲で容易に採取可能であり、中耳粘膜に解剖学的にも連続性があり組織学的にも近似しているからである。作製した自己の培養上皮細胞シートはいずれも設定された品質基準を満たし、中耳手術の際に安全に移植することに成功した。狭い中耳腔内の骨面上には移植用デバイスを用いることで細胞シートを移植することが可能であった。現在までに真珠腫性中耳炎の患者4例、癒着性中耳炎の患者1例に対してシート移植を併用した外耳道後壁保存型鼓室形成術を施行することができた。いずれの症例も移植後

の経過は非常に良好で、術後 CT において細胞シートの移植した部位に一致して中耳腔の含気化を認め、真珠腫の再発や鼓膜の再癒着も認めていない。また細胞シート移植による有害事象も認められなかった(Fig2)。

Fig2.

Results of the clinical study in five patients who received transplants of tissue-engineered autologous nasal mucosal epithelial cell sheets

Patient number	Surgical method	Type of ossiculoplasty	Re-retraction or re-adhesion of tympanic membrane	Postoperative aeration		Recurrence of cholesteatoma	Postoperative hearing level (dB)	Post-auricular t
				attic	mastoid			
1	Canal wall up tympanoplasty	Columella on the stapes	None	+	+	None	18.3	10.0
2	Canal wall up tympanoplasty	Columella on the stapes	None	+	+	None	35.0	20.0
3	Canal wall up tympanoplasty	Columella on the stapes	None	+	+	None	25.0	15.0
4	Canal wall up tympanoplasty	Columella on the stapes	None	+	-	None	31.7	15.1
5	Tympanoplasty without mastoidectomy	Columella on the footplate	None			None	56.7	38.7

Yamamoto K, et al. NPJ Regen Med 2017

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) Yamamoto K, Yamato M, Morino T, Sugiyama H, Takagi R, Yaguchi Y, Okano T, Kojima H. Middle ear mucosal regeneration by tissue-engineered cell sheet transplantation. NPJ Regenerative medicine 2017.

〔学会発表〕(計 4件)

- 1) 日本耳鼻咽喉科学会 2017. 山本 和央, 森野 常太郎, 谷口 雄一郎
- 2) 日本耳科学会 2017. 森野 常太郎, 山本 和央, 谷口 雄一郎
- 3) 10th international conference on cholesteatoma and ear surgery 2016. Yuichiro Yaguchi
- 4) IT's 8th World Congress of Regenerative Medicine & Stem Cell 2015. Yuichiro Yaguchi

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
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

谷口 雄一郎 (Yaguchi Yuichiro)
聖マリアンナ医科大学・医学部・准教授
研究者番号：30307475

(2) 研究分担者

和田 弘太 (Wada Kota)
東邦大学・医学部・教授
研究者番号：20307482

(3) 連携研究者

()
研究者番号：

(4) 研究協力者

山本 和央 (Yamamoto Kazuhisa)
森野 常太郎 (Morino Tunetaro)