

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：82406

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2014

課題番号：26670708

研究課題名(和文) 生体組織工学を利用した新しい尿道再建手術の開発

研究課題名(英文) Development of a novel urethral reconstruction with tissue engineering

研究代表者

櫛引 俊宏 (Toshihiro, Kushibiki)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究・医学教育部医学科専門課程・准教授)

研究者番号：30403158

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、重篤な尿道狭窄症に対して少量の口腔粘膜組織と細胞足場材料を用いた新しい尿道再建手術を開発することである。現状では、尿道再建手術時に広範な口腔粘膜組織を代用組織として使用しているが、患者への侵襲性が高く、合併症のリスクも高い。本研究では、少量の口腔粘膜組織から上皮細胞を分離し、上皮細胞の生着と増殖に必要な因子の同定を試みた。その結果、ヒト口腔粘膜上皮細胞の増殖には適切な濃度のインスリンが必須であった。今後、患者の口腔粘膜上皮細胞を尿道狭窄部位へ移植後、インスリンを必要な期間だけ移植部位に滞留させる材料を用いて、上皮細胞層を形成させる必要があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research is to develop a new urethral reconstruction using a small mouth mucosal tissue and cell scaffold material to severe urethral stricture. Broad mouth mucosal tissue is being used as the substitute tissue for an urethral stricture, but the invasiveness to a patient is high and the risk of complications is also increased. In this study, we isolated epithelium cells from a small oral mucosal tissue and tried the identification of the factor which was necessary for the cells viability. As a result, insulin of appropriate concentration was essential to the increase of the human oral mucosal epithelium cells. It was thought that it was necessary to form an epithelium cell layer using the materials which sustained release insulin for the urethral reconstruction.

研究分野：生体組織工学

キーワード：尿道再建 生体材料 上皮細胞

1. 研究開始当初の背景

尿道狭窄症は、外傷・炎症や経尿道的手術に起因して尿道粘膜に傷害が起き、その修復過程で尿道粘膜や尿道海綿体の線維化や癒痕化が生じ、尿道内腔が狭窄する疾患である。尿道内腔の狭窄に伴い排尿困難が出現し、重症化すると自力での排尿が不可能となるため、膀胱瘻カテーテルや尿道カテーテルの留置を余儀なくされ、尿路感染症や腎機能障害の原因となる。尿道狭窄症の患者は全ての年齢層に存在し、特に若年者において治療が長期化すると QOL の低下や就労への影響が大きい。この尿道狭窄症の治療方法は尿道拡張（ブジー）や尿道内視鏡を用いた内尿道切開術などの低侵襲治療が一般的である。しかし、これらの治療方法は短期的には有効でも、長期的には高率に再狭窄し、治療の長期化を招く。尿道狭窄症を根本的に解決し得る唯一の手段は尿道再建手術を行うことである。

尿道再建手術を行うためには、何らかの代用組織が必要である。尿道の代用組織として、採取の簡便さや湿潤環境への適合性という尿道粘膜組織との類似性から、頬粘膜や舌粘膜などの口腔粘膜組織が頻用されている。しかし、尿道再建には広範囲な口腔粘膜採取が必要で、特に狭窄が長い症例では複数箇所の口腔粘膜組織の採取が必要になり、疼痛、後出血、摂食障害などの合併症のリスクが高い。また、尿道再建後に再狭窄を来した症例では、初回手術時に既に口腔粘膜組織の採取を行っているため、口腔粘膜組織の追加採取が不可能な症例が少なからず存在する。

2. 研究の目的

この現状を改善するためには、組織採取の侵襲性が低く、使用可能な組織量に制限の少ない新たな尿道再生医療の確立が急務である。そこで本研究では、極少量の口腔粘膜組織を摘出後に上皮細胞を増殖させ、適切な細胞足場材料を組み合わせた尿道再建に関する研究を行っている。これまでに培養自家口腔粘膜上皮細胞を用いて、角膜や消化管上皮の再生医療が行われているが、口腔粘膜上皮細胞を増殖させる培地には Epidermal Growth Factor (EGF)、basic Fibroblast

Growth Factor (bFGF)などの成長因子、ヒドロコルチゾンやトリヨードチロニン及びインスリンなど多くの添加物が高濃度で含有されているため、*in vitro*での上皮細胞増殖活性は高い。しかしながら、生体へ移植後に上皮細胞が生着・増殖し、適切な上皮細胞層を形成するためには、これらの成長因子を必要な期間だけ移植部位に滞留させる必要がある。そこで本研究では、*in vitro*での上皮細胞増殖に関連する成長因子などを一つずつ培地から除き、どの物質が上皮細胞の増殖に必須であるか検討した。

3. 研究の方法

防衛医科大学校倫理委員会の承認と患者の同意を得ていただいた口腔粘膜組織をデイスパーゼ(1,000 U/mL)処理により上皮細胞層を剥離し、アキュターゼを用いてヒト口腔粘膜上皮細胞を得た(図)。この細胞を増殖因子などの組成が異なる培地で7-10日間培養した後、colony forming assay および MTT assay を行い、細胞増殖能を評価した。

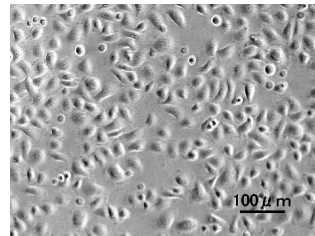


図 患者の口腔粘膜組織より単離した上皮細胞

4. 研究成果

インスリンを含まない培地では細胞の増殖はほとんど認められず、また、培地中のインスリン濃度によって増殖する細胞数に差が見られた。EGF、bFGF、ヒドロコルチゾンやトリヨードチロニンは培地中の濃度に関係なく上皮細胞の増殖が認められた。これらの結果から、ヒト口腔粘膜上皮細胞の増殖には適切な濃度のインスリンが必須であることが明らかとなった。今後、尿道再建を行うためには、患者の口腔粘膜上皮細胞を尿道狭窄部位へ移植後、インスリンを必要な期間だけ移植部位に滞留させる材料を用いて、上皮細胞層を形成させる必要があると考えら

れた。

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 1件)

外傷性尿道狭窄症に対する低侵襲治療の限界. 堀口明男, 浅野友彦. 泌尿器外科 2014, 27 (増刊号), 691-3.

[学会発表](計 9件)

尿道形成術による勃起機能の変化に関する検討. 大久保和樹, 堀口明男, 新地祐介, 杉野智啓, 田地一欽, 古賀章郎, 辻博隆, 黒田健司, 佐藤全伯, 朝隈純一, 瀬口健至, 伊藤敬一, 浅野友彦. 第103回日本泌尿器科学会総会, 2015.4.

(特別講演)要因からみた尿道狭窄症の治療戦略. 堀口明男. 西埼玉地区泌尿器科スモールミーティング, 2015.1.

(特別講演)要因からみた尿道狭窄症の治療戦略. 堀口明男. 第9回岡山泌尿器科手術手技研究会, 2014.12.

後部尿道外傷に対する尿道形成術後の尿禁制に関する検討. 堀口明男, 東隆一, 辻田裕二郎, 磯野誠, 新地祐介, 黒田健司, 伊藤敬一, 浅野友彦. 第21回日本排尿機能学会, 2014.9.

外傷性尿道狭窄症に対する待機的尿道形成術の治療成績. 堀口明男, 東隆一, 新地祐介, 辻田裕二郎, 黒田健司, 佐藤全伯, 朝隈純一, 伊藤敬一, 瀬口健至, 浅野友彦. 第11回泌尿器科再建再生研究会, 2014.6.

(ワークショップ)外傷性尿道狭窄症に対する待機的尿道形成術の治療経験. 堀口明男. 第28回日本外傷学会総会, 2014.6.

(パネルディスカッション)尿道外傷手術のトラブルシューティング～骨盤骨折による後部尿道外傷に対する待機的尿道形成術の実際. 堀口明男, 浅野友彦. 第102回日本泌尿器科学会総会, 2014.4.

尿道狭窄症に対する尿道形成術～単一施設110例の治療経験～. 堀口明男, 東隆一, 田崎新資, 濱田真輔, 辻田裕二郎, 新地祐

介, 黒田健司, 佐藤全伯, 朝隈純一, 瀬口健至, 伊藤敬一, 浅野友彦. 第102回日本泌尿器科学会総会, 2014.4.

重度の男性尿失禁に対する人工尿道括約筋 AMS800 埋め込み術の検討. 川口真, 堀口明男, 辻田裕二郎, 伊藤敬一, 東隆一, 浅野友彦. 第102回日本泌尿器科学会総会, 2014.4.

[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:

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

<http://square.umin.ac.jp/imprensa/>

(研究分担者・堀口明男が開設している尿道狭窄症に関するホームページ)

6. 研究組織

(1)研究代表者

櫛引 俊宏 (KUSHIBIKI, Toshihiro)

防衛医科大学校・医用工学講座・准教授

研究者番号: 30403158

(2)研究分担者

堀口 明男 (HORIGUCHI, Akio)

防衛医科大学校・泌尿器科学講座・講師
研究者番号：20286553

東 隆一 (AZUMA Ryuichi)
防衛医科大学校・形成外科学講座・講師
研究者番号：00531112

(3)連携研究者

()

研究者番号：