

200400069A

厚生労働科学研究費補助金
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

組織工学的手法を用いた気道再生の基礎的・臨床的研究

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 大森 孝一

平成 17 (2005) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

組織工学的手法を用いた気道再生の基礎的・臨床的研究

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 大森 孝一

平成 17 (2005) 年 3 月

班 員 名 簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
主任研究者	大森 孝一	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	教授
分担研究者	挾間 章博	福島県立医科大学医学部生理学第一	教授
	中村 達雄	京都大学再生医科学研究所臓器再建応用分野	助教授
	金丸 眞一	京都大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科	助手
	小川 洋	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	講師
	桑畑 直史	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	助手
	松塚 崇	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	助手
	多田 靖宏	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	助手
研究協力者	鹿野 真人	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	助教授
	横山 秀二	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	助手
	野本 幸男	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	大学院生
	鈴木 政博	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	大学院研究生
	鈴木 輝久	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	大学院生
	三宅 将生	福島県立医科大学医学部生理学第一	助手
	山下 勝	京都大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科	大学院生

目次

班員名簿

I. 総括研究報告書

組織工学的手法を用いた気道再生の基礎的・臨床的研究	1
主任研究者 大森孝一 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)	

II. 分担研究報告書

1. 気道の解剖	15
分担研究者 桑畑直史 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)	

2. 気道の再建手術の現状

(1) 口腔

口腔癌治療における再建手術	20
分担研究者 松塚 崇 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)	

(2) 咽頭

①中咽頭癌治療における再建手術	24
分担研究者 松塚 崇 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)	

②下咽頭癌治療における再建手術	28
分担研究者 松塚 崇 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)	

(3) 喉頭

喉頭癌治療における再建手術	31
分担研究者 松塚 崇 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)	

(4) 気管

①気管切除後の再建手術	36
分担研究者 松塚 崇 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)	

②気管切開孔の閉鎖術	40
分担研究者 小川 洋 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)	

3. 基礎研究

(1) 気管の再生

① <i>in situ</i> Tissue Engineering を用いた人工気管の開発	42
分担研究者 中村達雄 (京都大学再生医科学研究所臓器再建応用分野)	

②気管小欠損モデルへの人工気管を用いた組織再生	48
主任研究者 大森孝一 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)	

(2) 喉頭の再生

①輪状軟骨

<i>in situ</i> Tissue Engineering を用いた輪状軟骨の再生	50
主任研究者 大森孝一 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)	

②甲状軟骨	
(A)喉頭内腔型どりによる声帯隆起の再生	55
主任研究者	大森孝一 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)
(B)2層モデル人工材料による声帯隆起の再生	57
主任研究者	大森孝一 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)
③声帯	
(A)自己骨髄由来間葉系細胞移植による声帯再生	59
分担研究者	金丸眞一 (京都大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科)
(B)骨髄由来細胞による声帯再生：移植細胞の分化	63
分担研究者	金丸眞一 (京都大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科)
(C)声帯損傷モデルの作製と細胞移植	65
分担研究者	多田靖宏 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)
④再生医工学的手法による反回神経再生	70
分担研究者	金丸眞一 (京都大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科)
(3)気道上皮化の加速	
① <i>in vitro</i>	
(A)ラット気道上皮細胞培養法の確立	75
分担研究者	挾間章博 (福島県立医科大学医学部生理学第一)
(B)培養気管上皮細胞層によるハイブリッド人工材料の被覆	78
主任研究者	大森孝一 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)
(C)ハイブリッド人工材料における培養ラット気道上皮細胞の性質：免疫組織化学的手法を用いて	81
分担研究者	挾間章博 (福島県立医科大学医学部生理学第一)
(D)ラット気管における細胞骨格と物質輸送関連分子の免疫組織化学的解析	84
分担研究者	挾間章博 (福島県立医科大学医学部生理学第一)
② <i>in vivo</i>	
気管欠損モデルへのハイブリッド型人工材料の移植	87
主任研究者	大森孝一 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)
(4)末梢気道	
組織工学の手法を用いた末梢気道の再生治療	92
分担研究者	中村達雄 (京都大学再生医科学研究所臓器再建応用分野)
4. 臨床応用	
気管の再生治療	97
主任研究者	大森孝一 (福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科)

I. 総括研究報告書

組織工学的手法を用いた気道再生の基礎的・臨床的研究

主任研究者 大森孝一（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）

研究要旨

本研究の目的は気道の臓器の機能的再生をはかり、気道病変切除後の呼吸、嚥下、発声、構音の機能障害を回避し、Quality of Life の向上を実現することにある。

本研究班は、体内で自己組織の再生を誘導する *in situ* Tissue Engineering の手法を用いて、気道の組織再生をはかることを目標に、基礎的・臨床的研究を行ってきた。まず気道再建手術の現状を把握し問題点を明らかにした。基礎実験として、自己の組織が再生するようにデザインされた人工材料を開発し、この移植により動物実験で気道の安定した組織再生を最長5年の観察にて確認した。さらに、気道上皮化の加速、形態の複雑な喉頭、特に声帯の再生をはかるべく動物実験で気管上皮細胞層とコラーゲンからなるハイブリッド人工材料や声帯の隆起を型取った人工材料を開発し、気道組織の効果的再生に有用であることが判明した。

これらの成果を基盤として、倫理委員会で承認の上「喉頭・気管の再生治療」を世界で初めて臨床応用し、良好な成績を得ている。再生医学研究は急速に進められているものの、臨床に応用されているものはまだ数少ない。この *in situ* Tissue Engineering を用いた気道の再生治療は我が国で世界に先駆けて実用化されたものである。今後一般医療として普及するように研究をさらに積み重ねていくことが重要である。

A. 研究目的

気道は鼻腔、口腔、咽頭、喉頭、気管からなり、呼吸、嚥下、発声、構音という、ヒトの生命としての基本的な機能や社会生活をおくる上で基盤となる機能を持つ。癌や外傷などで気道の組織が侵された場合、これを切除した後に機能障害なく再建することは難しい。平成15年版「障害者白書」によると、音声言語、咀嚼および呼吸の認定機能障害者は約12万3千人で、これらの疾患に悩まされている人はその10倍はいるとされている。本研究の目的は気道の臓器の機能的再生をはかり、気道病変切除後の呼吸、嚥下、発声、構音の機能障害を回避し、Quality of Life の向上を実現することにある。

本研究ではまず気道再建手術の現状を把握し問題点を明らかにする。次に組織工学(Tissue Engineering)の手法を用いて気道の組織再生を目指して、自己組織再生型の人工材料を開発する。動物を用いて臓器再生の足場として人工材料あるいは骨髄由来間葉系細胞を気管及び喉頭の欠損部に移植し、組織再生をはかる。特に、気道上皮の形態と機能の再生を早期に実現するために、気管上皮細胞あるいは骨髄由来間葉系細胞と人工材料を組み合わせハイブリッド型人工気管を作製する。このようにTissue Engineering の手法を用いて、喉頭、気管を標的とし組織再生させることができれば、気道の機能障害回

避に大きく貢献できると同時に医療費の削減に寄与でき、社会的意義は計り知れない。

本研究では細胞や組織、動物を扱う基礎部門、ヒトへの応用を行う臨床部門を統括してトランスレーショナルリサーチを行い、基礎実験の成果を臨床に橋渡しする。倫理委員会での承認の上で「喉頭・気管の再生治療」を臨床応用し、術後の気道再生を評価すると同時に、問題点をあきらかにしてこれを解決するための基礎実験にフィードバックする。このように多方面からの臓器再生工学的研究により、より有効で安定した気道の再生治療を実現化する。

B. 研究方法

研究における倫理面への配慮

動物実験に関しては、京都大学および福島県立医科大学に動物実験計画書を提出し認められており、動物愛護の配慮も十分行い施行する。臨床応用に関しては倫理委員会の承認の上、ヘルシンキ宣言に則り人権擁護の配慮を行い、対象者に対する不利益、危険性の排除へ十分な配慮をはかり、研究計画に対する説明と同意（インフォームド・コンセント）を得られた上で研究を実施する。

1. 気道の再建手術の現状分析

当科における気道領域疾患に対する再建手術の現状を、1990年から2004年までの15年間に初期治療を行った患者のデータベースから、口腔、咽頭、喉頭、気管

に分けてそれぞれ調査した。口腔・咽頭領域は切除後欠損により嚥下、構音機能に重大な影響を及ぼすことから、再建方法と問題点について解析した。喉頭領域は喉頭癌治療成績から手術療法の現状を把握し、喉頭を摘出すると発声不能となることから喉頭温存について解析した。気管領域については、呼吸、発声機能に大きく影響することから、気管切除後の再建手術の適応と問題点を明らかにし、さらに緊急気管切開術を施行した症例を対象として気管の閉鎖手術について解析した。

2. 基礎研究

(1) 気管の再生

①人工気管の開発

in situ Tissue Engineering により気管を再生させるために、自己組織再生型の人工気管の開発を行った。内腔を保持でき、かつ生体気管に近い支持材を複合化させる設計とした。まず内腔保持のために、医療用材料として今日広く使用されているメディカルグレードのポリプロピレンメッシュを円筒状にし、ポリプロピレン製のモノフィラメントを外側に巻き付けたチューブを作製した。このチューブに、組織再生の足場となる材料として、コラーゲンをグラフト化および重層コーティングによって厚く付着させ、さらにコラーゲンスポンジを付加させた。この複合チューブの耐圧縮強度の比較を行った。

②移植実験

この人工気管の移植実験にはビーグル犬を用いた。頸部気管で 4~9 気管軟骨輪分を切除した後にこの人工気管で置換した。さらに、過酷な条件の臨床応用を想定して頸部気管で 10~16 軟骨輪を切除して、吻合部に抗張力が 900~1000g 重加わった状態を作り、この欠損を人工気管で再建した。縦隔内気管の置換手術を長径 5cm の人工気管で試みた。組織治癒促進のため大網被覆を行う群と大網被覆のない群を作った。さらに、気管分岐部に対しても同質の人工材料からなる Y 字型人工気管を作製し、移植実験を行った。いずれの場合もビーグル犬の末梢血液を採取し、足場となる人工材料に含浸させた後、吸収糸にて縫着した。また、気管小欠損モデルへの移植実験として、気管を開窓し内腔粘膜を一部保存し、欠損した軟骨の範囲と同じ大きさにトリミングして縫合した。

(2) 喉頭の再生

①輪状軟骨

in situ Tissue Engineering により、ビーグル犬を用いて輪状軟骨の組織再生を行った。輪状軟骨の前半部約 1/2 周切除し、輪状軟骨欠損モデルとした。輪状軟骨と気管を前半部約 1/2 周切除し輪状軟骨・気管欠損モデルとした。自己組織再生型の人工材料を気管の場合と同様に作製し、その形状は円筒状で欠損範囲に応じて 1/2 周から 2/3 周を用いた。人工材料は、自己の血液でコラーゲンスポンジを湿潤させてから欠損部に合わせて形状を調整し、上方は甲状軟骨断端、下方は切除気管断端と吸収性糸で縫合した。

②甲状軟骨

喉頭内腔型どりによる声帯隆起の再生をビーグル犬

を用いて行った。あらかじめ採取しておいた、別の喉頭に歯科印象材である石膏を流し込み、喉頭内腔面の凹凸を石膏に反映させ、この型にあわせて汎用プラスチックであるポリプロピレンを加熱して 1 層モデルを形成した。次に強度を高めるために、外側にもう一枚のポリプロピレンメッシュをあて縫合糸にて固定し、2 層モデルの人工材料を作製した。両モデルとも細胞の侵入、増生を促進するためにコラーゲンスポンジで被覆した。

ビーグル犬の上腕骨から骨髓液を採取し、約 2 週間培養した。底面に付着している骨髓由来間葉系細胞

(Bone marrow stromal cells: BSCs) をトリプシン処理にてはがし、遠沈して回収した。移植する直前に末梢血あるいは末梢血と BSCs を足場となるコラーゲンスポンジに含浸させた。喉頭垂直半切除術を施行し甲状軟骨左半部を声帯を含めて切除し、移植材料を吸収糸にて縫着した。

③声帯

実験動物としてビーグル犬を用い、BSCs 移植による声帯再生を行った。大腿骨から骨髓を採取して培養し、付着系細胞が confluent な状態になったところで BSCs を回収した。これを豚皮膚由来のアテロコラーゲンと混合し移植材料とした。全身麻酔下にビーグル犬の両側声帯に電気メスで声帯内筋に及ぶ切開を加え、左側声帯にはアテロコラーゲンと混合した BSCs を注入した。右側声帯にはコラーゲンだけを注入した。

BSCs の性質と声帯に移植した細胞の生着、分化を調べた。GFP トランスジェニックマウス的大腿骨から骨髓を採取し、BSCs を培養開始から 2 週間後、3 カ月後に回収し、Fluorescence-Activated Cell Sorter (FACS) によって解析した。一般的に間葉系幹細胞の指標とされる、CD29、CD44、CD49e、Sca-1 の他、CD34、CD45 について調べた。次に、2 週間培養した前述の細胞をヌードラットの声帯に注入した。細胞注入から 4 週間後に喉頭組織を摘出し組織学的に評価した。移植細胞を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

ウサギの声帯損傷モデルを作製し創傷治癒過程を組織学的に評価した。GFP ラットの骨髓細胞を培養し BSCs を損傷部位に注入するモデルと損傷のみの非注入モデルを作製し、観察期間を 3 日、7 日、30 日とし、それぞれに対して肉眼的と組織学的に比較した。

④反回神経

神経再生のための適切な足場として、コラーゲン被覆 Poly Glycolic Acid (PGA) チューブを作製した。ポリグリコール酸を主成分とし、脱水処理を行いこれをチューブ状に形成したものに、豚皮より抽出し抗原性を除去したアテロコラーゲンでコーティングした Type I とさらにこれにコラーゲンスポンジをチューブ内に充填した Type II を作製した。

実験動物としてビーグル犬を用いた。頸部皮膚に正中切開を加え、左反回神経を露出し、左反回神経を輪状軟骨下端より約 20mm 下方で 10mm 切除した。12 頭のう

ち6頭はType I、3頭はType IIのPGAチューブ(長さ20mm、径4mm)で、このギャップを再建した。再建方法は反回神経をPGAチューブの両端から挿入し、神経上膜をPGAチューブと縫合固定した。コントロールとして、3頭の犬で同ギャップを大耳介神経の自家移植で再建した。

(3) 気道上皮化の加速

① *in vitro*

ラット気管を摘出し、トリプシン、プロテアーゼ、コラゲナーゼ等の酵素を作用させ、それぞれの効果や作用時間を比較した。また人工材料上の培養法の検討を行うために、豚腱由来のI-A型コラーゲンに再構成用緩衝液を作用させ生じたコラーゲンゲルをコラーゲンスポンジ上に重層化したものと、ミリポア社のmillicell CM (PTFE製フィルター膜)上にコラーゲンコート(新田ゼラチン Cellmatrix type IA)を行った人工材料を作製した。

コラーゲンゲルを重層化した人工材料上で培養した細胞及びラットの正常な気管上皮のパラフィン切片を作製し、HE染色及び気道上皮のマーカーであるCytokeratin 14とCytokeratin 18、tight junctionの存在を示すOccludinについて免疫染色を行った。

millicell CM上にコラーゲンコートを行った人工材料上でラット気管細胞を培養した。培養細胞は人工材料上に生着させた状態のままパラフィン切片を作製し、Anti-Na-K-ATPaseとAnti-occludinとAnti-PCNAの各一次抗体、ビオチン標識された二次抗体、ペルオキシダーゼ標識アビジン-ビオチン複合体とを反応させた。さらにAnti-cytokeratin14、Anti-cytokeratin18、Anti-E_NaC- α の各1次抗体にも反応させ検鏡した。

ラット正常気管の構造や機能を明らかにするために、免疫組織化学的手法にて、細胞骨格、増殖、物質輸送に関わる分子の正常ラット気管での発現を解析した。

② *in vivo*

気管再建材料として、コラーゲンスポンジ上にコラーゲンゲルを重層化しGFP遺伝子改変導入ラット気管上皮細胞で被覆したハイブリット材料Aと、コラーゲンスポンジをKOKEN社製組織培養用コラーゲン膜(cellgen)で被覆し、さらにcellgenをGFP遺伝子改変導入ラット気管上皮細胞で被覆したハイブリット材料Bを作製した。これらをラット気管欠損モデルに移植した。それぞれ移植術後3、7、30日後に組織学的に評価した。

(4) 末梢気道

bFGFによる末梢気道の再生治療を試みた。ビーグル犬を用い1) control group、2) bFGF(-) group、3) bFGF(+) groupに分けた。気管支鏡を左気管支に挿入し、噴霧カテーテルにて豚膝エラストマーゼを左肺全体に散布した。散布後28日経過したものを左肺肺気腫モデルとし右肺を正常肺と考えて比較した。

bFGFの作用時間、作用効果を増幅させる目的で、ゼラチンマイクロ粒子をDrug delivery systemとして用いた。bFGF 200 μ gをゼラチンマイクロ粒子に含有さ

せ生理食塩水に攪拌し、bFGF(+) groupの左肺に、気管支鏡を使い左肺全体に10回に分けてびまん性に散布した。bFGF(-) groupはbFGFを含有しないゼラチンマイクロ粒子のみを経気道的に散布した。

bFGFによる治療前後での変化を見るために、動脈血液ガス分析、MRIによる相対的血流を測定した。MRIは、左肺の血流量を正常の右肺の血流量で割ったMRI信号値の左右比で比較した。ガドリニウム造影剤注入後、約60秒にわたり170枚の冠状断面を撮影し、肺実質の限局した区域の信号値を連続的に測定しグラフ化した。

3. 臨床応用

基礎的研究の成果をもとに、「喉頭・気管の再生治療」が2002年京都大学医学部倫理委員会の承認を受け臨床応用を開始した。第1例目は甲状腺進行癌の気管浸潤例で十分に説明し患者の同意を得た上で、本再生治療を実施した。症例は79歳女性、主訴は右頸部腫瘍。CTにて、甲状腺右葉全体を占める直径約5cmの腫瘍を認め、気管内視鏡で声門下に続く気管内腔の右側に隆起を認め、甲状腺腫瘍の気管浸潤と考えられた。手術は、全身麻酔下に頸部襟状切開を加え、甲状腺腫瘍を露出した。甲状腺右葉は腫瘍で占拠され、頸部気管に癒着していた。癌組織の浸潤した頸部気管を安全域を付けて3気管輪、半周を切除した。その欠損部に本人工材料をトリミングして2/3周分の材料に自己の血液を注射器で注入し、気管欠損部をパッチする形で縫合した。第2例目は71歳男性の甲状腺癌気管浸潤例で、同様の方法で気管の再生治療を行った。福島県立医科大学でも「喉頭・気管の再生治療」は倫理委員会にて承認され、2例に臨床応用した。

C. 研究結果

1. 気道の再建手術の現状分析

当科における口腔癌の再建症例は94例であった。頭頸部癌再建症例全体の35%を占め最も頻度の高い部位であった。口腔癌の中では舌癌再建術が65%で、再建材料では遊離弁88%、局所皮弁9%、有茎弁は3%であった。遊離弁の壊死を3.6%に認めた。壊死症例の基礎疾患には心房細動や糖尿病が存在した。一部の症例では再建された舌の萎縮が高度であり、構音・嚥下機能障害が著明であった。再建術後の瘻孔形成率は24%であった。

当科における中咽頭癌の再建症例は31例であった。遊離弁26例中3例(11.5%)に皮弁壊死を来し、2例が前腕皮弁、1例が外側大腿皮弁であった。再々建術として、前腕皮弁を2例、広背筋皮弁を1例に選択した。有茎皮弁に全壊死はなかったが、部分壊死が2例に生じた。

当科における下咽頭癌の再建症例は63例であった。遊離組織移植によるものは59例であり、空腸再建が42例であり、前腕皮弁再建が17例であった。下咽頭癌で喉頭を全部温存できた症例は4例、喉頭を半側のみ温存できた症例は5例であり、残りの症例では喉頭を摘出し

た。術後の皮弁壊死は6例9.5%であった。内訳として空腸が5例、前腕が1例であり、有茎皮弁では壊死はなかった。

過去10年間に当科で手術療法を施行した喉頭癌患者95例のうち、声帯部分切除術が25例、喉頭水平部分切除術が1例、喉頭垂直部分切除術が2例、喉頭亜全摘術が2例、全摘術が65例であった。治療完遂例の5年喉頭温存率は声門上型では32.0%、声門型では75.5%で、残りの症例では喉頭を摘出した。

甲状腺腫瘍の気管浸潤を認めた症例に対し二期的に局所皮弁を用いた気管再建を行った。術後気管狭窄は認めず経過は良好であったが、退院までの期間が初回手術から3カ月を要した。

緊急気管切開例34例中33例に中気管切開術、1例でのみ下気管切開術を施行した。術後当科で施行された緊急気管切開例34例では、最終的には閉鎖できたが、気管孔の閉鎖まで50日を要した症例もあった。

2. 基礎研究

(1) 気管の再生

ビーグル犬の頸部気管で4~9気管軟骨輪分を切除した後自己組織再生型の人工気管で置換すると、再建部の人工気管内腔面は気管上皮に覆われることが確かめられた。22カ月後に病理組織学的検討を行うと連続した上皮再生が口側から尾側端まで認められた。頸部気管で10~16軟骨輪を切除して吻合部に抗張力が900~1000g重加わった状態で、人工気管は生体に取り込まれ、抗張力下でも吻合不全は起こらなかった。移植後5年間頸部気管として経過した人工気管の物性を測定したところ、生体気管と同等の耐圧性を示した。

コラーゲンの上にはまず線維芽細胞が侵入して、そこで盛んにコラーゲンを分泌する。埋入したコラーゲンはこの置換で消え自己のコラーゲンと置き換わった。その組織の上に上皮が伸びてきた。まず、扁平上皮が両端から伸展した。走査電顕で観察すると扁平上皮が内面を覆い、その扁平上皮に丈の低い線毛が生じ、長い線毛をもった細胞の数が増加して最終的には密集した線毛に覆われた上皮に変化した。この過程は1~6カ月で起こった。

縦隔内気管の置換手術を長径5cmの人工気管で試みた。14頭は組織治癒促進のため大網被覆を行う群とし、残りの10頭は大網被覆のない群とした。この実験では両群とも全例で良好な術後経過をたどり、内腔狭窄やメッシュの露出は大網被覆群で少ないことが判明した。

分岐部気管の再建は、Y字型に作った人工気管で行った。気管分岐部でも内面は完全に上皮が再生し安全に使用可能であることが確かめられた。

気管小欠損モデルへの人工気管の移植術では、術後10日目の気管内腔面は、周辺部は上皮化が始まっていたが中心部にはメッシュが透見できた。術後1カ月のファイバー所見では上皮化はほぼ完了し小さな血管の侵入がみられた。術後7カ月の所見では、足場の逸脱や変形、狭窄を認めなかった。

(2) 喉頭の再生

① 輪状軟骨

in situ Tissue Engineering を用いた輪状軟骨の再生術後3カ月~20カ月の観察で、内視鏡検査ではビーグル犬9例全例で、喉頭・気管の内腔面は上皮に覆われていた。全例で気道は十分保たれ人工材料は生体組織内に取り込まれた。2例で肉芽、1例でメッシュの露出を認めたがいずれも軽度で呼吸には問題なかった。再生組織は上方の甲状軟骨、下方の気管輪と連続し、内腔面の上皮化がみられた。組織学的に評価するとポリプロピレンメッシュは周囲組織に取り込まれ異物反応を認めなかった。内腔面を走査型電子顕微鏡で観察すると線毛上皮の再生を認めた。機械的圧縮試験では、再生組織は正常組織と同等の支持力を示した。

② 甲状軟骨

喉頭内腔型どりによる声帯隆起の再生を試みた結果、1層モデルでは術後2週間には内腔側のコラーゲンは消失し、内部のメッシュが露出していた。手術から1年後の喉頭内視鏡所見ではやはり上皮化は認めなかった。

2層モデル人工材料による声帯隆起の再生を行った結果、術直後の内視鏡所見では血液の付着した移植材料が確認でき、術後2週間後には上皮化がすでにみられ小さな血管の侵入がみられた。術後1年では若干の凹凸がみられるが人工材料の露出や感染などはみられず、足場の全面が再生上皮に被覆されていた。

③ 声帯

自己骨髄由来間葉系細胞を移植した後、声帯修復の変化は、処置後2カ月でコラーゲンのみを投与した右側声帯に比較して細胞移植した左側の声帯はより正常に近い形態を示していた。組織学的検討では、コラーゲンのみを移植した側では、声帯を構成する粘膜下層と筋層とが錯綜配列しいわゆる瘢痕形成の組織像が見られた。これに対して、細胞移植した側では、上皮層、粘膜下層、筋層がはっきりと分れ、ほぼ正常の組織像を示していた。

我々が培養したマウス骨髄由来細胞群にはFACSにて、間葉系幹細胞の存在を示唆する表面抗原、すなわちCD44、CD29、CD49e、Sca-1の発現が高度に認められた。これらの細胞群をヌードラットに移植することにより、移植した細胞が上皮系のマーカーであるケラチンを発現した。また、GFPの緑色蛍光の発現もほぼ同じ断面を蛍光顕微鏡下に観察することによって確認できた。

ウサギ声帯損傷コントロールモデルの摘出標本では、観察期間3日と7日で損傷部位に白苔の付着を認めたのに対し、骨髄由来間葉系細胞(BSCs)注入モデルでは瘢痕形成はみられたが白苔の付着はなかった。HE染色では、観察期間7日のコントロールモデルでは上皮は重層化しており、粘膜下層への炎症性細胞浸潤も多くみられたのに対し、BSCs注入モデルでは上皮化がみられ、炎症性細胞の浸潤も軽度であった。観察期間30日モデルでは、コントロールモデルもBSCs注入モデルもファイバー所

見、摘出標本ともに治癒状態であり明らかな差がみられなかった。HE染色ではコントロールモデルで空胞形成と炎症細胞の浸潤を認めたのに対し、BSCs注入モデルで炎症性細胞の浸潤もみられなかった。上皮化は両者ともにみられた。免疫染色にて、観察期間3日のモデルで移植BSCsが注入部位を中心に散見されたが、7日、30日のモデルでは確認できなかった。

④反回神経再生

PGAチューブによる反回神経再生を試みたところ、Type IのPGAチューブを使用した6頭中4頭で声帯の動きが観察された。特にNo.5、6では、ほぼ正常と変わらない声帯の動きが観察された。Type IIのPGAチューブを使用した3頭全てで声帯運動を認めた。一方、コントロールの大耳介神経を自家移植した3頭とも声帯の動きが観察されなかった。CMAPについては、声帯の動きが回復したPGAチューブの犬では、潜時および振幅も正常にかなり近い波形が得られたが、自家神経移植の犬では、CMAPの波形は測定できなかったWGA-HRPの取り込みは、PGAチューブの犬では甲状披裂筋の神経終末に多数の取り込みが観察された一方で、自家神経移植の犬では観察されなかった。

(3) 気道上皮化の加速

① *in vitro*

シグマ社のprotease type XIVが最も上皮細胞を単離するうえで有効であった。上皮細胞の増殖が認められ、中には杯細胞が観察された。37°C条件下で短時間の酵素処理を試みたが、平滑筋細胞の混入も認められ、上皮細胞のダメージも大きかった。また、4°C条件下での反応時間については、24時間でも上皮細胞の剥離が認められない場合があり、その際は48時間まで反応を延長させることにより上皮細胞を得ることができた。

コラーゲンゲル上及びフィルター上に、上記の方法により単離した気道上皮細胞を培養し細胞形態を観察した結果、ヒトやモルモットの気道上皮細胞の場合、プロテアーゼ処理の時間は24時間で十分であるが、ラットの場合はより長い時間の酵素処理が必要になることが明らかになった。また、ヒトやモルモット気道上皮細胞のように、単離直後は線毛細胞が観察されるもののディッシュ上で分裂増殖する細胞については、非線毛細胞が主体であることが明らかになった。

ハイブリット材料AのHE染色では、断面を観察したところコラーゲンスポンジ、コラーゲンゲル、気管上皮細胞層の3層構造が確認できた。上皮細胞層は単層構造であり線毛構造は確認できなかった。免疫染色では、上皮細胞層は正常な気管上皮細胞層と同様にCytokeratin 14、Cytokeratin 18、Occludinのいずれも陽性を示した。ハイブリット材料Bについて、気道培養細胞は現在の条件ではコラーゲン膜上で多層化せず、単層にとどまっていた。しかし、OccludinとNa-K-ATPaseは培養気道上皮で発現していることを確認できた。PCNAも培養細胞ではほとんどの細胞で陽性であった。

正常ラット気管の免疫組織化学的解析では

Cytokeratin14、Cytokeratin18、OccludinとCIC-3は気道上皮に発現していることを確認した。AQP3は気道上皮細胞の基底部分で強く発現していた。ENaC-alphaは線毛細胞に発現がみられたが、特にapical plasma membraneで染まっていた。PCNA陽性細胞は基底膜下の細胞では数多くみられたが、上皮細胞側ではあまりみられなかった。

② *in vivo*

移植後3日では、ハイブリット材料AとBの両者で気管の上皮化は不十分であった。炎症細胞の浸潤が気管欠損部周囲に認められた。移植後7日で、気管上皮の再生が認められた。両者で被覆部位に共焦点レーザー顕微鏡下にGFP陽性細胞が確認された。また、欠損部は炎症細胞とあわせ血管の増生、一部器質化も認められた。移植30日は両者で気管損傷部位に上皮の再生が確認された。気管軟骨の再生は確認できなかったが、上皮下には器質化した組織が確認された。

(4) 末梢気道

肺血管3次元立体構成像において、エラストアーゼの投与量の増加に伴い、肺血管陰影の欠損が増強していた。重度肺気腫モデルにおいては、左肺の血管陰影の欠損や減衰が視覚的に認められた。Dynamic contrast

-enhanced MRI 冠状断面像では、ガドリニウム造影剤を投与後、上大静脈、右心房、右心室、肺動脈、肺実質、肺静脈、大静脈の順に時間を追って造影されるのが確認できた。肺実質での造影効果は、造影剤投与後20秒前後にピークを認めた。(A)エラストアーゼ投与前のモデルでは、左肺実質と右肺実質の造影効果に左右差はなかった。

(B) エラストアーゼ投与後モデルでは左肺の造影効果が低下しており、明らかな左右差を認めた。左右差は約15~20秒後に最も強かった。(C) bFGF治療モデル [FGF(+) group]においては、低下していた左肺の造影効果が改善しており、右肺の造影効果に近似していた。

bFGFを含有しないゼラチンマイクロ粒子のみの投与群(コントロール群)では信号値の改善は認められなかった。これらの結果はbFGF投与により、投与領域血流の有意な改善を示した。また条件を一定にしたmechanical ventilation下の換気条件で測定した血液ガス分析でも、bFGF治療モデルにおいて改善を認めた。

3. 臨床応用

第1例目では術後2週間には内視鏡検査にてコラーゲンとメッシュが透見され、術後2カ月にはほぼ上皮化し人工材料はほぼ被覆された。術後2年1カ月の現時点では、気管内腔面上皮で覆われ組織再生は良好な経過である。第2例目では術後1年経過した現在、気管内腔の上皮化は良好で順調な経過である。福島県立医科大学でも「喉頭・気管の再生治療」は倫理委員会にて承認され、2例に臨床応用し経過良好である。なお、これらの4例では術後には問題となる合併症もなく、呼吸、発声、摂食、嚥下機能にも影響なく、早期の社会復帰が可能であった。

「喉頭・気管の再生治療」は我が国にて世界に先駆

けて実現化されたことから、国民福祉への寄与が期待され、注目を集めている（報道1、2）。

D. 考察

気道における癌や外傷などの病変を切除した後は大きな機能障害が残り Quality of Life を著しく低下させる。喉頭、気管などの気道疾患で喉頭全摘出術を受けると、音声言語機能を喪失し身体障害者3級となり、咀嚼及び呼吸の機能障害も起こる。これらの機能は日常生活には必須のものであり、本研究は厚生労働行政において重要かつ緊急性を要するものと思われる。

気道の再建手術の現状を把握するために、1990年から2004年までの15年間に当科で初期治療を受けた患者データベースから、口腔、咽頭、喉頭、気管に分けてそれぞれ調査した結果、現状の方法で気道を再建するには、手技が複雑で複数回に分けた手術が必要であり、術後の瘻孔や狭窄、移植片の壊死、機能障害など解決すべき問題があることがわかった。これに対して本研究で組織工学技術により喉頭や気管などの気道を再生できれば、一次的な再建手術が容易に行えることから、患者への手術侵襲は極めて低いものとなり、かつ、機能障害を伴わない治療を行うことが期待される。従来、気道の再生という概念はなく、主任研究者らが始めた気道の再生医療は世界に先駆けたものである。本研究班班員は喉頭機能解析（1995年アメリカ喉頭科学会賞受賞）、コラーゲンと骨髄間葉系幹細胞による声帯再生（2002年アメリカ気管食道科学会賞受賞）および気管、食道、胃、小腸の再生に成功してきた（Int J Artif Organs 2000）。これらの方法を応用して動物実験を進め、自己組織再生型の人工材料を用いた喉頭・気管の再生治療を目指した。

Tissue Engineering は、工学的手法を使って細胞を二次元的、三次元的に組み上げ、本物の臓器や組織に近いものを再生させようというもので、Vacanti, Langerらによって始められた。彼らのTissue Engineeringは、体外で細胞を培養して目的とする組織をつくり、これを体内に移植する方法である。また、幹細胞や前駆細胞を移植することで組織再生をはかろうという研究には、循環器領域で下肢や心筋の血管再生を目指した血管内皮前駆細胞の移植、整形外科領域で骨関節疾患の治療に骨髄間葉系幹細胞の移植、眼科領域で角膜再生を目指して角膜上皮幹細胞を羊膜上で培養した移植などが行われている。

一方、我々の研究グループでは、体内の、再生を目的とする臓器の場所で組織を再生させる *in situ* Tissue Engineering という新しい概念に基づいて臓器再生を目指してきた。現在までに、動物実験で自己組織再生型の人工材料を移植し気管、食道、胃、輪状軟骨などが再生することがわかった。この際足場の移植のみで細胞移植や増殖因子は使わなかった。Vacantiらのように体外で組織を再生してから移植する方法や、細胞移植を行うと、生きた細胞や組織を取り扱うことになるので、感染症対策や細胞の品質管理など臨床応用へのハードルが高い。これらの方法に比べて、我々の行っている *in situ* Tissue

Engineering の手法は安全性が高く臨床応用に近い。

気管には内腔を支えるために気管軟骨が存在する。近年、組織工学の技法を用いた種々の軟骨再生の試みが行われているが、長期に気道を支えるに足る軟骨の再生はいまだに報告がない。関節軟骨と異なり、気管軟骨の場合は力学的強度が低下した場合、気道が虚脱し直ちに生命に関わる。長期に化学的に安定であるポリプロピレンメッシュを芯にした人工気管は、動物実験で5年にわたる長期観察でも逸脱することなく、生体と一体化し続けることが判明した。さらに、線毛上皮の再生が確認され、線毛機能が保たれていることが判明した。輪状軟骨においても同様の人工材料を用いて移植手術を行い、枠組みとしての硬さ、内腔粘膜の線毛上皮の再生が確認された。約20年にわたる人工気管の基礎研究を基盤として、安全性有効性を確認し、臨床応用への可能性が示されたといえる。次のステップとして今後解決すべき問題点は、形態の複雑な喉頭、特に声帯の再生、上皮化を加速する方法の開発などがあげられる。

甲状軟骨の切除後の組織再生は、声帯の隆起を作ることが難しい。口側が咽頭という不潔な環境にあるなど不利な条件が存在しているからであろう。本研究では内腔を型どりした2層モデル人工材料に多分化能をもつ骨髄由来間葉系細胞（BSCs）を導入することによって、これまで実現できなかった、声帯隆起の複雑な形態の表面に粘膜を再生させることができた。まだ安定した結果は得られていないが、今後はBSCsがこの実験系においてどのように作用し、分化するののかを組織学的に解明していかなければならない。

障害された声帯の組織再生には、コラーゲン内で3次元培養したBSCsを移植し組織学的には非移植側に比べて正常に近い声帯の構造が再生した。この理由として、コラーゲンが、再生の場を確保しかつ組織再生の元になる細胞が成長する足場を提供する材料として適切であること、BSCs内に含まれる間葉系幹細胞は、声帯を構成する筋肉や粘膜下層、上皮層などのさまざまな組織を再生しうる多分化能を有していることが考えられた。また、炎症性細胞浸潤が見られなくなるまでの期間が移植モデルで短いことと、障害部位の上皮化の程度に差を認めるため、移植細胞は早期の創傷治癒過程において何らかの促進作用が働いている可能性があると考えられた。

声帯の運動を支配する反回神経については、神経再生のための適切な足場として、コラーゲン被覆PGAチューブという人工材料を開発した。このPGAチューブは、1) 組織親和性が高く拒絶反応が起こらない、2) 生体内では徐々に加水分解され、約4カ月で消失する、3) 約2カ月間は形状を保持し、周囲からの組織進入を防ぐ、など神経再生にとって理想的な条件を兼ね備えている。これらのPGAチューブの特徴が神経再生にとって良好な環境を提供しており、従来困難とされた反回神経の機能的再生を可能としたのではないかと考えられた。

気道上皮化を加速させるための方策として、ラット気道上皮細胞の培養法を確立したが、正常に近い線毛上皮

を主体とする細胞シートを得るには分化誘導を行う必要があると考えられた。作製した上皮細胞層は単層で密度としては正常な上皮層と比べ疎な状態であった。細胞浮遊液中の細胞数、培養期間、増殖因子の添加など、より密な上皮細胞層を作製するための条件についての今後検討が必要である。ラット気管の免疫染色によって、アクアポリン、ナトリウムチャンネル、Cytokeratin 14、Cytokeratin 18、Occludin の発現を確認できた。人工材料上に作製した気管上皮細胞層は、免疫組織学的には気道粘膜上皮の性質を有し、上皮細胞に特徴的な細胞骨格や物質輸送能の一部が保たれていることが確認できた。また PCNA 染色によると、それぞれの細胞は増殖能を失っておらず、この点で生体中の上皮細胞とは異なっていた。今後、培養細胞を多層化させた際に増殖能がどのように制御され、組織としての機能を果たすのかどうか興味深い。

作製したハイブリッド人工材料を気管欠損モデル動物に移植し、移植細胞の正着の有無、上皮化への影響に関して *in vivo* にて評価を行った。上皮化するまでの期間、損傷部位に移植した上皮細胞が残存することが確認できた。免疫組織学的には、作製した気管上皮細胞層は気道粘膜上皮の性質を有していた。本手法が上皮化促進にどの程度寄与するかの評価について、今後より大きな気管損傷モデルでの治癒比較が必要と考えられた。

末梢気道の再生に関しては、肺気腫に対する bFGF の経気道的投与により投与された肺実質内に明らかな血流量の増加を認めた。それらの血流増加は肺気腫により低下した呼吸機能の改善を確認した。今回の実験で病変部での血流を改善することにより、組織において再生に必要なとなる液性因子の供給が可能になると考えられた。

以上のような基礎実験の成果を基盤として、京都大学医学部倫理委員会にて「喉頭・気管の再生治療」が承認され、平成 14 年、主任研究者はヒトへの気管再生治療を世界で初めて行った。甲状腺癌の気管切除例に対して、自己組織再生型の人工気管を用いて再生治療を行い、術後 2 年 1 ヶ月経過した現在、気管内腔面は上皮に覆われ良好な経過である。本研究は福島県立医科大学医学部倫理委員会においても承認を得ており、現在までにあわせて 4 例に手術を行い、呼吸、嚥下、発声、構音機能には影響なく、早期の社会復帰が可能であった。

本研究班ではこの 1 年間の研究事業により、喉頭・気管の再生治療が十分期待を持てることを明らかにした。今後は、基礎実験の成果を臨床応用に結びつけるトランスレーショナルリサーチにより、本再生治療を気道の各部位に応じた組織再生が可能なレベルに高めるための研究が必要である。

E. 結論

気道は呼吸、嚥下、発声、構音という、ヒトの生命としての基本的な機能や社会生活をおくる上で基盤となる機能を持ち、癌や外傷などで気道の組織が侵された場合、これを切除した後に機能障害なく再建することは難しい。

本研究班は、体内で自己組織の再生を誘導する *in situ* Tissue Engineering の手法を用いて、気道の組織再生をはかることを目標に、基礎的・臨床的研究を行ってきた。自己の組織が再生するようにデザインされた人工材料を開発し、この移植により動物実験で気道の安定した組織再生が得られた。これらの結果をふまえてヒト頸部気管で世界に先駆けて臨床応用を開始し良好な成績を得た。さらに、上皮化の加速、形態の複雑な喉頭、特に声帯の再生などを解決するべく動物実験で気管上皮細胞層とコラーゲンからなるハイブリッド人工材料や声帯の隆起を型取った人工材料を開発し、気道組織の効果的再生に有用であることを示した。

以上のようにこの 1 年間の研究により、喉頭・気管の再生治療が十分期待を持てることを明らかにした。今後は、基礎実験の成果を臨床応用に結びつけるトランスレーショナルリサーチにより、本再生治療を気道の各部位に応じた組織再生が可能なレベルに高めるための研究を行う。

近年再生医学研究は急速に進められているものの、臨床に应用されているものはまだ数少ない。この *in situ* Tissue Engineering を用いた気道の再生治療は我が国で世界に先駆けて実用化されたものである。今後一般医療として普及するように研究をさらに積み重ねていくことが重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Omori K, Nakamura T, Kanemaru S, Kojima H, Magruffov A, Hiratsuka Y, Shimizu Y : Cricoid regeneration using *in situ* tissue engineering in canine Larynx for the treatment of subglottic stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 113(8) : 623-627, 2004
- 2) Tateya I, Omori K, Kojima H, Hirano S, Kaneko KI, Ito J: Steroid injection to vocal nodules using fiberoptic laryngeal surgery under topical anesthesia. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 261(9): 489-492, 2004
- 3) Takebayashi S, Nakagawa T, Kojima K, Kim TS, Kita T, Dong Y, Endo T, Iguchi F, Naito Y, Omori K, Ito J: Expression of β -catenin in developing auditory epithelia of mice. *Acta Otolaryngol(Stockh)* Vol 124:Suppl 551,18-21, 2004
- 4) Kim TS, Nakagawa T, Lee JE, Fujino K, Iguchi F, Endo T, Naito Y, Omori K, Lefebvre PP, Ito J: Induction of cell proliferation and β -catenin expression in rat utricles *in vitro*. *Acta Otolaryngol(Stockh)* Vol 124:Suppl 551,22-25, 2004
- 5) Fujino K, Kim TS, Nishida A, Nakagawa T, Omori K, Naito Y, Ito J: Transplantation of neural stem cells into explants of rat inner ear. *Acta Otolaryngol(Stockh)* Vol 124:Suppl 551, 31-33, 2004

- 6) Kim TS, Kojima K, Nishida A, Tashiro K, Lee JE, Fujino K, Nakagawa T, Iguchi F, Endo T, Naito Y, Omori K, Lefebvre PP, Ito J: Expression of calretinin by fetal otocyst cells after transplantation into damaged rat utricle explants. *Acta Otolaryngol(Stockh)* Vol 124:Suppl 551, 34-38, 2004
- 7) Iguchi F, Nakagawa T, Tateya I, Endo T, Kim TS, Dong Y, Kita T, Kojima K, Naito Y, Omori K, Ito J: Surgical techniques for cell transplantation into the mouse cochlea. *Acta Otolaryngol(Stockh)* Vol 124:Suppl 551, 43-47, 2004
- 8) Tamura T, Nakagawa T, Iguchi F, Tateya I, Endo T, Kim TS, Dong Y, Kita T, Kojima K, Naito Y, Omori K, Ito J: Transplantation of neural stem cells into the modiolus of mouse cochleae injured by cisplatin. *Acta Otolaryngol (Stockh)* Vol 124:Suppl 551, 65-68, 2004
- 9) Magrufov A, Kanemaru S, Nakamura T, Omori K, Yamashita M, Shimizu Y, Ito J: Tissue engineering for the regeneration of the mastoid air cells: a preliminary in vitro study. *Acta Otolaryngol(Stockh)* Vol 124:Suppl 551,75-79, 2004
- 10) Kanemaru S, Nakamura T, Omori K, Magrufov A, Yamashita M, Shimizu Y, Takahashi H, Ito J, Regeneration of the mastoid air cells in clinical applications. *Acta Otolaryngol(Stockh)* Vol 124:Suppl 551, 80-84, 2004
- 11) Liu K, Kozono D, Kato Y, Agre P, Hazama A, Yasui M. Conversion of aquaporin 6 from an anion channel to a water-selective channel by a single amino acid substitution. *Proc Natl Acad Sci USA*. Jan 25, 2005
- 12) Hayashi S, Hazama A, Dutta AK, Sabirov RZ, Okada Y. Detecting ATP release by a biosensor method. *Sci STKE* 258: pl14., 2004
- 13) Katsuda S, Machida N, Hasegawa M, Miyashita H, Kusanagi M, Tsubone H, Hazama A. Change in the static rheological properties of the aorta in Kurosawa and Kusanagi-hypercholesterolemic (KHC) rabbits with progress of atherosclerosis. *Physiol Meas*. (2):505-522, 2004
- 14) Katsuda S, Miyashita H, Hasegawa M, Machida N, Kusanagi M, Yamasaki M, Waki H, Hazama A. Characteristic change in local pulse wave velocity in different segments of the atherosclerotic aorta in KHC rabbits. *Am J Hypertens* (2):181-187, 2004
- 15) Nakamura T, Inada Y, Fukuda S, Yoshitani M, Nakada A, Itoi S, Kanemaru S, Endo K, Shimizu Y: Experimental study on the regeneration of peripheral nerve gaps through a polyglycolic acid-collagen(PGA-collagen) tube *Brain Research* 1027:18-29, 2004
- 16) Nakamura T: Regenerative medicine for respiratory diseases. *JMA* 47(7): 333-337, 2004
- 17) Inada Y, Morimoto S, Takakura Y, Nakamura T: Regeneration of peripheral nerve gaps with a polyglycolic acid-collagen tube. *Neurosurgery* 55(3): 640-648, 2004
- 18) Takahashi M, Nakamura T, Toba T, Kajiwaru N, Kato H, Shimizu Y: Transplantation of endothelial progenitor cells into the lung to alleviate pulmonary hypertension in dogs. *Tissue Engineering* 10(5/6): 771-7, 2004
- 19) Naito Y, Nakamura T, Nakagawa T, Iguchi F, Endo T, Fujino K, Kim TS, Hiratsuka Y, Tamura T, Kanemaru S, Shimizu Y, Ito J: Transplantation of bone marrow stromal cells into the cochlea of chinchillas. *Neuro Report* 15(19): 1-4, 2004
- 20) Nakahara T, Nakamura T, Kobayashi E, Kuremoto K, Matsuno T, Tabata Y, Eto K, Shimizu Y: *In situ* tissue engineering of periodontal tissues by seeding with periodontal ligament-derived cells. *Tissue Engineering* 10(3/4): 537-544, 2004
- 21) Nakamura T, Yoshitani M, Rigby H, Fullwood N J, Ito W, Inatomi T, Sotozono C, Nakamura T, Shimizu Y, Kinoshita S: Sterilized, freeze-dried amniotic membrane: A useful substrate for ocular surface reconstruction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45(1): 93-99, 2004
- 22) 大森孝一：外傷後の気道・食道再建。池田勝久(責任編集) 岸本誠司(編集)、「耳鼻咽喉科診療プラクティス 13 耳鼻咽喉科・頭頸部外科領域の外傷と異物」文光堂、東京、228-231, 2004
- 23) 大森孝一：局所麻酔下の喉頭内視鏡手術の適応は。野村恭也(編集)、「耳鼻咽喉科・頭頸部外科クリニック」中山書店、東京、222-224, 2004
- 24) 中村達雄：人工気管。末舛恵一、人見滋樹：監修者、加藤治文、小林紘一、近藤 丘、清水信義、白日高歩、和田洋巳 編、「先端医療シリーズ 26 呼吸器外科呼吸器外科の最新医療」厚徳社、東京、62-65, 2004
- 25) 横山秀二、鹿野真人、渡邊 睦：喉頭蓋管形成術 (Billar 法) の術後離開に関する研究—喉頭蓋の形態、組織学的検討および復元力の測定—。日本耳鼻咽喉科学会会報 107(12) : 1045-1052, 2004
- 26) 大森孝一、多田靖宏、小澤喜久子、丸子 文：喉頭。JOHNS 20(3) : 445-448, 2004
- 27) 鹿野真人、長谷川 博、渡邊 睦、横山秀二、小澤喜久子：高度誤嚥に対する喉頭蓋管形成術。耳鼻と臨床 50(1) : 47-53, 2004

- 28) 大森孝一、小川 洋、多田靖宏、諸橋美香：甲状軟骨形成術 I 型の適応と限界．頭頸部外科 14(1)：59-64, 2004
- 29) 鹿野真人、鈴木政博：甲状腺癌頸部リンパ節転移症例の治療指針—郭清をどこまで行うか—2)新鮮例について．耳鼻咽喉科・頭頸部外科 76(9)：609-613, 2004
- 30) 鹿野真人、松塚 崇：口腔癌におけるセンチネルリンパ節生検．癌と化学療法 31(6)：971-978, 2004
- 31) 大森孝一：耳鼻咽喉科と再生医学．星総合病院年報 17：1-7, 2004
- 32) 大森孝一、中村達雄、金丸眞一、Magrufov Akhmar、山下 勝、安里 亮、平塚康之、田中信三、伊藤壽一、清水慶彦：<ワークショップ>喉頭・気管の形成手術：再生医学的アプローチ．日本気管食道科学会会報 55(2)：145-152, 2004
- 33) 金丸眞一：<シンポジウム>頭頸部領域における神経再生医療．日本気管食道科学会会報 55(2)：135-136, 2004
- 34) 金丸眞一、中村達雄、Akhmar Magrufov、大森孝一、山下 勝、平海晴一、藤野清大、内藤 泰、伊藤壽一：乳突蜂巢構造の再生—*In situ* tissue engineering の臨床応用—．耳鼻咽喉科臨床 97:205-210,2004
- 35) 稲田有史、清水慶彦、中村達雄、金丸眞一、森本 茂、山科幸夫、飯田秀之、諸井慶七郎、橋爪圭司、古家 仁、細井裕司：Polyglycolic acid (PGA)-collagen tube による末梢神経損傷への臨床応用．形成外科 47(8)：883-891, 2004
- 36) 中原 貴、中村達雄、小林英三郎、井上祐利、茂野啓示、田畑泰彦、江藤一洋、清水慶彦：*In situ* ティッシュ・エンジニアリングによる歯周組織再生の新しいアプローチ：サンドイッチメンブレンによる塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) の徐放効果．歯科臨床研究 1(2)：68-77, 2004
- 37) 森野茂行、福田正順、中村達雄：再生医療と画像診断—失われた機能の再生をめざして—大型動物モデルの生体モニタリング．映像情報 Medical 36(8)：821-825, 2004
2. 学会発表
- 1) Omori K, Nakamura T, Magrufov A, Shimizu Y : Regenerative medicine of the tracheal tissue. 2004 COSM; American Laryngological Association, Phoenix, USA, April 30-May 1, 2004
- 2) Kanemaru S, Nakamura T, Magrufov A, Tamura Y, Ito J, Omori K, Yamashita M, Tamaki H, Shimizu Y : A study of the mechanism of functional regeneration of the recurrent laryngeal nerve by tissue engineering. 2004 COSM; American Laryngological Association, Phoenix, USA, April 30-May 1, 2004
- 3) Kanemaru S, Omori K, Magrufov A, Yamashita M, Fujino K, Ito J: Regeneration of the mastoid air cells in clinical applications by in situ tissue engineering. 2004 COSM; The Triological Society (107th Annual Meeting), Phoenix, U S A, April 30-May 3, 2004
- 4) Yamashita M, Kanemaru S, Magrufov A, Omori K, Nakamura T, Ito J: In vivo trial for the regeneration of mastoid mucosa. The Triological Society (107th Annual Meeting), Phoenix, U S A, April 30-May 3, 2004
- 5) Kanemaru S, Omori K, Nakamura T, Akhmar MM, Yamashita M, Fujino K, Hiraumi S, Ito J. Regeneration of The Mastoid Air Cells. 7th International Congress on Cholesteatoma and Ear Surgery. Hague, Netherlands, June 24, 2004
- 6) Kanemaru S, Nakamura T, Yamashita M, Magrufov A, Kita T, Tamaki H, Tamura Y, Omori K, Ito J: Regeneration of the vocal fold by implantaion of bone marrow derived stromal cells. The Joint Meeting of the Tissue Engineering Society International and the European Tissue Engineering Society (TESI and ETES), Lausanne, Switzerland, October 13, 2004
- 7) Omori K, Nakamura T, Kanemaru S, Magrufov A, Yamashita M, Asato R, Shimizu Y : <Special Lecture > Regeneration of the laryngeal and tracheal tissue using in situ tissue engineering. The 4th East Asian Conference on Phonosurgery, Kyoto, December 4, 2004
- 8) 大森孝一：<シンポジウム>再生医療について．第 22 回呼吸器・免疫シンポジウム(東京 2004. 10. 23)
- 9) 大森孝一、中村達雄、金丸眞一、Magrufov Akhmar、山下 勝、安里 亮、田中信三、伊藤壽一：<シンポジウム>気管の再生医療．第 42 回日本癌治療学会 (京都, 2004. 10. 27-29)
- 10) 鹿野真人、渡邊 睦、横山秀二、小澤喜久子、大森孝一、長谷川 博：<シンポジウム>喉頭蓋管形成術の有用性と手術手技のポイント．第 25 回頭頸部手術手技研究会 (福岡 2004. 6. 16)
- 11) 金丸眞一：<シンポジウム>頭頸部領域における神経再生医療．第 16 回日本頭蓋底外科学会 (横浜 2004. 7. 1)
- 12) 金丸眞一：<シンポジウム>頭頸部領域における再生医療．第 18 回エムイー学会秋季大会 (松山 2004.11. 5)
- 13) 大森孝一：<シンポジウム>喉頭・気管領域のト

- ランスレーショナルリサーチ. 第 17 回日本喉頭科学会 (名古屋 2005. 3. 18-19)
- 14) 多田靖宏: <シンポジウム>気道の再生. 第 17 回日本喉頭科学会 (名古屋 2005. 3. 18-19)
 - 15) 金丸眞一: <シンポジウム>人工神経チューブを用いた神経再生医療. 第 17 回日本喉頭科学会 (名古屋 2005. 3. 18-19)
 - 16) 金丸眞一: <パネルディスカッション>難治性中耳炎に対する再生医学的アプローチ-In situ tissue engineering による乳突蜂巣の再生-. 第 14 回日本耳鼻科学会 (京都 2004.10.22)
 - 17) 大森孝一: <特別講演>喉頭・気管領域の外科治療: デイ・サージャリーと再生医療について. 第 53 回日本耳鼻咽喉科学会東北地方部会連合学術講演会 (秋田 2004. 7. 24-25)
 - 18) 大森孝一: <ビデオセミナー>効率的な手術施行に必要な臨床解剖: 咽頭・喉頭. 日本耳鼻咽喉科学会第 18 回専門医講習会 (岡山 2004. 11.20-21)
 - 19) 大森孝一: <講座>頭頸部領域の組織再生. 神戸大学工学部バイオテクノロジーコース「再生医療と工学」(神戸 2004. 11. 6)
 - 20) 金丸眞一、藤野清大、平海晴一、山下 勝、マグルフ アフマル、大森孝一、中村達雄、内藤 泰、伊藤壽一: In situ tissue engineering による乳突蜂巣の再生. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会総会 (広島, 2004. 5. 13-15)
 - 21) 安里 亮、金丸眞一、Magrufov Akhmar、山下 勝、池田晴人、大森孝一、伊藤壽一、中村達雄、清水慶彦: 組織再生型材料による頭蓋底硬性再建. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会総会 (広島, 2004. 5. 13-15)
 - 22) 平海晴一、金丸眞一、藤野清大、山下 勝、マグルフ アフマル、大森孝一、中村達雄、内藤 泰、伊藤壽一: 乳突蜂巣再生の臨床応用. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会総会 (広島, 2004. 5. 13-15)
 - 23) 山下 勝、金丸眞一、中村達雄、マグルフ アフマル、藤野清大、田村芳寛、大森孝一、清水慶彦、伊藤壽一: 組織工学的手法による乳突蜂巣再生の試み. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会総会 (広島, 2004. 5. 13-15)
 - 24) 藤野清大、金丸眞一、マグルフ アフマル、山下勝、平海晴一、大森孝一、中村達雄、内藤 泰、伊藤壽一: 術後乳突腔に移植可能な呼吸上皮粘膜シートの作成. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会総会 (広島, 2004. 5. 13-15)
 - 25) 大森孝一、中村達雄、金丸眞一、安里 亮、田中信三、山下 勝、Magrufov Akhmar、伊藤壽一、清水慶彦: 気道の再生治療. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会総会 (広島, 2004. 5. 13-15)
 - 26) 田村芳寛、金丸眞一、松野智宣、山下 勝、中村達雄、マグルフ アフマル、平塚康之、大森孝一、伊藤壽一、清水慶彦: In situ tissue engineering を用いた上顎骨 (口蓋) 再生の試み. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会総会 (広島, 2004. 5. 13-15)
 - 27) 田村芳寛、金丸眞一、山下 勝、Magrufov Akhmar、松野智宣、大森孝一、戸田好信、中村達雄: In situ tissue engineering を用いた上顎骨 (口蓋) 再生の試み. 第 7 回日本組織工学会 (東京 2004. 7. 1-2)
 - 28) 山下 勝、大森孝一、金丸眞一、Magrufov Akhmar、田村芳寛、中村達雄、伊藤壽一: 喉頭声帯隆起の組織工学的再生のこころみ. 第 7 回日本組織工学会 (東京 2004. 7. 1-2)
 - 29) 金丸眞一、山下 勝、Magrufov Akhmar、喜多知子、玉木久信、井口福一郎、田村芳寛、大森孝一、中村達雄、伊藤壽一: 骨髄由来間葉系細胞移植による声帯の再生. 第 7 回日本組織工学会 (東京 2004. 7. 1-2)
 - 30) Magrufov A, Kanemaru S, Nakamura T, Yamashita M, Omori K, Tamura Y, Tamura T, Ito J: Regeneration of mastoid mucosa, *in vitro* preliminary study. 第 7 回日本組織工学会 (東京 2004. 7. 1-2)
 - 31) 山下 勝、金丸眞一、Magrufov Akhmar、中村達雄、大森孝一、伊藤壽一: 組織工学的手法による乳突蜂巣再生の試み. 第 25 回日本炎症・再生医学会 (東京 2004. 7. 13-14)
 - 32) 金丸眞一、中村達雄、大森孝一、山下 勝、Magrufov Akhmar、藤野清大、平海晴一、玉木久信、伊藤壽一: 難治性中耳炎に対する再生医療-乳突蜂巣再生の臨床応用-. 第 25 回日本炎症・再生医学会 (東京 2004. 7. 13-14)
 - 33) 松塚 崇、鹿野真人、小澤喜久子、野本美香、谷 亜希子、多田靖宏、鈴木政博、鈴木輝久、大森孝一: 当科における喉頭癌の治療成績と今後の課題. 第 10 回北日本頭頸部癌治療研究会 (札幌 2004. 10.16)
 - 34) 金丸眞一、山下 勝、Magrufov Akhmar、玉木久信、田村芳寛、大森孝一、中村達雄、伊藤壽一: 自己骨髄由来間葉系幹細胞移植による声帯の再生. 第 56 回日本気管食道科学会 (2004. 11. 25-26)
 - 35) 山下 勝、金丸眞一、大森孝一、Magrufov Akhmar、玉木久信、田村芳寛、中村達雄、伊藤壽一: 気管の部分欠損に対する組織工学的再生. 第 56 回日本気管食道科学会 (2004. 11. 25-26)
 - 36) 野本幸男、鈴木輝久、多田靖宏、三宅将生、挟間章博、金丸眞一、大森孝一: 組織工学的手法による気管上皮細胞組織の作成. 第 56 回日本気管食道科学会 (2004. 11. 25-26)
 - 37) 鈴木政博、鹿野真人、大森孝一: 当科における咽

喉頭、食道の再建手術の成績. 第 15 回日本頭頸部外科学会 (新潟 2005. 1. 21-22)

38) 鹿野真人、松塚 崇、鈴木政博、小川 洋、渡邊 睦、大森孝一：当科における口腔癌に対する再建手術の検討. 第 15 回日本頭頸部外科学会 (新潟 2005. 1. 21-22)

39) 鈴木輝久、野本幸男、多田靖宏、三宅将生、挟間章博、金丸真一、大森孝一：ラット気管上皮細胞組織の作成と気管損傷モデルへの移植. 第 17 回日本喉頭科学会 (名古屋 2005. 3. 18-19)

40) 山下 勝、金丸真一、喜多知子、Magrufov Akhmar、井口福一郎、玉木久信、田村芳寛、大森孝一、中村達雄、伊藤壽一：骨髄由来細胞による声帯再生の試み. 第 17 回日本喉頭科学会 (名古屋 2005. 3. 18-19)

3. 報道

1) 「人工気管で粘膜を再生」 朝日新聞大阪本社 (2004. 5. 9) 日刊

2) 「人工気管移植で組織再生に成功」 朝日新聞東京本社 (2004. 5. 9) 日刊

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

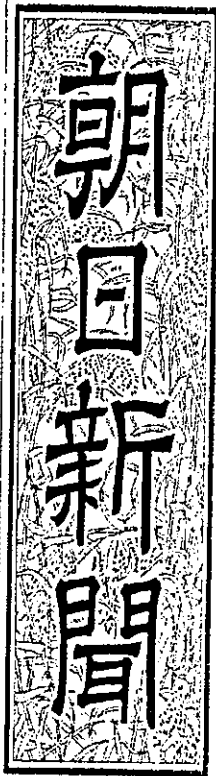
なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



©朝日新聞社 2004年
大阪府北区中之島3丁目
2番4号 〒530-8211
朝日新聞大阪本社
電話 06-6231-0131

人工気管で 粘膜を再生

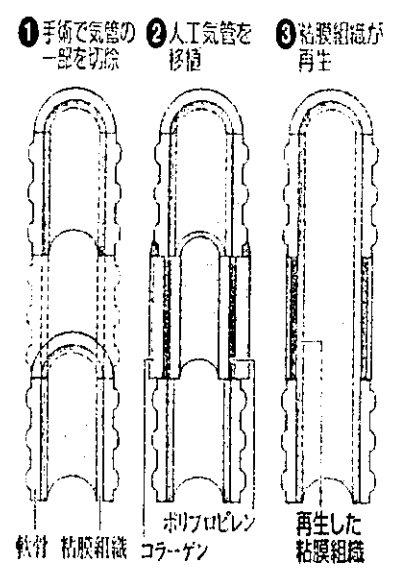
京大など 世界で初

がんなどで気管を一部
切った患者に人工気管を
移植し、その内側に正常
な気管と同様の粘膜組織

をほぼ完全に再生させることに、京都大と福島県立医大の研究グループが成功した。人工気管を使うことで手術が一度済み、手術後の発声などにもほとんど支障がない。人工気管で組織再生まで狙い通りに成功させた例は世界初という。5月初め、米喉頭科学会で発表された。

この人工気管は京都大再生医科学研究所の中村達雄・助教授らが約20年かけて独自に開発した。本物の気管は主に軟骨でできているが、ほぼ同じ形と硬さの網状の管をポリプロピレンを加工して作った。スポンジ状のコラーゲンで管の表面を覆い、患者自身の粘膜組織がうまく根付くようにした。材料はいずれも形成外科などの手術で使わ

人工気管による再生治療のしくみ



れているもので、犬の実験では5年間問題なく機能した。これまでの人工気管はうまく根付かず、炎症や癒着が起きるため実用的ではなかった。

最初の患者は、甲状腺がんに伴って気管の半周約3割を切除した70代の女性。02年12月に人工気管を移植し、2カ月後にはほぼ完全な粘膜組織が再生した。04年1月には甲状腺がんの70代の男性に2例目の手術を実施、順調に再生している。

甲状腺がんや食道がんなどの手術では、隣接する気管の一部を切る場合

がある。通常、もう一度手術をしてほかの部分の軟骨や皮膚を移植し、気管を閉じる必要がある。

ビルを、まるごと、心地よくする。

三菱電機ビルテクノサービス

<http://www.meltec.co.jp>



©朝日新聞社 2004年
〒104-8011 東京都
中央区築地5丁目3番2号
朝日新聞東京本社
電話 03-3545-0131

がんなどで気管を一部切った患者に人工気管を移植し、その内側に正常な気管と同様の粘膜組織をほぼ完全に再生させることに、京都大と福島県立医大の研究グループが成功した。人工気管を使うことで手術が一度済み、手術後の発声などにもほとんど支障がない。人工気管で組織再生まで狙い通りに成功させた例は世界初という。5月初め、米喉頭科学会で発表された。

人工気管移植で組織再生に成功

がん患者、発声スムーズ 京大・福島医大

この人工気管は京都大再生医科学研究所の中村達雄・助教授らが約20年かけて独自に開発した。本物の気管は主に軟骨でできているが、ほぼ同じ形と硬さの網状の管をポリプロピレンを加工して作った。スポンジ状のコラーゲンで管の表面を覆い、患者自身の粘膜組織がうまく根付くようにした。これまでの人工気管はうまく根付かず、炎

症や癒着が起きるため実用的ではなかった。最初の患者は、甲状腺がんに伴って気管の半周約3センチを切除した70代の女性。02年12月に人工気管を移植し、2カ月後にほぼ完全な粘膜組織が再生した。04年1月には甲状腺がんの70代の男性に2例目の手術を実施、順調に再生している。甲状腺がんや食道がんなどの手術では、隣接する気管の一部を切る場合がある。通常、もう一度手術をしてほかの部分の軟骨や皮膚を移植し、気管を閉じる必要がある。研究グループの大森孝一・福島県立医大教授(耳鼻咽喉科)は「人工気管を使うと手術は1回で終わり、入院も短くて済む。手術後の発声や食事にはほとんど支障がなく、首の傷跡も少ない。気管切除の患者にとってメリットが大きい」と話す。

II. 分担研究報告書

1. 気道の解剖

気道の解剖

分担研究者 桑畑直史（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）
主任研究者 大森孝一（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）
研究協力者 鹿野真人（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）
横山秀二（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）
鈴木政博（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）

研究要旨

気道は呼吸に関する通過路の総称であるが、解剖学的に鼻腔、口腔、咽頭、喉頭、気管、気管支、肺に分類される。このうち、上気道とは前鼻孔および口腔からはじまり、咽頭、喉頭までの総称であり、気管以下の下気道へ連なるが、その機能は単なる換気の通過路だけではない。空気の加湿・加温、嗅覚、嚥下、構音、発声などの生理的機能の他に、細菌やウイルスおよび異物などから下気道を保護する働きを有する。甲状腺癌や喉頭癌など周辺臓器の疾患の治療に際しても、外科的治療により気道は欠損する症例は多く存在する。本研究事業における気道の再生のターゲットとしては、主に上気道及び気管が挙げられる。本研究は特に上気道・気管の正常解剖とその機能について把握する。

A. 研究目的

気道及びその周辺の疾患で外科的治療により気道欠損する例は多く、この再建法が問題である。本研究は気道再生のターゲットとなる気道を構成する臓器について、正常解剖とその機能を把握することを目的とする。

B. 解剖と機能

1. 鼻腔

鼻腔は上気道の開始部分であり、外鼻孔に始まり後鼻孔に終わる体積約20mlの空間である。鼻前庭・固有鼻腔・副鼻腔で構成され、吸気の加湿・加温・浄化作用、下気道の防御、嗅覚、音声の共鳴などの役割を持つ器官である。また外観上は美醜の判断材料となる顔面の一部である。

1) 鼻腔の機能

気道としての鼻腔は、吸気時には加湿・加温とともに浄化作用を有し、また鼻汁による液性防御や三叉神経刺激によるくしゃみ反射は下気道を保護をする。嗅部には嗅細胞が存在し、嗜好的な意味合いの他に、身体・生命の危険察知に役立っている。音声における役割として、鼻腔は喉頭原音を共鳴させ、音響特性を与える。この他に下鼻道には鼻涙管が開口しており、涙の排泄の調整を行う。

2) 鼻腔の解剖

①鼻翼

鼻前庭は大鼻翼軟骨の内側にあたり、汗腺と毛根を有する皮膚で構成される。

②固有鼻腔

鼻前庭に続く気道であり、鼻腔側壁には鼻甲介が存在する。片側通常4つの鼻甲介が存在し、これらにより呼吸路は区分され鼻道とよばれる。中鼻道には上顎洞・前部篩骨蜂巣・前頭洞らの各自然口が開口する。

③副鼻腔

副鼻腔には篩骨蜂巣、上顎洞、前頭洞、蝶形骨洞があり、内部を呼吸上皮で被われた含気腔である。骨壁で隔

壁され、中鼻道もしくは上鼻道へ開口を有する。

鼻副鼻腔の粘膜の構造は、大部分を呼吸上皮が占め、鼻腔天蓋・鼻中隔上部・上鼻甲介鼻中隔側には嗅部が存在する。呼吸上皮は多列線毛円柱上皮であり、線毛細胞と杯細胞、基底細胞から構成される。線毛は協同性をもって配列し、協調運動を伴う波状運動を行って粘液を副鼻腔から鼻腔へ、また鼻腔から咽頭方向へ輸送する。嗅上皮は多列円柱上皮で、嗅細胞、支持細胞、基底細胞から構成され嗅腺の導管が開口する。

2. 口腔

口腔は消化器の前端であると同時に、鼻腔とともに気道の前端の役割を果たす。口唇・頬部・口蓋・舌・口腔底で囲まれ、口腔の後方は口峽となり、咽頭および喉頭へ連続する。

1) 口腔の機能

消化器の機能としては食物を吸い込み、咀嚼し、味わい、食塊を咽頭へ送り込む（嚥下の第一相）機能を果たす。この働きに密接に関係するのは唾液の分泌である。耳下腺や顎下腺は口腔外に存在するがその開口部は頬粘膜や口腔底にある。また舌下腺は口腔底に、その他の小唾液腺は口蓋をはじめ舌・頬粘膜・口唇など口腔に広く存在する。咀嚼は食塊をくだき、すりつぶす動作であるが咀嚼筋のみではなし得ず、口唇の閉鎖、頬筋による口すぼめ、舌の運動による食塊の適切な移動らが協調して得られる機能である。また嚥下の第一相では同様に舌をはじめとした口腔全体による食塊を送り出す動作が必要である。味覚や知覚は生命維持に必要な栄養の摂取とともに、消化器または生体の防衛にも関与する。すなわち生体にとって危険物が進入しないように働く。

鼻腔とともに口腔は気道の前端である。口蓋は鼻腔の下壁であり、また舌根は咽頭の前壁をなして喉頭に連続するため、この部の狭窄は気道の狭窄を意味する。

この他、舌や口腔の形態の変化によって構音に深く関与し、個体以外との音声を介したコミュニケーションも口腔が正常に働く事が必要である。

2) 口腔の解剖

①口唇

口唇には上唇と下唇があり、口角で互いに移行する。また口唇には口輪筋が存在し、口唇の動きの多くを司っている。

口唇の皮膚側の上皮は角化扁平上皮であり、毛嚢などに欠ける点で皮膚との境界は明瞭である。口腔粘膜側では角化のない扁平上皮であり頬粘膜と組織学的には同一である。

②頬

頬部は口腔外側壁をなす厚い軟部組織であり、顔面皮膚の皮下には頬筋・咬筋・犬歯筋・大頬骨筋・小頬骨筋・笑筋・オトガイ筋などの筋群が存在する。筋のほか顔面動脈や耳下腺管が走行し、頬粘膜側には頬唾液腺乳頭があり、ここに耳下腺の開口部が存在する。

③口蓋

口腔の上壁を形成し、同時に鼻副鼻腔の底部の役割を有する。硬口蓋と軟口蓋があり、硬口蓋は上顎骨の口蓋突起と口蓋骨の口蓋板からなる。軟口蓋は硬口蓋と異なり骨部をもたず、厚い口蓋筋を含むヒダであり、口腔と咽頭の境界となる。口蓋筋は口蓋垂筋、口蓋舌筋、口蓋咽頭筋、口蓋帆張筋および口蓋帆挙筋の総称で、口蓋垂筋は口蓋垂を挙上させ、口蓋舌筋は前口蓋弓を形成し、口蓋咽頭筋は後口蓋弓となり、口蓋帆張筋は口腔の動きに伴い耳管を開放し、中耳の気圧調整の役割をもっている。

硬口蓋の後部から軟口蓋にかけてはその粘膜下に多数の口蓋腺が存在し粘液を分泌する。

口蓋口腔側の粘膜上皮は重層扁平上皮で、リンパ組織や口蓋腺がみられる。しかし軟口蓋の鼻腔側では多列円柱上皮で、分泌腺は混合腺であり呼吸上皮の特徴を有する

④口腔底

口腔底の前半部は舌下部と呼ばれ、後半部は舌で被われている。舌下部は顎舌骨筋・顎二腹筋前腹・オトガイ舌骨筋などから構成される。口腔底には舌下腺が存在し、顎下腺管とともに舌下小丘を形成する。口腔底は組織が疎であり、口腔底蜂窩織炎などの発生理由と考えられている。

⑤舌

舌は口腔底の後半部であり、口腔の下面を形成する。舌の主たる構成組織は筋組織であり、外舌筋と内舌筋とに分けられる。両者とも運動神経は舌下神経支配であるが、オトガイ舌筋・舌骨舌筋・茎突舌筋などの外舌筋は外部から舌に入り、舌の大きな運動に関与する。また内舌筋は上縦舌筋・下縦舌筋・横舌筋および垂直舌筋からなり、舌自体の形を変化することに寄与する。

舌前方は可動部舌とよばれ自由に動くことができ、咀嚼・構音および嚥下に重要な役割を担う。この部の舌上面は舌乳頭で被われている。

舌の後部は舌根とよばれ、乳頭の代わりに舌扁桃が存在する。舌根は中咽頭前壁をなし、喉頭蓋谷を境に喉頭蓋へ連続する。

舌表面は肉眼上も他の口腔粘膜組織と区別され、その特徴は舌乳頭の存在による。舌乳頭は糸状乳頭、茸状乳頭、葉状乳頭、有廓乳頭からなり、乳頭先端は角化している。糸状乳頭以外の乳頭では乳頭間に溝が存在し、溝の上皮内

には多数の味蕾を有し、さらに溝には漿液腺が開口することで味覚に寄与している。

3. 咽頭

咽頭は上方の頭蓋底にはじまり、下方はほぼ第六頸椎の高さで輪状軟骨下縁にあたり食道につながる管腔である。咽頭は上咽頭・中咽頭・下咽頭に三分され、後鼻孔を通して鼻腔と、口峽を介して口腔と、また下方では喉頭と交通して気道および食物の通路として機能する。

1) 咽頭の機能

気道または食物の通過路としての機能を分割して行うことが咽頭の最大の機能である。気道として鼻腔または口腔と喉頭の交通と、口腔から食道への食物の交通はそれぞれ異なる中枢神経支配を受け、特に食物の喉頭・気管への流入はすなわち誤嚥となり生命の危機となりうる。咽頭の大半は常時開いた形で空気の通過路として存在するが、最下端の喉頭は声門閉鎖と下気道圧とで閉鎖され、また食道移行部は喉頭と頸椎とで圧迫閉鎖され嚥下時のみに開大する。

2) 咽頭の解剖

①上咽頭

上咽頭は後鼻孔にはじまり、軟口蓋より上方と定義される。軟口蓋の挙上と粘膜隆起（パッサーバン隆起）により中咽頭以下と完全に遮断され、もっぱら気道としての役割を負う。上方は咽頭頭底板に付着し、下方では後頸筋を以てして頸椎椎体に接する。この部には耳管咽頭口があり、中耳腔と交通する。また咽頭扁桃（アデノイド）、咽頭側索や耳管扁桃などワルダイエル咽頭輪とよばれるリンパ組織の一部が存在する。

②中咽頭

中咽頭は上方は軟口蓋の高さから、下方は喉頭蓋先端～咽頭喉頭蓋ヒダまでと定義され、上咽頭に連続し、側方は前後口蓋弓、前方は舌根で構成され、口峽を介して口腔と連続する。この部位には口蓋扁桃、舌扁桃、咽頭側索および咽頭後壁孤立リンパ濾胞などがあり、リンパ組織に富む。

③下咽頭

下咽頭は中咽頭から連続し、喉頭と交通し、また輪状軟骨下縁の高さで頸部食道に移行する。下咽頭の前上方は披裂部および披裂喉頭蓋ヒダを経て喉頭に連続する。また下半部の多くは輪状軟骨と頸椎により圧迫され、嚥下に際して開大する。

咽頭壁は内方から、粘膜、咽頭頭底筋膜、筋肉、頬咽頭筋膜（咽頭部）から形成される。鼻腔に接する上咽頭前上部の粘膜上皮は鼻腔粘膜に類似する線毛多列円柱上皮であるが、中咽頭および下咽頭などはすべて口腔や食道の粘膜上皮と同様に重層扁平上皮である。咽頭頭底板は粘膜と筋肉との間にあり、上方で厚くよく発達しているが、下方にいくにつれて薄くなる。筋肉は各々3対の内縦走筋と外輪状筋で構成される。縦走筋は茎突咽頭筋、口蓋咽頭筋、耳管咽頭筋であり、輪状筋は上・中・下咽頭収縮筋である。下咽頭収縮筋はさらに甲状咽頭部と輪状咽頭部とに分けられ、咽頭筋の主体をなすのは輪状筋である。嚥下に際してはこれらの筋群は連続して働き、蠕動運動様の動きをする。一方、咽頭の下方に存在する食道は内輪層と外縦層から構成され、収縮と弛緩を反復することで蠕動を行う。

4. 喉頭

喉頭は頸部の前方・中央に位置する喉頭軟骨群に囲まれる管腔臓器である。気道としての機能の他に、嚥下時の下