

気管の再生治療

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）

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）

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）

研究協力者：安里 亮、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）

研究要旨

気道としての硬度を持った枠組みと内腔粘膜を同時に再生させることを目的として、組織工学的手法による気管再生のトランスレーショナルリサーチを行ってきた。本研究では動物実験による気管再生に関する長年の研究成果の蓄積をふまえて、「喉頭・気管の再生治療」について倫理委員会の承認を得て、主任研究者らは本再生治療を世界に先駆けて行った。まず安全な頸部気管の切除後欠損例の再建を行った。自己組織再生型の人工材料、手術手技、術後経過を述べ、今後の課題を明らかにする。

A. 研究目的

気道への悪性腫瘍の浸潤や炎症性疾患などで病変を切除した後の再建は難しく、複数回の複雑な手術や侵襲の大きな治療が行われており、未だ決定打がない状況である。主任研究者らは気管欠損部の組織再生をはかるために、*in situ* Tissue Engineeringの手法を用い、自己組織再生型の人工材料を足場として移植する技術を開発し、動物実験で有効性と安全性を確認してきた¹⁻⁴⁾。本研究の目的はこの技術をヒトに臨床応用し、世界に先駆けて気管の再生医療を行うことで、低侵襲の医療の実現と医療費の削減をめざすことにある。さらに、本再生治療の今後の課題を明らかにする。

B. 研究方法

1. 人工材料の開発

管状の枠組みを保持するためポリプロピレン製のメッシュを管状にし、これを同質の材料でリング状に補強した。さらに組織再生の足場としてその周囲にコラーゲンスポンジを付加して、自己組織再生型の人工材料を開発した²⁾。ポリプロピレン製メッシュは特定保険材料として従来から胸壁や腹壁の補強に臨床に使用されているもので、開発の過程で生体に取り込まれるメッシュの至適な編み目の大きさを決定し260 μ mとした。コラーゲンスポンジは医療用のブタ皮膚由来のI型およびIII型コラーゲンを用いた。本人工材料ではコラーゲンとメッシュがはずれにくいようにするために、コラーゲン液をメッシュ上に塗布した上で、140 $^{\circ}$ C、24時間の熱架橋を加えた。

2. 動物実験の概要

ビーグル犬を用いた動物実験で、本人工材料を気管欠損部に移植し、最長5年の観察で、気管内腔の

良好な上皮化が得られ、気道としての管腔も十分保たれている。組織学的評価では、このようにしてできた管状の組織管に、メッシュ内に結合織が入り込み、内腔面は再生した気管上皮で覆われ電子顕微鏡で線毛を確認した。軟骨組織は再生しなかったが、再生気管の硬度については機械的圧縮試験を行い生体気管と同程度であった。少数例で肉芽や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。生体気管との接合部も安定した組織移行がみられ、長期に安全に使用できることがわかった。最長5年の観察で、気管の上皮再生は良好で問題なく経過している³⁾。これらのことから、自己組織再生型の人工材料は頭頸部癌の気道浸潤、声門下や気管の炎症性狭窄などにおける気管、輪状軟骨切除後の再建に臨床応用可能と考えられた。

3. 倫理的配慮

以上の動物実験の結果をふまえ、「喉頭・気管の再生治療」は京都大学医学部倫理委員会の承認を得て、ヘルシンキ宣言に則り本人工材料のヒトへの応用を開始した。さらに本再生治療は福島県立医科大学医学部倫理委員会でも承認された。

C. 臨床応用

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、京都大学病院において本再生治療を実施した。第1例目は79歳女性、主訴は右頸部腫脹。CTにて、甲状腺右葉全体を占める直径約5cmの腫瘍を認め、頸部気管右側への浸潤が疑われ、気管内視鏡でも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(図1)。

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(図2)。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。

術後の気管内視鏡所見を図3に示す。術後2週間にはコラーゲンとメッシュが透見され、術後2カ月で上皮化し人工材料はほぼ被覆され、術後2年1カ月の現時点では、気管内腔面は上皮で覆われ組織再生は良好な経過である。

さらに、71歳男性の甲状腺癌気管浸潤例に対して、同様の方法で気管の再生治療を行い、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。なお、福島県立医科大学医学部附属病院でも2例に対して臨床応用を行い経過良好である。

D. 考察

気道に悪性腫瘍が浸潤した例や気道の炎症性疾患、外傷例などで病変を切除した際、気道欠損部の再建が問題になる。これには、気道としての硬度を持った枠組みと内腔粘膜を同時に再建する必要がある。従来、硬性組織には各種の軟骨、骨、人工材料などが、内腔面組織には皮膚や粘膜などが用いられたが、二期的にしかも他部位の手術が必要である。また、気管切除後の端々吻合術は、縫合不全の可能性や術後の挿管および頸部前屈体位など解決すべき問題点が残されている。

1960年代から人工気管については多くの研究が行われてきたが、現在まで安心して臨床使用できる人工材料は開発されていない。Nevilleらの人工気管が一時的に臨床応用されたが⁵⁾、気管断端との接合部の離開が起こり現在は使われていない。中村らは1985年頃より様々な人工気管を試作してきたが、1995年、自己組織が再生するようにデザインした人工材料を開発し、動物実験で良好な気管再生を実現できることを報告した²⁾⁻⁴⁾。同様の人工材料を輪状軟骨の切除後の欠損モデルに移植し、再生組織は正常と同等の硬さを持ち、かつ良好な上皮化が得られることがわかった¹⁾。

臓器再生には足場、細胞、環境調節因子が必要で、この三要素に加えて血流が供給されると臓器再生が得られるとされている。本研究では足場のみの移植を行い、組織再生をはかった。

組織工学(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⁶⁾。この考え方でKojimaら⁷⁾は羊の鼻中隔軟骨と上皮細胞を培養し、シリコンチューブの周囲に内腔を上皮に被覆された軟骨管を作製しマウスの背中に移植した。これにより正常の気管とよく似た

管腔組織を再生させたが、ヒトへの臨床応用には超えなければならないハードルがある。

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が数多く行われている。自己由来の細胞移植としては、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⁸⁾、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⁹⁾、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ある¹⁰⁾。

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、1997年以後、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を報告してきた¹⁾⁻⁴⁾。これらの実験では細胞移植や増殖因子は使わずに足場の移植のみでの組織再生を行ってきた。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、自己由来であっても細胞移植を行うと、生きた細胞や組織を取り扱うので、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*により足場のみを移植する手法は安全性が高く臨床応用に近いといえる。気管、輪状軟骨までは、この方法である程度満足する成績が得られるものと思われる。

次のステップとして解決すべき問題点は、上皮化を加速する方法の開発、形態の複雑な喉頭、特に声帯の再生などがあげられる。これらの臨床的問題点をフィードバックさせ、本研究グループでは気道の上皮再生を加速するために、気管上皮細胞の培養、気管上皮細胞と人工材料からなるハイブリッド型の足場材料を開発し、その細胞の性質を免疫組織化学的手法で解析している。また、声帯の隆起を再生するために、喉頭内腔を型どりの材料を作製した。これらの結果は別項目に述べたが、問題点を克服することで、より多くの患者により安定した喉頭・気管の再生治療を実現できると考えられる。

E. 結論

我々は、体内で自己組織の再生を誘導する*in situ Tissue Engineering*の考え方で気道再生研究を行った。ポリプロピレンメッシュとコラーゲンスポンジから構成される足場材料を開発し、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世界に先駆けて頸部気管で臨床応用を開始し2年1カ月経過した現時点では気管内腔は上皮化し順調である。しかしながら、気道の再生治療は端緒についたばかりであり、今後臨床成績を長期的に評価することが重要である。

参考文献

1. Omori K, Nakamura T, 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* 113:623-627,2004.
2. Teramachi M, Kiyotani T, Takimoto Y, Nakamura T, Shimizu Y: A new porous tracheal prosthesis sealed with collagen sponge. *ASIO J*;41:306-310,1995.
 3. Nakamura T, Teramachi M, Sekine T, Kawanami R, Fukuda S, Yoshitani M, Toba T, Ueda H, Hori Y, Inoue M, Shigeno K, Nakahara T, Liu Y, Tamura N, Shimizu Y. Artificial trachea and long term follow-up in carinal reconstruction in dogs. *Int J Artificial Organs*;23:718-24,2000.
 4. Sekine T, Nakamura T, Matsumoto K, Liu Y, Ueda H, Tamura N, Shimizu Y. Carinal reconstruction with a Y-shaped collagen-conjugated prosthesis. *J Thoracic Cardiovascular Surg* 119:1162-1168,2000.
 5. Neville WE, Bolanowski PJ, Koita GC. Clinical experience with the silicone tracheal prosthesis. *J Thorac Cardiovasc Surg*;99:604-13, 1990.
 6. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 14: 260 (5110):920-6, 1993.
 7. Kojima K, Bonassar LJ, Roy AK, Mizuno H, Cortiella J, Vacanti CA. A composite tissue-engineered trachea using sheep nasal chondrocyte and epithelial cells. *FASEB J*. 2003 May;17(8):823-8.
 8. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzgenbichler B, Schattman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*. 14:275 (5302):964-7, 1997.
 9. Ohgushi H, Kitamura S, Kotobuki N, Hirose M, Machida H, Muraki K, Takakura Y. Clinical application of marrow mesenchymal stem cells for hard tissue repair. *Yonsei Med J* 30:45 Suppl:61-7, 2004.
 10. Tsubota K, Satake Y, Kaido M, Shinozaki N, Shimmura S, Bissen-Miyajima H, Shimazaki J. Treatment of severe ocular-surface disorders with corneal epithelial stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 3:340(22):1697-703, 1999.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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

- 2) 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：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
- ### 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) 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）
 - 3) 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）
 - 4) 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）
 - 5) 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）
 - 6) 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）
 - 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＞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）

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

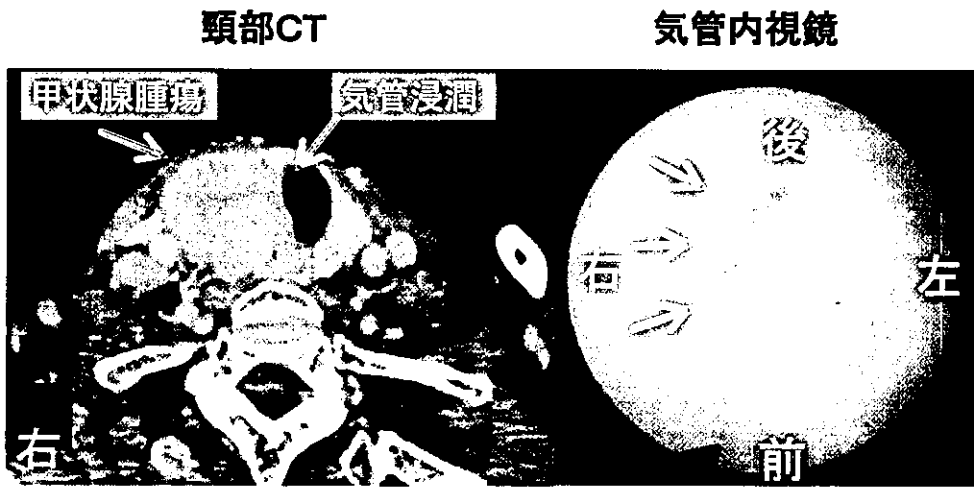


図1 術前所見



図2 気管切除範囲と人工材料による気管再建

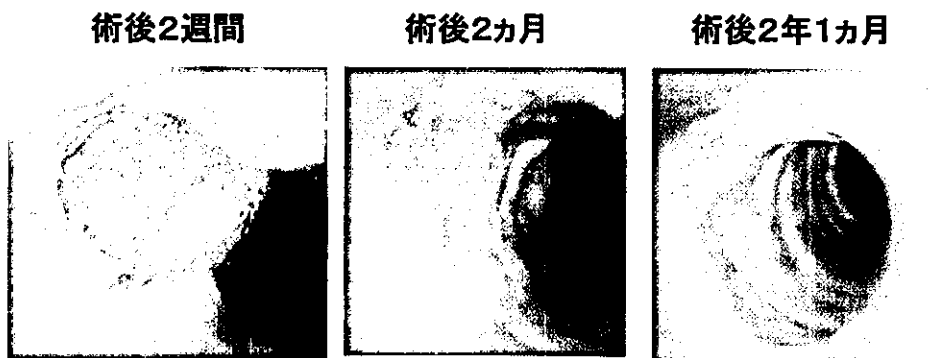


図3 内視鏡所見

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
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	2004	228-231
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	2004	62-65

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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
Tateya I, Omori K, Kojima H, Hirano S, Kaneko K, Ito J	Steroid injection to vocal nodules using fiberoptic laryngeal surgery under topical anesthesia	Eur Arch Otorhinolaryngol	261(9)	489-492	2004
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)	124, Suppl551	18-21	2004
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)	124, Suppl551	22-25	2004
Fujino K, Kim TS, Nishida AT, Nakagawa T, Omori K, Naito Y, Ito J	Transplantation of neural stem cells into explants of rat inner ear	Acta Otolaryngol(Stockh)	124, Suppl551	31-33	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kim TS, Kojima K, Nishida AT, Tashiro K, Lee JE, Fujino K, Nakagawa 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)	124, Suppl551	34-38	2004
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)	124, Suppl551	43-47	2004
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)	124, Suppl551	65-68	2004
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)	124, Suppl551	75-79	2004
Kanemaru S, Nakamura T, Omori K, Magrufov A, Yamashita M, Shimizu Y, Takahashi H, Ito J	Regeneration of mastoid air cells: Clinical applications	Acta Otolaryngol(Stockh)	124, Suppl551	80-84	2004
大森孝一、多田靖宏、小澤喜久子、丸子 文	画像診断 喉頭	JOHNS	20(3)	445-448	2004
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
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
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	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	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
金丸眞一	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
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
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
Hayashi S, Hazama A, Dutta AK, Sabirov RZ, Okada Y	Detecting ATP release by a biosensor method	Sci STKE	258	p114	2004
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	25	505-522	2004
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	17(2)	181-187	2004
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
Nakamura T	Regenerative medicine for respiratory diseases	JMA	47(7)	333-337	2004
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
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

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takahashi M, Nakamura T, Toba T, Kajiwara N, Kato H, Shimizu Y	Transplantation of endothelial progenitor cells into the lung to alleviate pulmonary hypertension in dogs	Tissue Engineering	10(5/6)	771-779	2004
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
Nakahara T, Nakamura T, Kobayashi E, Kuremoto K, Matsuno T, Tabata Y, Eto K, Shimizu Y	<i>In situ</i> tissue engineering of periodontal tissues by seeding with periodontal ligament-derived cells	Tissue Engineering	10(3/4)	537-544	2004
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	<i>In situ</i> 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
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
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

報道

人工気管移植で組織再生に成功	朝日新聞	2004年(平成16年)5月9日 日曜日 日刊
----------------	------	-------------------------