

- 49) 多田靖宏：〈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「気道の再生」. 第17回日本喉頭科学会 (2005.3.18-19, 名古屋)
- 50) 山下 勝, 金丸眞一, 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 (2005.3.18-19, 名古屋)
- 51) 鈴木輝久, 野本幸男, 多田靖宏, 三宅将生, 挾間章博, 金丸眞一, 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 (2005.3.18-19, 名古屋)
- 52) 大森孝一：〈特別講演〉喉頭疾患の治療：最近の話題. 第84回社団法人大阪府耳鼻咽喉科医会研修会 (2006.2.25, 大阪)
- 53) 大森孝一〈特別講演〉喉頭・気管の再生医療. 第37回西埼玉地区耳鼻咽喉科研究会 (2006.1.12, 所沢)
- 54) 大森孝一：〈特別講演〉喉頭・気管の低侵襲治療と再生医療. 第9回奈良県耳鼻咽喉科処置・手術手技研究会 (2005.11.26, 奈良)
- 55) 大森孝一：〈特別講演〉気道の再生と臨床応用. 第4回肺サーファクタント分子病態研究会 (2005.11.12, 東京)
- 56) 大森孝一：〈講義〉頭頸部領域の再生医療. バイオテクノロジー医工融合講座 (神戸大学工学部バイオテクノロジーコース)「バイオマテリアルの基礎」中級「再生医療 I, II」(2005.11.5, 神戸)
- 57) 大森孝一：〈特別講演〉喉頭・気管の再生医療. 第31回山形県耳鼻咽喉科疾患研究会 (2005.10.15, 山形)
- 58) 大森孝一：〈特別講演〉再生医療の現状と今後の展開. 平成17年度福島県国保地域医療学会 (2005.8.6, 福島) 抄録集83~101, 2006
- 59) 大森孝一：〈特別講演〉喉頭デイ・サージャリーと再生治療. 日本耳鼻咽喉科学会福井県地方部会学術講演会 (2005.6.11, 福井)
- 60) 大森孝一：〈特別講演〉喉頭デイ・サージャリーと再生治療. 第28回大分耳鼻咽喉科臨床研究会 (2005.6.2, 大分)
- 61) 大森孝一：〈招待講演〉喉頭外科：デイ・サージャリーと再生医療. 第25回日本耳鼻咽喉科学会高知県地方部会学術講演会 (2005.4.17, 高知)
- 62) 大森孝一：〈講演〉再生医療の現況と今後の課題. 平成16年度福島市医師会医事法制委員会講演会 (2005.3.23, 福島)
- 63) 大森孝一：〈特別講演〉喉頭デイ・サージャリーと再生医療. 第5回徳島県耳鼻咽喉科疾患研究会 (2005.2.24, 徳島)
- 64) 大森孝一：〈特別講演〉喉頭・気管領域の外科治療. 長崎県耳鼻咽喉科専門医講座 (2005.2.3, 長崎)
- 65) 中村達雄：再生医学の臨床応用. 城東区医師会学術講演会 (2005.12.20, 大阪)
- 66) 中村達雄：In situ tissue engineering とその臨床応用. 医工学フォーラム-2004年度特別学術講演会- (2005.2.23, 京都)
- 67) 中村達雄：神経の再生と再生医療. 第2回香川泌尿器疾患フォーラム (2005.2.15, 高松)

3. 学会賞

- 1) The American Broncho-Esophagological Association Steven Dean Gray Resident's Research Award 2nd Place (2005) Nomoto Y, Suzuki T, Tada Y, Miyake M, Ogawa H, Hazama A, Omori K, Kanemaru S: Tissue engineering for regeneration of the tracheal epithelium.
- 2) American Laryngological Association Poster Presentation Second Place Award (2005) Yokoyama S, Kano M, Watanabe M, Ogawa H, Omori K: Morphological and histological examination of the epiglottis: Implications for improving the epiglottic closure technique.

《平成16年度》

1. 論文発表

- 1) Omori K, Nakamura T, Kanemaru S, Kojima H, Magrufov 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, Ito 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, 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): 771-7, 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 Eng* 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・頭頸部外科クリニカルトレンド」中山書店, 東京, 222-224, 2004
 - 24) 中村達雄: 人工気管. 末舂恵一, 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: 乳突蜂巣構造の再生 - *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 (2004. 4. 30-5. 1, Phoenix)
- 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 (2004. 4. 30-5. 1, Phoenix)
- 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) (2004. 4. 30-5. 3, Phoenix)
- 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) (2004. 4. 30-5. 3, Phoenix)
- 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. (2004. 6. 24, Hague)
- 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) (2004. 10. 13, Lausanne)

- 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 (2004. 12. 4, Kyoto)
- 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 (2004. 10. 23, 東京)
- 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 (2004. 10. 27-29, 京都)
- 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 (2004. 6. 16, 福岡)
- 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 (2004. 7. 1, 横浜)
- 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 (2004. 11. 5, 松山)
- 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 (2005. 3. 18-19, 名古屋)
- 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 (2005. 3. 18-19, 名古屋)
- 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 (2005. 3. 18-19, 名古屋)
- 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回日本耳科学会 (2004. 10. 22, 京都)
- 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 (2004. 7. 24-25, 秋田)
- 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 (2004. 11. 20-21, 岡山)
- 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」(2004. 11. 6, 神戸)
- 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 (2004. 5. 13-15, 広島)
- 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（2004.5.13-15, 広島）
- 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（2004.5.13-15, 広島）
- 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（2004.5.13-15, 広島）
- 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（2004.5.13-15, 広島）
- 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（2004.5.13-15, 広島）
- 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（2004.5.13-15, 広島）
- 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（2004.7.1-2, 東京）
- 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（2004.7.1-2, 東京）
- 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：骨髓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（2004.7.1-2, 東京）
- 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（2004.7.1-2, 東京）
- 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（2004.7.13-14, 東京）
- 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（2004.7.13-14, 東京）
- 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（2004.10.16, 札幌）
- 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：自己骨髓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, 東京）
- 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, 東京）
- 36) 野本幸男, 鈴木輝久, 多田靖宏, 三宅将生, 挾間章博, 金丸眞一, 大森孝一：組織工学的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, 東京）
- 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（2005.1.21-22, 新潟）
- 38) 鹿野真人, 松塚 崇, 鈴木政博, 小川 洋, 渡邊 陸, 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（2005.1.21-22, 新潟）
- 39) 鈴木輝久, 野本幸男, 多田靖宏, 三宅将生, 挾間章博, 金丸眞一, 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（2005.3.18-19, 名古屋）
- 40) 山下 勝, 金丸眞一, 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：骨髓由来細胞による声帯再生の試み。第17回日本喉頭科学会（2005.3.18-19, 名古屋）
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

組織工学の手法を用いた組織再生型胸腔内人工気管の研究

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）

研究要旨

呼吸器系臓器のうち、気道は中枢の気管と末梢の細気管支・肺胞によって構成される。外科的な再生（再建）は気管支までが対象になる。気管支よりさらに末梢の細気管支や肺胞レベルの再生は内科治療の対象である。平成16-18年度にわたり中枢気道の再生治療および末梢レベルの再生治療の研究に取り組んできた。平成16年度は、増殖因子の経気道投与による末梢気管支・肺胞の再生をこころみた。平成17年度は中枢気道再建に使用する人工気管ののぞまれる力学的特性についての研究をおこなった。平成18年度は全長にわたる完全自己組織型人工気管の新しいモデルについての研究をおこなった。本稿では各年度の研究内容を統括報告する。

A. 研究目的

慢性閉塞性肺疾患（COPD）とは、完全には可逆的ではない気流制限により特徴付けられる病的状態である。肺胞および末梢気管支の力学的構造の破壊を基礎とする病態であり、日本においても、現在約5万人がこの疾患により在宅酸素療法を受けている。2001年に発表された肺疾患疫学調査研究会が行った調査によると、COPDは本邦において、未治療の患者を含めると、推定患者数は530万人で現在も増加傾向にある疾患である。治療法としては現在のところ酸素吸入療法以外には有効な治療法はなく、この病態の進行を遅らせる手立てもないのが現状である。臨床応用への可能性を持つ治療的方法として、細胞増殖因子を用いて再生を誘導させることが考えられる。例えば、血管新生増殖因子を用いて血管新生を促し、換気効率の改善をもたらす。また血流増加により鍵となる細胞をその部位に誘導するか、あるいは血流により再生に必要な液性因子を供給し、その結果として肺胞の再生を促進することにより、壊れた肺胞構造の組織学的再生を促進しCOPDの症状を改善させることが可能であると考えられる。

1. 肺気腫に対するグロースファクターの有効性

我々は線維芽細胞増殖因子（basic fibroblast growth factor: bFGF）の経気道的投与が肺気腫により低下した呼吸機能を改善するかについて検討を行った。bFGFは、種々の組織および臓器において、血管新生、平滑筋細胞成長、創傷治癒、組織修復、造血、神経細胞の分化等の多岐にわたる機能を有することが見いだされている。

2. 新しい人工気管の設計のための気管の力学物性の研究

疾患や外傷で気管が損傷を受けたとき、人工物を用いて気管を再建しようとする試みは以前から行われてきた。1960年代後半にはシリコンチューブを用いた人工気管が考案された。しかし、シリコンチューブの人工気管では内腔に上皮が再生しないため、内腔に痰などの異物

が溜まり気道が閉塞してしまうという問題点があった。最近、新しいタイプのメッシュ型人工気管が開発された。このメッシュ型人工気管は円筒状のメッシュに巻きつけたステントによって内腔を保持している。また、気密性を向上させるとともに結合組織・粘膜組織の進入を促すため、メッシュの両面をコラーゲンで被覆してある。この人工気管は、埋入後は生体組織に害を与えることなく体内に留まり、内腔には線毛を持つ気管上皮が再生することが確認されている。人工気管はやわらかすぎると狭窄し、逆にかたすぎても隣接する血管などの組織を傷つけてしまう。生体内で気管の機能を代替するために、人工気管には適切な力学物性が要求される。したがって、メッシュ型人工気管の力学物性を明らかにすることはその実用化の上で非常に重要となる。

3. 完全自己組織再生型人工気管の開発

われわれのグループではコラーゲンによる細胞外マトリックスをそなえた自己組織誘導型の人工気管の再建につき一定の成果をあげてきた。さらに胸部人工気管の臨床応用に必要な要件として、比較的長く、かつ再建・埋入時に全長にわたり血流が確実に保障されていることが求められる。胸腔内気管は周囲の組織からの血流が乏しいため、再建後の壊死や縫合不全の可能性も高い。今回われわれは人工気管を、腹部内に埋入し自己組織化した上で胸腔内へ血流付グラフトとして移植するあらたなモデルを作成した。

胸腔内の気管切除後再建には切除後直接再吻合がおこなわれている。これまでの報告では6cmまでの切除後再建が可能とされている。しかしながら長い区間の気管再建は、切除の後、周囲の気管組織の広範囲の剥離・授動が必要である。本来的に胸腔内気管周囲は血流に乏しいためこの広範囲におよぶ手術操作、術後の縫合部にかかる緊張により、吻合部の縫合不全や感染を起こしやすい手術となり、手術適応は極めて限られているのが現状である。切除部気管を人工物により再建する試みは1960年

代からなされてきているが、胸腔内気管を切除後人工的に置換しうる気管は未だに臨床応用可能なものは得られていない。われわれはあらたに従来開発してきたコラーゲンによる細胞外マトリックスを持つ人工気管を、腹部内に埋入し自己組織化した上で胸腔内へ血流付グラフトとして移植するあらたなモデルを試みた。具体的には図1に示すとおり、合成高分子骨格と3次元コラーゲンマトリックスで構成された気管原基を血流の豊富な腹腔内脂肪組織（大網）に埋入、自己組織化した上で、図2に示すように胸腔内へ導き気管と置換するものである。

B. 研究方法

1. 肺気腫に対するグロースファクターの有効性

ビーグル犬15匹（体重9～14kg）を用い1) control group、2) FGF(-) group、3) FGF(+) groupに分けた。肺気腫モデルはFGF(-) group、FGF(+) groupに対して行った。豚膝エラストーゼ50mg (3750単位) を生理食塩水5 ml に溶解し、噴霧カテーテルを末梢気管支までもって行き、10回に分けて左肺全体に散布した。散布後28日を経過したものを左肺肺気腫モデルとして利用した。右肺を正常肺と考えて比較を行った。

グロースファクターの作用時間、作用効果を増幅させる目的で、ゼラチンマイクロ粒子を Drag delivery system (DDS) として用いた。bFGF200 μ g をゼラチンマイクロ粒子（粒子平均径10 μ m）に含有させたものを生理食塩水5 ml に攪拌し、FGF(+) 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。FGF(-) group には 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 による治療の前後での変化を見るべく、動脈血液ガス分析、MRI による相対的血流を測定し比較した。

2. 新しい人工気管の設計のための気管の力学物性の研究

人工気管の適切な力学物性の指標となる生体の気管の力学物性を調べた。ビーグル犬の気管の一軸伸長試験と側面圧縮試験を行い、得られたデータについて考察した。次に、ステントの材質、断面形状、巻き方などが異なるメッシュ型人工気管を作製し、側面圧縮試験を行った。各試料にかかる力と相対たわみ量の関係を比較することによって、ステントがメッシュ型人工気管の力学物性に及ぼす影響を明らかにした。また、新たに考案した生理的に近いメッシュ型人工気管（膜様部柔構造）について動物実験を行い、気管組織の再生についても検討を行った。

3. 完全自己組織再生型人工気管の開発

気管原器の作成（図3）として気管骨格（長さ5 cm直径30mm）は合成高分子（ポリプロピレン-ソフトマレックスメッシュ™）で作成した。シート状のメッシュを加熱して接合し十分な強度と耐久性を持つものとした。この骨格にプラズマ放電を1分間行い、表面構造を変化させる。さらに1%コラーゲン溶液を骨格周囲に10 mmの厚みで流し込み、-80℃で冷凍後、凍結乾燥し、スポンジ様構造とする。低圧乾熱器で140度24時間熱架橋

をおこない、コラーゲンスポンジに強度を与えた。

実験動物への埋入として実験動物（ビーグル成犬 体重7から12kg 3頭）の腹腔内脂肪組織（大網）に被覆、埋入した。3週間を経過させて後、自己組織化された人工器官を横隔膜を通して有茎性に胸腔内へ導入し、自己気管を3 cmにわたり切除し、この人工気管を間置・置換した。

C. 研究結果

1. 肺気腫に対するグロースファクターの有効性

MRI を使用し、ビーグル犬を全身麻酔した後、仰臥位で撮影する。MRI の信号値は造影剤投与後において血流量に比例するため、血流量が多い部位ほど信号値は高くなる。肺動脈の血流量には個体差があるため、その個体差をなくすべく、投薬した左肺を正常の右肺でわった MRI 信号値の左右比で比較した（図4）。造影剤を注入後約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（図5）。

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、視覚的に明らかに認められた。これらの結果はエラストーゼの用量依存性に肺気腫モデル（軽症肺気腫モデルのエラストーゼ投与量は750U、重症肺気腫モデルのエラストーゼ投与量は3000U）の重傷度が変化することを示唆する。Dynamic contrast-enhanced MRI 冠状断面像を図1に示す。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。これらの冠状断面像の肺実質領域をプロットし60秒間の信号強度をグラフ化したものが図2である。(A) エラストーゼ投与前のモデルでは左肺実質と右肺実質の信号強度に差はなく左右信号強度比率は 0.99 ± 0.02 であった。(B) エラストーゼ投与後モデルでは、左肺の信号強度の低下が見られた。信号値のピーク時である20秒前後の低下は著しかった。信号強度比率 0.70 ± 0.07 。(C) bFGF 治療モデルにおいては左肺信号値の改善が認められ、右肺信号値に近づいた。信号強度比率 0.88 ± 0.06 。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）では信号強度比率は 0.69 ± 0.05 であり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 ($P = 0.004$)。また条件を一定にした換気条件 ($FiO_2 = 0.2$, Tidal volume = 18.0ml/kg, I : E = 1:2, Respiratory rate = 10/min) 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。

2. 新しい人工気管の設計のための気管の力学物性の研究

埋植後3ヶ月で摘出した新たに設計したメッシュ型人

工気管（膜様部柔構造）について圧縮試験を行った結果の応力-ひずみ曲線を示す。（図6）

埋植前、PP-aはDirection A（体幹の前後方向）がDirection B（体幹の側方）の2倍の力を示していたが、埋植後3ヵ月ではDirection AとDirection Bはほぼ同じレベルを示した。メッシュ型人工気管は、ステントが巻き付けてある部分もステントがないメッシュがむき出しであった部分も、管の外側がかたい肉芽に覆われていた。そのため、圧縮方向によるかたさの違いはなくなっていたと推測される。2本の曲線の形状の違いはメッシュ型人工気管内腔に進入した肉芽組織の厚さが一様でないことに起因するものと考えられる。

3. 完全自己組織再生型人工気管の開発

実験動物（3頭）は術直後・翌日・1週間後・1ヵ月後・3ヵ月後・6ヶ月後、12ヶ月経過後に電子内視鏡で内腔を観察した。短期的な合併症は認めなかった。術後8ヶ月経過後に1頭が腸閉塞から腸管壊死をおこし死亡した。

術直後より気管の内腔は自己組織で覆われており、完全に気密が保たれていた。経時的な内視鏡の観察では人工気管の内腔の狭窄・感染・空気漏れ・逸脱を認めなかった（図7）。

4ヶ月経過後犠牲死させた実験動物の胃大網動脈に血管造影用カテーテルを挿入し、血管造影をおこなった。人工気管内への血流が全長にわたり確保されているのが確認された。（図8）

4ヶ月経過後の実験動物を犠牲死させ組織標本を検討した。再生人工気管は肉眼的に再生気管組織厚は3mmの厚みをもっており、内腔は自己組織に覆われていた。組織所見を図9に示す。

高分子骨格の間隙に自己組織の再生がみとめられ、また多数の微小血管が発達しているのが観察された。摘出人工気管の内腔には一部線毛上皮の再生をみとめた。

D. 考 察

エラスターゼの経気道的投与により、肺容積、胸郭体積は増大する。これらの結果は他の多くの動物実験でも同様の結果が認められており、生体内で起こる代償的变化と考えられる。人間の生体内でも同様の変化が初期の肺気腫では起こると考えられ、全肺気量増大、barrel chestなどに代表される肺気腫性変化に近似している。さらにエラスターゼ経気道投与量や投与回数を増やすと、胸郭体積の代償的増大は、やがて起こらなくなり末期の肺気腫に似た病態になると考えられるが、動物ではコミュニケーションを親密にとることは難しく、人間に行えるような集約的治療が困難なため、全肺気量が低下してくるほど重症の動物モデルを作成するのは非常に困難であると考えられる。肺容積はbFGF治療モデル [FGF (+) group] において、減少し正常化するのが認められた。

平均肺胞径（linear intercept）はエラスターゼの暴露部、投与量に比例し増大してくる。これらの変化は、エラスターゼによる肺胞隔壁の破壊に伴うものであり、組

織学的標本で確認できる。これら平均肺胞径増大や肺容積増大した所見が、bFGF治療モデルでは、改善をみとめ正常化してきている。しかし、今回我々の組織学的標本で一度壊れた肺胞の構造的、組織学的再生が起こっているとは考えにくかった。おそらく細胞間マトリックスにおいて、多くのグロースファクターや生理活性物質が複雑に相互作用し、細胞再生や分化誘導を引き起こしていると考えられるため、bFGF単剤において、細胞再生や肺胞隔壁を新しく作り出すのは困難である。しかしbFGFなどの生体内投与により、少なからず何らかの変化を生体内に引き起こすと考えており、そのようなグロースファクターの細胞や生体内にたいする影響や、作用をひとつひとつ解明していくことが、細胞を分化誘導し生体内で再生できうることにつながると考えている。ビーグル犬の気管について一軸伸長試験と側面圧縮試験を行った。人工気管を設計する際に重要な生体の気管の力学物性を明らかにした。

種々のステントを持つメッシュ型人工気管を作製し、側面圧縮試験を行った。メッシュ型人工気管を作製するとき、ステントの材質、断面形状、巻き方、単位長さ当たりのリング数が重要な指標となることを示した。また、これらの指標を調節することで適切な力学物性を備えたメッシュ型人工気管を作製することができた。

生体の気管の軟骨の形状を模して円周の一部にステントを巻かないメッシュ型人工気管を作製し、その臨床的な有用性について検討を行った。動物実験の結果、ステントを巻かない部分の組織の再生が不十分であることがわかった。気管組織の再生には足場となるメッシュの部分が固定されている必要があるということが示唆された。

われわれのグループではコラーゲンによる細胞外マトリックスをそなえた自己組織誘導型の人工気管の再建につき一定の成果をあげてきた。これまでに

①合成高分子による気管骨格の作成とコラーゲンの繊維化と3次元マトリックスの成型加工技術の確立

②大動物（ビーグル犬）での完全な自己組織化した気管の再建の成功

③頸部気管での臨床応用の成功

を達成し報告してきた。しかしながら、胸部人工気管の臨床応用に必要な要件として、比較的長く（短い欠損であれば直接の吻合が可能である。）、かつ全長にわたり血流が確実に保障されていることがあげられ、この点われわれの開発してきた従来の人工気管では不十分である。

気管再建に関してこれまで最長約6cmの欠損は直接に端々吻合が可能であるとされている。しかしながら、血流が乏しい臓器であり、また気道という外界に吻合部がさらされ、高い張力がかかることから長い欠損部気管再建では高い率で致命的な合併症吻合部の縫合不全が生じる危険性があった。このため、これまで種々の気管移植（同種移植）および人工気管が試みられてきた。

気管は比較的他臓器に比べて拒絶反応が比較的軽度であることから気管移植も考慮されているが、気管という臓器の特性として元来血流が乏しく、生着し内腔を保持

し続けることが困難である。また免疫抑制の必要性、さらにソースが絶対的に不足している等種々の制約もあげられる。人工物では、気管内腔という体外空間と接する場所にさらされることから常に局所の感染の問題が生じる。いまだに臨床的に有用なものは見られないのが現状である。

われわれのグループではコラーゲンなどの天然高分子材料を用いて3次元細胞外マトリックス材料を作成し、細胞外マトリックスという場における生体細胞群の再生経過や細胞外マトリックスの性状と組織再生能との関係を明らかにするとともに、自己組織を再生誘導するという独自の20年来の人工臓器研究の成果として頸部の人工気管の臨床的応用に成功している。さらに胸部の気管についても大動物実験では人工気管の完全自己組織化にも成功している。

E. 結 論

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引き起こした。

今回われわれは人工気管を腹腔内で作成の上胸腔内へ血流を維持したまま自己組織として移植する方法をこころみた。この手法で作成された人工気管は、実験動物において気管としての機能を発揮できることが示された。再建された気管は、全長・全周にわたり自己血流が確保され生着していることが示された。このことにより、臨床的に必要とされるより長い気管の置換が可能になると考察される。

F. 研究発表

《平成18年度》

1. 論文発表

- 1) Yamashita M, Omori K, Kanemaru S, Magruffov A, Tamura Y, Umeda H, Kishimoto M, Nakamura T, Ito J: Experimental regeneration of canine larynx: a trial with tissue engineering techniques. *Acta Otolaryngol* 557: 66-72, 2007
- 2) Yamashita M, Kanemaru S, Hirano S, Magruffov A, Tamaki H, Tamura Y, Kishimoto M, Omori K, Nakamura T, Ito J: Tracheal regeneration after partial resection: A tissue engineering approach. *Laryngoscope* 117 (3): 497-502, 2007
- 3) Nakashima S, Nakamura T, Miyagawa K, Yoshikawa T, Kin S, Kuriu Y, Nakase Y, Sakakura C, Otsuji E, Hagiwara A, Yamagishi H: In situ tissue engineering of the bile duct using polypropylene mesh-collagen tubes. *Int J Artif Organs* (in press)
- 4) Kobayashi K, Nomoto Y, Suzuki T, Tada Y, Miyake M, Hazama A, Kanemaru S, Nakamura T, Omori K: Effect of fibroblasts on tracheal epithelial regeneration in vitro. *Tissue Eng* 12 (9): 2619-2628, 2006
- 5) Nomoto Y, Suzuki T, Tada Y, Kobayashi K, Miyake M, Hazama A, Wada I, Kanemaru S, Nakamura T, Omori K: Tissue engineering for regeneration of the tracheal epithelium. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 115 (7): 501-506, 2006
- 6) Matsuno T, Nakamura T, Kuremoto K, Notazawa S, Nakahara T, Hashimoto Y, Satoh T, Shimizu Y: Development of β -tricalcium phosphate/ collagen sponge composite for bone regeneration. *Dental Materials Journal* 25: 138-144, 2006
- 7) Morino S, Toba T, Araki M, Azuma T, Tsutsumi S, Tao H, Nakamura T, Nagayasu T, Tagawa T: Noninvasive assessment of pulmonary emphysema using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Exp Lung Res* 32: 55-67, 2006
- 8) Nakase Y, Nakamura T, Kin S, Nakashima S, Yoshikawa T, Kuriu Y, Miyagawa K, Sakakura C, Otsuji E, Ikada Y, Yamagishi H, Hagiwara A: Endocrine cell and nerve regeneration in autologous *in situ* tissue-engineered small intestine. *J Surg Res* 137: 61-68, 2007
- 9) Nakase Y, Hagiwara A, Nakamura T, Kin S, Nakashima S, Yoshikawa T, Fukuda K, Kuriu Y, Miyagawa K, Sakakura C, Otsuji E, Shimizu Y, Ikada Y, Yamagishi H: Tissue engineering of small intestinal tissue using collagen sponge scaffolds seeded with smooth muscle cells. *Tissue Eng* 12: 403-412, 2006
- 10) Tao H, Araki M, Sato T, Morino S, Kawanami R, Yoshitani M, Nakamura T: Bronchoscopic treatment of postpneumonectomy bronchopleural fistula with a collagen screw plug. *J Thorac Cardiovasc Surg* 132: 99-104, 2006
- 11) Tanaka S, Takigawa T, Ichihara S, Nakamura T: Mechanical properties of the bioabsorbable polyglycolic acid-collagen nerve guide tube. *Polym Eng Sci* 46: 1461-1467, 2006
- 12) 大森孝一, 中村達雄, 多田靖宏, 野本幸男, 鈴木輝久, 小林 謙, 佐藤 聡, 金丸眞一, 安里 亮, 山下 勝: 気道の再生と臨床応用. *分子呼吸器病*10(3):216-219, 2006
- 13) 大森孝一, 中村達雄, 多田靖宏, 野本幸男, 鈴木輝久, 金丸眞一, 安里 亮, 山下 勝: 甲状腺癌治療における気道の再生医療. *再生医療* 5(4):545-549, 2006
- 14) 中村達雄: 末梢神経の再生. *治療*88: 3028-3032, 2006
- 15) 稲田有史, 中村達雄, 諸井慶七郎, 森本 茂: 神経因性疼痛ならびにCRPS (Complex regional pain syndrome) に対する生体内再生治療. 末梢神経 17:325-327, 2006
- 16) 萩原明於, 阪倉長平, 大辻英吾, 山岸久一, 中村達雄, 清水慶彦: 癌治療における神経再生の応用. *再生医療*5:99-103, 2006

- 17) 大森孝一, 多田靖宏, 松塚 崇, 野本幸男, 鈴木輝久, 中村達雄, 金丸眞一, 安里 亮, 山下 勝, 田中信三: 喉頭・気管狭窄の再生治療. 日本気管食道科学会会報 57(2):153-154, 2006
- 18) 森野茂行, 永安 武, 中村達雄: 肺気腫. 「細胞増殖因子と再生医療」松本邦夫, 田畑泰彦 (編集), メディカルレビュー社, 101-105, 2006
2. 学会発表
- 1) Omori K, Tada Y, Suzuki T, Nomoto Y, Nakamura T, Kanemaru S, Yamashita M, Asato R: Clinical application of in situ tissue engineering for the laryngeal and tracheal tissue. 127th American Laryngological Association (2006. 5. 19-20, Chicago)
- 2) Nomoto Y, Kobayashi K, Suzuki T, Tada Y, Miyake M, Omori K, Hazama A, Nakamura T: The effects of fibroblasts upon the epithelial regeneration on the surface of the artificial trachea. 86th The American Broncho- Esophagological Association (2006. 5. 19-20, Chicago)
- 3) Nakashima S, Nakamura T, Yoshikawa T, Kin S, Kuriu Y, Nakase Y, Sakakura C, Otsuji E, Hagiwara A, Yamagishi H: Tissue engineering of the common bile duct using mesh-collagen hybrid scaffolds. American Society for Artificial Internal Organs, 52nd Annual Conference (2006. 6. 8-10, Chicago)
- 4) Nakase Y, Hagiwara A, Nakamura T, Nakashima S, Ikada Y, Yamagishi H: Morphologic evaluation of autologous in situ tissue-engineered small intestine. American Society for Artificial Internal Organs, 52nd Annual Conference (2006. 6. 8-10, Chicago)
- 5) Araki M, Tao H, Sato T, Nakajima N, Sugai H, Nagayasu T, Nakamura T: Experimental study on in situ tissue engineering of stomach using new collagen sponge scaffold coated with biodegradable copolymers. American Society for Artificial Internal Organs, 52nd Annual Conference (2006. 6. 8-10, Chicago)
- 6) Inada Y, Nakamura T, Toba Y, Morimoto S, Yamashita S, Takakura Y, Inada M: In-situ tissue engineering for the treatment of peripheral nerve injuries with a Polyglycolic acid-Collagen tube in Japan. 44th Annual Meeting of the Italian Society for Surgery of the Hand (2006. 10. 13, Milano)
- 7) Kanemaru S, Yamashita M, Umeda H, Ohno T, Suehiro A, Hirano S, Omori K, Nakamura T, Ito J: The destiny and the behavior of the autologous bone marrow derived stromal cells implanted into the vocal fold. 2nd Modern Drug Discovery and Development Summit (2006. 12. 4-6, Philadelphia)
- 8) Kanemaru S, Yamashita M, Magruffov A, Umeda H, Tamura T, Omori K, Nakamura T, Ito J: Tissue engineered regeneration of recurrent laryngeal nerve by two types of artificial nerve conduits. 127th American Laryngological Association (2006. 5. 19-20, Chicago)
- 9) 野本幸男, 鈴木輝久, 多田靖宏, 小林 謙, 三宅将生, 挾間章博, 中村達雄, 大森孝一: 上皮細胞層を有するハイブリッド型人工気管の作製. 第107回日本耳鼻咽喉科学会総会 (2006.5.11-13, 東京)
- 10) 野本幸男, 鈴木輝久, 多田靖宏, 小林 謙, 三宅将生, 挾間章博, 和田郁夫, 中村達雄, 金丸眞一, 大森孝一: 上皮細胞層を有するハイブリッド人工気管作製の試み. 第27回日本炎症・再生医学会 (2006.7.11-12, 東京)
- 11) 野本幸男, 小林 謙, 多田靖宏, 佐藤 聡, 岡野 渉, 和田郁夫, 中村達雄, 大森孝一: 線維芽細胞を組み合わせたハイブリッド人工気管作製の試み. 第9回日本組織工学会 (2006.9.7-8, 京都)
- 12) 野本幸男, 小林 謙, 多田靖宏, 鈴木輝久, 佐藤 聡, 和田郁夫, 金丸眞一, 中村達雄, 大森孝一: 気管由来線維芽細胞を含有したハイブリッド人工気管モデル. 第58回日本気管食道科学会 (2006.10.5-6, 札幌)
- 13) 鈴木輝久, 野本幸男, 多田靖宏, 小林 謙, 佐藤 聡, 小川 洋, 三宅将生, 挾間章博, 中村達雄, 金丸眞一, 田畑泰彦, 大森孝一: ラット気管上皮・上皮下層の組織再生の試み. 第18回日本喉頭科学会 (2006.4.13-14, 熊本)
- 14) 荒木政人, 田尾裕之, 佐藤寿彦, 中島直喜, 須賀井一, 永安 武, 中村達雄: コラーゲンスポンジと吸収性ポリマーを用いた *in situ* Tissue Engineering による胃壁再生への取り組み. 第27回日本炎症・再生医学会 (2006.7.11-12, 東京)
- 15) 荒木政人, 田尾裕之, 佐藤寿彦, 中島直喜, 須賀井一, 玄 丞然, 永安 武, 中村達雄: 新しい生体内分解性合成接着剤を用いた肺瘻閉鎖の研究. 第59回日本胸部外科学会定期学術集会 (2006. 10. 1-4, 東京)
- 16) 稲田有史, 中村達雄, 諸井慶七郎, 古家 仁, 高倉義典: 末梢神経生体内再生治療: 臨床応用の現状. 第21回日本整形外科学会基礎学術集会 (2006.10.19, 長崎)
- 17) 稲田有史, 中村達雄, 諸井慶七郎, 川西弘一, 橋爪圭司, 古家 仁, 小島康宣, 重松浩司, 河村健二, 矢島弘詞, 高倉義典, 面川庄平: 神経因性疼痛ならびに CRPS (Complex regional pain syndrome) に対する生体内再生治療の成績. 第33回日本マイクロサージャリー学会学術集会 (2006.10.27, 奈良)
- 18) 市原理司, 中村達雄, 稲田有史, 遠藤克昭, 藤川孝満, 福田正順, 糸井眞一, 中田 顕, 種谷 出, 瀧川敏算, 黒澤 尚: 距離のある神経欠損に対する神経チューブの開発. 第27回日本炎症・再生医学会 (2006.7.11-12, 東京)
- 19) 上田寛樹, 福田正順, 山本雅哉, 中村達雄,

- 田畑泰彦：熱脱水架橋コラーゲンスポンジとトランスフォーミング増殖因子 $\beta 1$ との相互作用. 第9回日本組織工学会 (2006.9.8, 京都)
- 20) 岡本英之, 細井裕司, 稲田有史, 金丸眞一, 中村達雄：人工神経 (PGA-collagen tube) を用いて顔面神経再建術を施行した耳前部悪性腫瘍の1例. 第29回日本顔面神経研究会 (2006.6.1-2, 新潟)
- 21) 田尾裕之, 中村達雄：ブレオマイシン肺線維症モデルラットに対する, 自己骨髄培養細胞経気道投与の効果. 第27回日本炎症・再生医学会 (2006.7.11-12, 東京)
- 22) 中井隆介, 東 高志, 福田正順, 中村達雄, 浦山慎一, 岸上義弘, 丸山克也, 瀧澤 修, 福山秀直, 堤 定美：Diffusion Tensor MRI を用いたイヌの脊髄損傷モデルにおける脊髄修復過程の画像化. 第34回日本磁気共鳴医学会大会 (2006.9.14-6, つくば)
- 23) 中島 晋, 中村達雄, 吉川徹二, 金 修一, 中瀬有遠, 阪倉長平, 大辻英吾, 萩原明於, 山岸久一：コラーゲンスポンジを用いた新しい人工胆管作成の試み. 第27回日本炎症・再生医学会 (2006.7.11-12, 東京)
- 24) 中島 晋, 中村達雄, 吉川徹二, 金 修一, 栗生宜明, 中瀬有遠, 阪倉長平, 大辻英吾, 萩原明於, 山岸久一：コラーゲンスポンジ及びポリ乳酸メッシュを用いた人工胆管作成の試み. 第61回日本消化器外科学会定期学術総会 (2006.7.13-15, 横浜)
- 25) 中島 晋, 中村達雄, 吉川徹二, 宮川公治, 阪倉長平, 大辻英吾, 萩原明於, 山岸久一：Collagen Sponge-Mesh tube による胆道再建の試み. 第65回日本癌学会学術総会 (2006.9.28-30, 横浜)
- 26) 中島 晋, 中村達雄, 吉川徹二, 宮川公治, 阪倉長平, 大辻英吾, 萩原明於, 山岸久一：Collagen Sponge-Mesh tube による胆道再建の試み. 第44回日本癌治療学会総会学術集会 (2006.10.18-20, 東京)
- 27) 中島 晋, 中村達雄, 吉川徹二, 宮川公治, 阪倉長平, 大辻英吾, 萩原明於, 山岸久一：Polypropylene Mesh-Collagen Tube による総胆管再生の試み. 第68回日本臨床外科学会 (2006.11.9-11, 広島)
- 28) 中村達雄：*in situ* Tissue Engineering とその臨床応用. 第15回日本形成外科学会基礎学術集会 (2006.10.12-13, 埼玉)
- 29) 中村達雄：末梢神経損傷と再生医学の臨床応用. 第10回京都内科神経懇話会 (2006.9.2, 京都)
- 30) 中村達雄：末梢神経の再生 人工神経の基礎と臨床応用. 第9回 Sensory Rehabilitation セミナー (2006.9.23-24, 愛知)
- 31) 中村達雄：*in situ* Tissue Engineering とその臨床応用. 第3回癌治療への再生医療応用研究会 (2006.10.19, 東京)
- 32) 中村達雄, 佐藤寿彦, 市原理司, 小林丈士, 中田 顕, 荒木政人, 田尾裕之, 上田寛樹, 遠藤克昭, 東 高志, 稲田有史, 早川克己：組織再生型人工気管の6年間長期観察. 第27回日本炎症・再生医学会 (2006.7.11-12, 東京)
- 33) 福田正順, 中村達雄, 岸上義弘, 東 高志, 遠藤克昭, 早川克己, 市原理司, 西尾健資, 藤川孝満, 堤 定美：脊髄損傷に対する有茎大網被覆治療の有効性. 第27回日本炎症・再生医学会 (2006.7.11-12, 東京)
- 34) 金丸眞一, 山下 勝, 梅田裕生, 田村芳寛, 大野恒久, 大森孝一, 平野 滋, 中村達雄, 伊藤壽一：声帯再生を目的に移植された自己骨髄由来間葉系細胞の生体内動態の検討. 第27回日本炎症・再生医学会 (2006.7.11-12, 東京)
- 35) 金丸眞一, 中村達雄, 山下 勝, 平野 滋, 田村芳寛, 梅田裕生, 大野恒久, 大森孝一, 伊藤壽一：自己骨髄由来間葉系細胞移植による声帯の再生. 第9回日本組織工学会 (2006.9.7-8, 京都)
- 36) 山下 勝, 金丸眞一, 梅田裕生, 田村芳寛, 大森孝一, 中村達雄, 伊藤壽一：気管部分切除モデルに対する組織工学的再生. 第27回日本炎症・再生医学会 (2006.7.11-12, 東京)
- 37) 山下 勝, 金丸眞一, 平野 滋, 田村芳寛, 梅田裕生, 大森孝一, 中村達雄, 伊藤壽一：コラーゲン被覆ポリプロピレンメッシュと大腿筋膜を用いたイヌ声門の再生. 第9回日本組織工学会 (2006.9.7-8, 京都)
- 38) Omori K, Nakamura T, Tada Y, Suzuki T, Nomoto Y, Kobayashi K, Kanemaru S, Yamashita M, Asato R：〔シンポジウム〕 Regenerative medicine of the trachea and larynx by in situ tissue engineering. 第23回日本呼吸器外科学会 (2006.5.25-27, 東京)
- 39) 鈴木輝久, 小林 謙, 多田靖宏, 金丸眞一, 中村達雄, 大森孝一：〔ワークショップ〕 気管上皮層の効果的再生. 第58回日本気管食道科学会 (2006.10.5-6, 札幌)
- 40) 多田靖宏, 野本幸男, 鈴木輝久, 金丸眞一, 中村達雄, 安里 亮, 山下 勝, 大森孝一：〔ワークショップ〕 組織工学的手法を用いた気道再生の臨床応用. 第58回日本気管食道科学会 (2006.10.5-6, 札幌)

《平成17年度》

1. 論文発表

- 1) Omori K, Nakamura T, Kanemaru S, Asato R, Yamashita M, Tanaka S, Magrufov A, Ito J, Shimizu Y: Regenerative medicine of the trachea: The first human case. Ann Otol Rhinol Laryngol 114 (6): 429-433, 2005
- 2) Kanemaru S, Nakamura T, Omori K, Magrufov A,

- Yamashita M, Ito J: Regeneration of mastoid air cells in clinical applications by in situ tissue engineering. *Laryngoscope* 115 (2): 253-258, 2005
- 3) Kanemaru S, Nakamura T, Yamashita M, Magruffov A, Kita T, Tamaki H, Tamura Y, Iguchi F, Kim TS, Kishimoto M, Omori K, Ito J: Destiny of autologous bone marrow-derived stromal cells implanted in the vocal fold. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 114 (12), 907-912, 2005
 - 4) Morino S, Nakamura T, Toba T, Takahashi M, Kushibiki T, Tabata Y, Simizu Y: Fibroblast growth factor-2 induces recovery of pulmonary blood flow in canine emphysema models *Laboratory and Animal Investigations* 128: 920-926, 2005
 - 5) Inada Y, Morimoto S, Moroi K, Endo K, Nakamura T: Surgical relief of causalgia with an artificial nerve guide tube: Successful surgical treatment of causalgia (Complex Regional Pain Syndrome Type II) by in situ tissue engineering with a polyglycolic acid-collagen tube. *Pain* 117: 251-258, 2005
 - 6) Fukuda S, Nakamura T, Kishigami Y, Endo K, Azuma T, Fujikawa T, Tsutsumi S, Shimizu Y: New canine spinal cord injury model free from laminectomy. *Brain Research Protocols* 14: 171-180, 2005
 - 7) Lynn AK, Nakamura T, Patel N, Porter AE, Renouf AC, Laity PR, Best SM, Cameron RE, Shimizu Y, Bonfield W: Composition-controlled nanocomposites of apatite and collagen incorporating silicon as an osseopromotive agent. *J Biomed Mater Res* 74A: 447-453, 2005
 - 8) 大森孝一, 中村達雄, 金丸眞一, 安里 亮, 山下 勝, 清水慶彦: [肺病変の修復・再生へのアプローチ] 組織工学からみた臓器再生-気管・気管支の再生治療-. *日本臨床麻酔学会誌*, 25(3):310-315, 2005
 - 9) 中村達雄: 〈特集 肺の再生医療-現状と展望〉気道の再生. *呼吸と循環* 53(2):119-125, 2005
 - 10) 森野茂行, 鳥羽紀成, 高橋 充, 永安 武, 中村達雄: 〈特集 肺の再生医療-現状と展望〉肺気腫のグロースファクターによる治療. *呼吸と循環*, 53(2):141-147, 2005
 - 11) 高橋 充, 加藤治文, 中村達雄, 清水慶彦: 〈特集 肺の再生医療-現状と展望〉EPCによる肺高血圧の治療. *呼吸と循環* 53(2):159-165, 2005
 - 12) 野田澤俊介, 中村達雄, 清水慶彦, 瀧川敏算: メッシュ型人工気管の力学特性. *材料* 54(1):85-89, 2005
 - 13) 稲田有史, 中村達雄, 森本 茂, 飯田秀之, 古家 仁, 諸井慶七郎: 人工神経移植術を用いた末梢神経生体内再建法, 「PEPARS 末梢神経再建-up date -」光嶋 勲 (編集), (株)全日本病院出版会, 3:12-17, 2005
 - 14) 中原 貴, 中村達雄, 小林英三郎, 呉本晃一, 松野智宣, 田畑泰彦, 江藤一洋, 清水慶彦: 歯根膜由来細胞播種による歯周組織のIn situ ティッシュ・エンジニアリング, *歯科臨床研究* 2:28-34, 2005
 - 15) 中村達雄, 茂野啓示: 確立した再生医療の基本コンセプト. 「新・一から学ぶ歯周外科の手技」茂野啓示 (著), 医歯薬出版, 356-361, 2005
 - 16) 稲田有史, 中村達雄: 末梢神経損傷に対する生体内再生治療-Polyglycolic Acid-Collagen Tube によるCRPS Type IIの外科的治療-. 「痛み治療のアプローチ」小川節郎 (編集), 真興交易(株)医書出版部, 94-112, 2005
- ## 2. 学会発表
- 1) Nakamura T, Fukuda S, Nakada A, Kobayashi T, Itoi S, Inada Y, Endo K, Shigeno K, Kanemaru S, Tao H, Kin S, Nakase Y: Peripheral nerve regeneration on an artificial nerve (Biodegradable nerve guide tube). American Society for Artificial Internal Organs, 51th Annual Conference (2005. 6. 9-11, Washington, DC)
 - 2) Tao H, Nakamura T, Morino S: Bronchoscopic treatment of postoperative bronchopleural fistulas using collagen sponge spigots. American Society for Artificial Internal Organs, 51th Annual Conference (2005. 6. 9-11, Washington, DC)
 - 3) Nakada A, Fukuda S, Kobayashi T, Ueda H, Tao H, Nakamura T: De- and re-differentiation of the progenitor cells to the neurons. American Society for Artificial Internal Organs, 51th Annual Conference (2005. 6. 9-11, Washington, DC)
 - 4) Omori K, Nakamura T, Kanemaru S, Magruffov A, Yamashita M: In situ tissue engineering of the cricoid and trachea in canine model. The American Broncho-Esophagological Association (85th Annual Meeting)(2005. 5. 13-14, Boca Raton, Florida)
 - 5) 中村達雄: 感覚器再生と組織工学. 第27回日本バイオマテリアル学会大会 (2005.11.28-29, 京都)
 - 6) 中村達雄, 稲田有史, 茂野啓示, 早川克己, 堀 義生, 遠藤克昭, 福田正順, 田尾裕之, 荒木政人, 佐藤寿彦, 中田 顕, 上田寛樹, 糸井真一, 市原理司: 再生医療の臨床とバイオマテリアル. 第27回日本バイオマテリアル学会大会 (2005.11.28-29, 京都)
 - 7) 上田寛樹, 中村達雄, 福田正順, 田畑泰彦: 骨組織再生に用いるコラーゲンスポンジのポアサイズの影響. 第27回日本バイオマテリアル学会大会 (2005.11.28-29, 京都)
 - 8) 大森孝一, 中村達雄, 多田靖宏, 松塚 崇, 金丸眞一, 山下 勝, 安里 亮, 田中信三: 〈ワークショップ〉気管狭窄への対応「喉頭・気管狭窄の再生治療」. 第57回日本気管食道科学会 (2005.11.17-18, 京都)
 - 9) 野本幸男, 鈴木輝久, 多田靖宏, 三宅将生, 挾間章博, 小林 謙, 中村達雄, 大森孝一: 気管

- 上皮細胞層を有するハイブリッド人工材料の作製. 第57回日本気管食道科学会 (2005.11.17-18, 京都)
- 10) 鈴木輝久, 野本幸男, 多田靖宏, 三宅将生, 挾間章博, 小林 謙, 中村達雄, 金丸眞一, 大森孝一: ラット気管損傷モデルへの気管上皮細胞層を有する人工気管移植の試み. 第57回日本気管食道科学会 (2005.11.17-18, 京都)
- 11) 森野茂行, 鳥羽紀成, 田尾裕之, 荒木政人, 永安 武, 高橋 充, 宮崎拓郎, 松本桂太郎, 山崎直哉, 中村昭博, 田川 努, 中村達雄: 肺気腫に対する Growth Factor を使用した呼吸機能再生. 第58回日本胸部外科学会定期学術集会 (2005.10.5-7, 岡山)
- 12) 田村芳寛, 金丸眞一, 山下 勝, 玉木久信, 安里 亮, 岸本正直, 大森孝一, 松野智宣, 中村達雄, 伊藤壽一: 組織再生工学的的手法による上顎 (口蓋) の骨再生. 第8回日本組織工学会 (2005.9.1-2, 東京)
- 13) 山下 勝, 金丸眞一, 大森孝一, 玉木久信, 田村芳寛, 岸本正直, 中村達雄, 伊藤壽一: 犬気管部分欠損モデルにおける組織工学的再生の試み. 第8回日本組織工学会 (2005.9.1-2, 東京)
- 14) 野本幸男, 鈴木輝久, 多田靖宏, 三宅将生, 挾間章博, 小林 謙, 中村達雄, 金丸眞一, 大森孝一: 気管上皮細胞層を有する人工気管作製の試み. 第8回日本組織工学会 (2005.9.1-2, 東京)
- 15) 鈴木輝久, 野本幸男, 多田靖宏, 三宅将生, 挾間章博, 小林 謙, 中村達雄, 金丸眞一, 大森孝一: 気管上皮細胞層を有する人工気管移植の試み. 第8回日本組織工学会 (2005.9.1-2, 東京)
- 16) 鈴木輝久, 野本幸男, 多田靖宏, 三宅将生, 挾間章博, 金丸眞一, 中村達雄, 大森孝一: ラット気管損傷モデルへラット気管上皮細胞組織の移植. 第26回日本炎症・再生医学会 (2005.7.12-13, 東京)
- 17) 野本幸男, 鈴木輝久, 多田靖宏, 三宅将生, 挾間章博, 中村達雄, 金丸眞一, 大森孝一: 気管上皮細胞組織による人工気管表面の被覆の試み. 第26回日本炎症・再生医学会 (2005.7.12-13, 東京)
- 18) 中村達雄, 早川克己, 茂野啓示, 稲田有史, 堀 義生: *In situ* tissue engineering と医用材料. 第26回日本炎症・再生医学会 (2005.7.12-13, 東京)
- 19) 中村達雄, 萩原明於, 稲田有史, 金丸眞一, 糸井真一, 遠藤克昭, 茂野啓示, 吉谷 信, 中田 顕, 福田正順: *In situ* tissue engineering と末梢神経の再生医療の現状. 第26回日本炎症・再生医学会 (2005.7.12-13, 東京)
- 20) 田尾裕之, 中村達雄, 森野茂行, 福田正順, 中田 顕, 市原理司: ラット肺実質への自己骨髄培養細胞移植. 第26回日本炎症・再生医学会 (2005.7.12-13, 東京)
- 21) 森野茂行, 鳥羽紀成, 高橋 充, 永安 武, 橋爪 聡, 松本桂太郎, 櫛引俊宏, 田畑泰彦, 荒木政人, 田尾裕之, 中村達雄: 肺気腫に対する FGF-2 の経気道的投与による呼吸機能再生に関する検討. 第26回日本炎症・再生医学会 (2005.7.12-13, 東京)
- 22) 高橋 充, 木村雅一, 鳥羽紀成, 森野茂行, 梶原直央, 内田 修, 宮島邦治, 長東美貴, 鈴木明彦, 松野智宣, 佐藤田鶴子, 中村達雄, 加藤治文: 呼吸器外科領域に関する再生医工学の応用. 第30回日本外科系連合学会学術集会 (2005.6.24-25 東京)
- 23) 大森孝一, 中村達雄, 多田靖宏, 野本幸男, 鈴木輝久, 金丸眞一, 山下 勝, 安里 亮: 〈シンポジウム〉頭頸部癌治療における再生医療「気道の再生医療」. 第29回日本頭頸部癌学会 (2005.6.16-17 東京)
- 24) 森野茂行, 鳥羽紀成, 永安 武, 高橋 充, 國崎真己, 松本桂太郎, 中村昭博, 田川 努, 東 高志, 堤 定美, 田尾裕之, 中村達雄: 塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) を用いた肺機能再生に関する検討. 第28回日本呼吸器内視鏡学会総会 (2005.6.9-10, 東京)
- 25) 山下 勝, 金丸眞一, 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 (2005.3.18-19, 名古屋)
- 26) 中村達雄: 再生医学の臨床応用. 城東区医師会学術講演会 (2005.12.20, 大阪)
- 27) 中村達雄: *In situ* tissue engineering とその臨床応用. 医工学フォーラム-2004年度特別学術講演会- (2005.2.23, 京都)
- 28) 中村達雄: 神経の再生と再生医療. 第2回香川泌尿器疾患フォーラム (2005.2.15, 高松)
- 《平成16年度》
1. 論文発表
- 1) Omori K, Nakamura T, Kanemaru S, Kojima H, Magrufov 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) 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
- 3) 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

- 4) 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
 - 5) Nakamura T: Regenerative medicine for respiratory diseases. *JMA* 47 (7): 333-337, 2004
 - 6) 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
 - 7) 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): 771-7, 2004
 - 8) 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
 - 9) 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 Eng* 10 (3/4): 537-544, 2004
 - 10) 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
 - 11) 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
 - 12) 大森孝一，中村達雄，金丸眞一，Magruffov 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。日本気管食道学会会報 55(2):145-152, 2004
 - 13) 金丸眞一，中村達雄，Akhmar Magruffov，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
 - 14) 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
 - 15) 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
 - 16) 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, Magruffov A, Shimizu Y: Regenerative medicine of the tracheal tissue. 2004 COSM; American Laryngological Association (2004. 4. 30-5. 1, Phoenix)
 - 2) Kanemaru S, Nakamura T, Magruffov 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 (2004. 4. 30-5. 1, Phoenix)
 - 3) Yamashita M, Kanemaru S, Magruffov A, Omori K, Nakamura T, Ito J: In vivo trial for the regeneration of mastoid mucosa. The Triological Society (107th Annual Meeting) (2004. 4. 30-5. 3, Phoenix)
 - 4) 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. (2004. 6. 24, Hague)
 - 5) Kanemaru S, Nakamura T, Yamashita M, Magruffov 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) (2004. 10. 13, Lausanne)
 - 6) Omori K, Nakamura T, Kanemaru S, Magruffov 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 (2004. 12. 4, Kyoto)
 - 7) 大森孝一，中村達雄，金丸眞一，Magruffov 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 (2004.10.27-29, 京都)
 - 8) 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* による乳突蜂巢の再生。第105回日本耳鼻咽喉科学会総会 (2004.5.13-15, 広島)
 - 9) 安里 亮，金丸眞一，Magruffov 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。

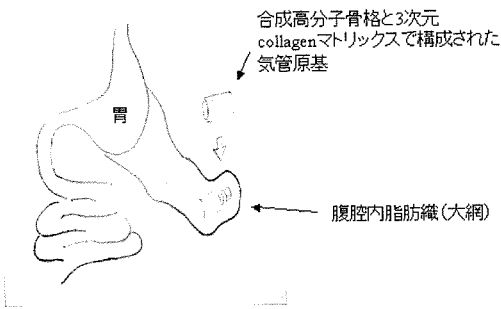
- 第105回日本耳鼻咽喉科学会総会（2004.5.13-15, 広島）
- 10) 平海晴一, 金丸眞一, 藤野清大, 山下 勝, マグルフ アフマル, 大森孝一, 中村達雄, 内藤 泰, 伊藤壽一：乳突蜂巢再生の臨床応用. 第105回日本耳鼻咽喉科学会総会（2004.5.13-15, 広島）
- 11) 山下 勝, 金丸眞一, 中村達雄, マグルフ アフマル, 藤野清大, 田村芳寛, 大森孝一, 清水慶彦, 伊藤壽一：組織工学的手法による乳突蜂巢再生の試み. 第105回日本耳鼻咽喉科学会総会（2004.5.13-15, 広島）
- 12) 藤野清大, 金丸眞一, マグルフ アフマル, 山下 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（2004.5.13-15, 広島）
- 13) 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（2004.5.13-15, 広島）
- 14) 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（2004.5.13-15, 広島）
- 15) 田村芳寛, 金丸眞一, 山下 勝, Magrufov Akhma 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（2004.7.1-2, 東京）
- 16) 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（2004.7.1-2, 東京）
- 17) 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（2004.7.1-2, 東京）
- 18) 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巢再生の試み. 第25回日本炎症・再生医学会（2004.7.13-14, 東京）
- 19) 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－乳突蜂巢再生の臨床応用－. 第25回日本炎症・再生医学会（2004.7.13-14, 東京）
- 20) 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, 東京）
- 21) 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, 東京）

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

付図1 腹腔内での自己組織化



付図2 胸腔内への移植

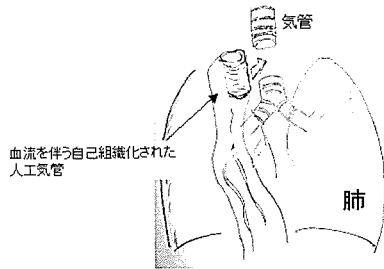


図 2

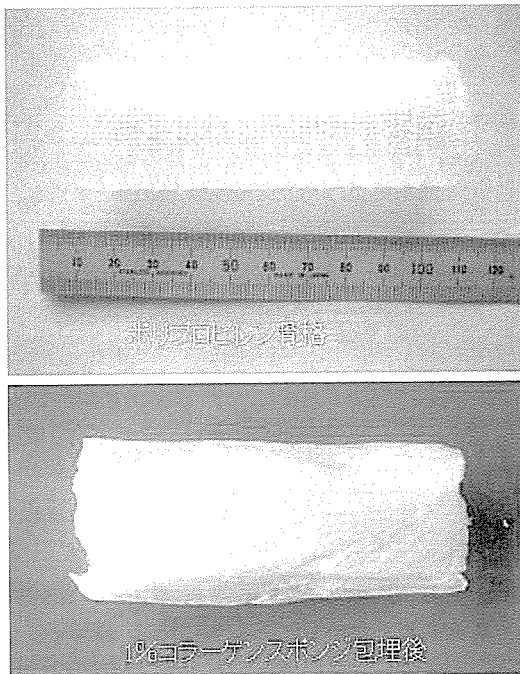


図 3

Figure 1

Three dimensional MRI in the pulmonary vascular

(A) Control (B) 軽度肺気腫モデル (C) 重症肺気腫モデル

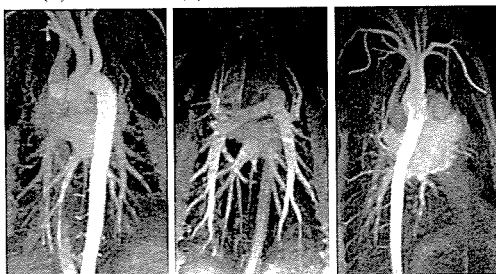


図 4

Figure 3

Signal intensity curve during 60 seconds

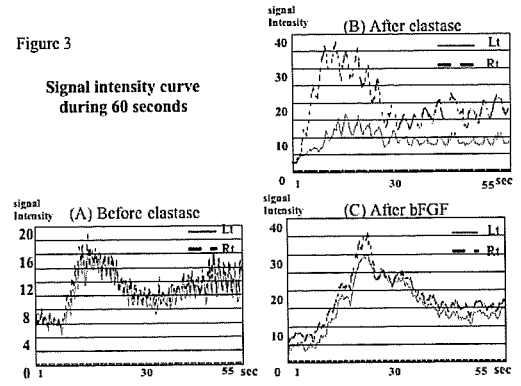


図 5

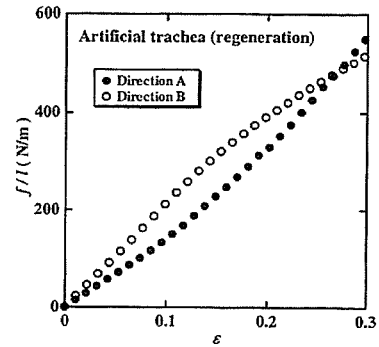
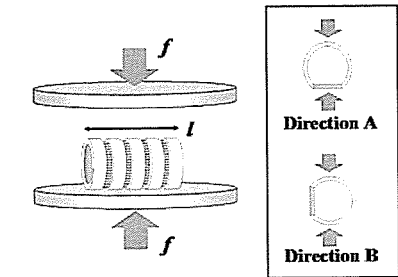


図 6

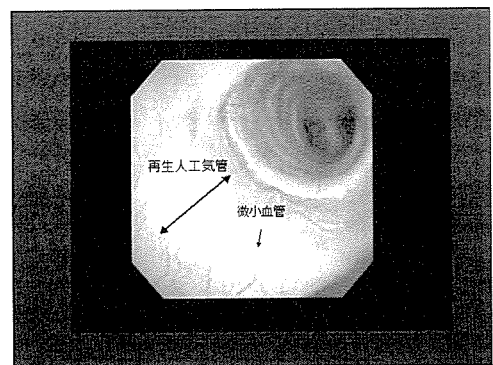


図 7



図 8

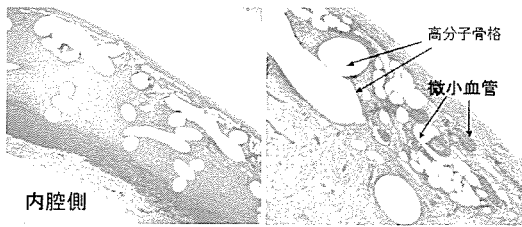
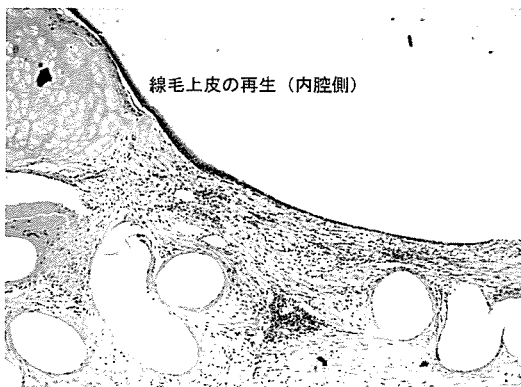


図 9



- I. 総合研究報告
- II. 分担研究報告
- 1. 基礎研究

気道再生シートの機能評価

分担研究者 挾間 章博（福島県立医科大学生理学第一）

研究協力者 三宅 将生（福島県立医科大学生理学第一）

研究要旨

本グループは、3年間にわたる研究において、培養気道細胞シートの作製技術の確立、得られた細胞シートの機能指標としての細胞膜輸送タンパク（イオンチャネル、水チャネル）の同定、さらに、得られた細胞シートを障害性細胞死のから保護するための方法の確立を行った。培養細胞シートの作製技術の確立においては、実験動物（モルモット、ラット）からの細胞分離条件を決め、3次元培養法を確立した。細胞膜輸送体の同定については、免疫組織化学的手法と RT-PCR 法を用いてアクアポリン（AQP3, AQP4, AQP5）、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 、上皮性ナトリウムチャネル（ENaC- $\alpha \cdot \beta \cdot \gamma$ サブユニット）の発現を解析した結果、気道培養上皮と生体内における気道上皮との構造的・機能的な類似性が明らかになった。さらに、細胞保護法においては、細胞外塩素イオンの流入が細胞障害に関与することが明らかになり、その流入をイオンチャネル阻害剤で防ぐことで細胞障害が低減することが明らかとなった。

A. 研究目的

気道再生技術をより高めるには、従来より正常組織に近い培養気道細胞のシートの作成が必須であり、そのためには、気道組織より単離した上皮細胞と線維芽細胞を組み合わせた3次元培養技術の開発が必要である。また、形態的に完成した細胞シートが生体に近い機能を持っているかどうかの評価方法を確立する必要がある。また、作製した細胞シートを生体に生着させるために、細胞障害による細胞死を軽減させる技術の開発も必要である。

3年間の研究で、①気道組織より単離した細胞を用いた細胞シート作製技術の確立、②確立した細胞シートの機能評価方法の確立、③細胞シート保護法の確立、を目的とした。初年度（平成16年度）については、①、次年度（平成17年度）については②、最終年度（平成18年度）については③の研究を中心に実施した。以下、方法・結果については年度別に示す。

B. 研究方法

1. 細胞シート作製技術の開発

ラット及びモルモットより気管を摘出後、種々のタンパク分解酵素により組織消化を行い気道上皮を単離するのに最適な酵素を選んだ。また、酵素反応時間、温度条件も検討し、最適な条件を決定した。単離した上皮細胞をプラスチック培養皿上、あるいは、コラーゲンゲル上に培養した。

2. 細胞シートの機能評価方法の確立

作製した細胞シートに対して、RT-PCR法と免疫染色法を用いて、気道上皮細胞機能に関与する膜タンパクで

あるアクアポリン（AQP4, AQP5）、上皮型 Na チャネル（ENaC）の発現を確認した。

RT-PCR 法：

シート状に培養された細胞を数 mg 採取し、500 μl の PBS (pH7.4) 中でホモジナイズした後、RNeasy mini kit (QIAGEN) を用いて mRNA を抽出した。実際の方法は kit 添付のプロトコールに従って行った。抽出された mRNA は Onestep PCR kit (QIAGEN) と Mini cycler (MJ research) を用いて RT-PCR を行った。簡単に方法を記載すると、mRNA と各遺伝子のプライマーを酵素反応液 10 μl に入れ、50℃ で 30 分逆転写を行った。その後 95℃ で 15 分間保持し、逆転写酵素の失活と Taq 酵素の活性化を行った。さらに 95℃ 30 秒、57℃ 30 秒、72℃ 1 分の反応サイクルを 40 回行い、DNA を増幅した。増幅産物は 3.5% アガロース電気泳動で分離し、エチジウムブロマイドで染色して画像取得した。

免疫染色法：

ラット気管組織を採取し、4% パラホルムアルデヒド水溶液にて浸漬固定した。標本はエタノール脱水後、キシレンを通し、パラフィン包埋した。5 μm 厚の切片を作成し、各一次抗体と 4℃ で overnight 反応させ、さらに HRP 標識またはビオチン標識された二次抗体と反応させた。次に蛍光発色の場合はフルオレセイン標識ストレプトアビジンを反応させ、核染色をヨウ化プロピジウムで行った。酵素発色の場合は Tris/DAB (0.2mg/ml) / 0.03% H_2O_2 溶液を反応させ対比染色はヘマトキシリンを用いた。染色後、蛍光発色の場合は vectorshield を用いて封入し、酵素発色の場合はエタノール系列、キシレンを通して封入してそれぞれ検鏡した。

3. 細胞シート保護法の確立

種々の細胞において、細胞外イオン環境が細胞の生死に関わることが明らかになりつつある。とくに、塩素イオンとアポトーシスの関係が注目され、低塩素イオン濃度条件がアポトーシスを抑制することが報告されている。平成16年-17年度の本助成研究において確立した培養上皮組織を移植に用いる際に、細胞死を防ぐような手段を講ずることにより、組織を生着率を向上させることが出来ることが予想される。そのような条件を効率良く見出すために、培養上皮細胞株である HeLa 細胞を用いて、細胞保護因子の検討を行った。具体的には、細胞外液に通常条件では細胞膜を通過しない蛍光色素 (propidium iodide:PI) を加えておき、さらに細胞に膜透過亢進させ細胞障害をもたらす薬物 (amphotericin B) を細胞外液に加える。この条件で、倒立蛍光顕微鏡にて経時的に観察を行うと、細胞が障害を受け細胞膜の透過性が亢進すると蛍光色素が細胞内に流入し、核 DNA と結合すると蛍光を発するのが観察できる。細胞死を防ぐような薬物を同時投与して、障害を受けた細胞数を蛍光を用いて定量することにより、細胞死を防ぐ条件を見つけることができる。

C. 研究結果

気道上皮を単離するのに最適な酵素は、protease type 14 (SIGMA) であり、この酵素を 1 mg/ml 含んだ PBS 溶液に気管を静置すると (4℃、10時間) 再現性良く上皮細胞が得られることが明らかになった。

上記の方法により得られた細胞には、線毛上皮細胞と非線毛上皮細胞が観察されたが、活発に増殖の認められたのは非線毛上皮細胞であった。この非線毛上皮細胞は、コンフルエントになるまで増殖し、その後、数週間維持できた。念のため、上皮細胞のマーカー蛋白である cytokeratin-14 に対する抗体を用いて免疫染色を行い、培養に成功した細胞が上皮細胞であることを確認した。細胞分化については、この培養条件では、未分化の非線毛上皮細胞が増殖していると考えられ、数週間の培養では、線毛上皮の形成は認められなかった。

RT-PCR:ENaC-alpha, ENaC-gamma については予期された位置にバンドが見られ、発現を確認することができた。しかし、ENaC-beta に関しては正しい位置に確認することができなかった。AQP4, AQP5 は予想通りの位置に発現を確認することができた。

免疫染色：アクアポリンを免疫染色した結果、AQP3 は基底側の細胞の細胞膜に、AQP4 は表層側の細胞の粗基底側膜に、AQP5 は基底側の細胞に見られた。Na⁺-K⁺-ATPase は、基底細胞や杯細胞などの基底側膜で染色が見られた。PCNA は基底層の細胞のみで強い染色がみられた。

これまでアポトーシスを防ぐことが知られている低塩素イオン濃度条件で、研究方法に示した細胞障害の実験を行った。コントロール条件 (細胞外 NaCl 溶液) においては、amphotericin B 投与により、約 1 時間で、殆ど

の細胞に蛍光色素の流入が認められ、細胞が障害を受けたことが明らかとなった。塩素イオンの代わりに分子量の大きい有機陰イオンであるグルコン酸を用いた溶液で細胞障害刺激を行うと、蛍光色素の細胞内へ流入が遅延し細胞死が抑制できることが明らかとなった (図参照)。ヨウ素イオン、臭素イオンにより塩素イオンを置換した場合は、コントロール溶液と同様の細胞障害が起こることがわかった。したがって、ハロゲンイオンの細胞内流入が細胞障害に関わることが予想された。また、塩素イオンチャネル阻害剤 (DIDS、NPPB) を用いて塩素イオンの細胞内流入を防ぐと細胞障害は抑制された。これらの実験においては、主として HeLa 細胞を用いて実験条件の検討を行ったが、培養気道上皮細胞においても低塩素イオン濃度条件、および塩素イオンチャネル阻害剤により細胞障害を低減することが明らかとなった。

D. 考 察

評価方法として、膜輸送タンパクに着目し、得られた細胞シートが正常気道上皮に近い膜輸送タンパクを発現していることが明らかとなった。さらに、低塩素イオン濃度条件、および塩素イオンチャネル阻害剤により細胞障害が低減することが明らかとなり、実際に細胞シートを生体に生着させる効率を上げるための技術となる可能性が示唆された。

E. 結 論

3年間の研究で、培養細胞シートの作製技術を確立することが出来た。低塩素イオン濃度条件、および塩素イオンチャネル阻害剤により細胞障害が低減することが明らかとなり、実際に細胞シートを生体に生着させる効率を上げるための技術となる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nagase H, Gren J, Saito A, Liu K, Agre P, Hazama A, Yasui M. Molecular cloning and characterization of mouse aquaporin 6. *Biochem Biophys Res Commun.* 352:12-16, 2007
- 2) Katsuda S, Miyashita H, Takazawa K, Machida N, Kusanagi M, Miyake M, Hazama A. Mild hypertension in young Kurosawa and Kusanagi-hypercholesterolaemic (KHC) rabbits. *Physiol Meas.* 27:1361-1371, 2006.
- 3) Kobayashi K, Nomoto Y, Suzuki T, Tada Y, Miyake M, Hazama A, Kanemaru S, Nakamura T, Omori K. Effect of fibroblasts on tracheal epithelial regeneration in vitro. *Tissue Eng.* 12:2619-2628, 2006
- 4) Nomoto Y, Suzuki T, Tada Y, Kobayashi K, Miyake M, Hazama A, Wada I, Kanemaru S, Nakamura T, Omori K. Tissue engineering for regeneration of the tracheal epithelium. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 115:501-506, 2006
- 5) Liu K, Kozono D, Kato Y, Agre P, Hazama A, Yasui M.

Conversion of aquaporin 6 from an anion to a water-selective channel by a single amino acid substitution. Proc Natl Acad Sci U S A. 102:2192-2197, 2005

- 6) Miyake M, Yamasaki M, Hazama A, Nielsen S, Shimizu T. Effects of microgravity on organ development of the neonatal rat. Biol Sci Space. 18:126-127, 2004
- 7) Hayashi S, Hazama A, Dutta AK, Sabirov RZ, Okada Y. Detecting ATP release by a biosensor method. Sci STKE. 2004 Nov 9;2004 (258) :p114.
- 8) 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
- 9) 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. 17:181-187, 2004
- 10) Miyake M, Yamasaki M, Waki H, Katahira K, O-ishi H, Katsuda S, Ijiri K, Hazama A, Nagayama T, Shimizu T. Morphological characteristics of the kidney and lung in the neonatal rats observed after 16 days spaceflight. Biol Sci Space. 17:173-174, 2004.

2. 学会発表

なし

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

自己由来細胞を用いた気管再生組織に関する研究

分担研究者 横山 秀二（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）
 桑畑 直史（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）
研究協力者 小林 謙（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）
 鈴木 輝久（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）

研究要旨

気管が癌や外傷などで侵された場合、気管の一部を切除しなければならない。従来は患者自身の皮弁組織を欠損部に覆い、気道を確保する方法が行われているが、患者への手術時の負担は増加し、皮膚と気管の違いから機能障害なく再建することは難しい。そこで、気管切除後の機能障害の回避、Quality of Lifeの向上を目的として、適切かつ迅速に気管が再生するように自己由来細胞と足場を組み合わせた再生組織の研究に着手した。その結果、気管の線維芽細胞は機能的な気管上皮層の再生することがわかった。続いて術前に容易に採取可能な線維芽細胞の供給組織として歯肉組織が適切であることが *in vitro* の実験から判じられ、実際に歯肉線維芽細胞を含む気管再生組織をラットに移植した結果からも高い上再生能力が示された。また、脂肪組織に由来する細胞を含む再生組織では活発な血管新生が認められ、脂肪由来細胞が再生組織の血管新生に有効な細胞であることがわかった。さらに、自己由来の歯肉由来線維芽細胞と脂肪由来細胞を三次元的に配置した再生組織は上皮層再生と血管新生に高い能力を有することがわかり、今後の臨床応用に向けて有益な基礎実験の結果が得られた。

A. 研究目的

気管の上皮層は、粘液やイオン成分の調節や異物の除去に機能する線毛細胞、上皮層の物理的・生理的な保護に必要な粘液を分泌する杯細胞、線毛細胞と杯細胞の前駆細胞である基底細胞で構成されており、各々に特徴的な性状をもつこれらの細胞は、気管が適切に機能する上で各々が必要不可欠な役割である粘液線毛クリアランスを果たしており、気管上皮層の細胞間に存在するイオン・ナトリウムチャンネルは水量、イオン濃度、湿度の調節を行い、気管内腔表面の生理環境の維持を果たしている。血管は再生過程の組織や再生後の組織維持に栄養分や免疫細胞を供給することによって、組織の恒久的な維持および免疫防御反応を果たしている。すなわち、気管上皮層と新生血管の形成を促進することが、気道病変切除後の感染リスクの軽減、機能障害の回避につながり、Quality of Lifeを向上させると考え、気管人工材料に移植細胞を導入した気管再生組織の作製に着手した。また、移植細胞としては感染リスクや免疫拒絶反応が少ない、自己由来細胞に限定して検討することにした。

B. 研究方法

1. 線維芽細胞・脂肪由来細胞の採取・培養

実験動物としてラットを用い、同一個体から気管、皮膚、歯肉粘膜および鼻粘膜より線維芽細胞を *outgrowth* 法にて採取し、皮下脂肪からコラゲナーゼを用いた酵素

分散法にて脂肪由来細胞を採取し、培養した。

2. 上皮細胞と線維芽細胞の共培養

線維芽細胞を含むコラーゲンゲル上に気管より酵素処理にて採取した上皮細胞を播種して共培養する。上皮細胞がコンフルエント到達後は、上皮細胞の分化を促進するため空気暴露した。

3. 線維芽細胞、脂肪由来細胞を含む再生組織の作製およびその評価

1. で採取した線維芽細胞あるいは脂肪由来細胞を含むコラーゲンゲルをコラーゲンスポンジ上でゲル化させ、細胞を含む再生組織を作製した。

気管の一部を欠損させたラットに再生組織を移植し、移植後1および2週間後に摘出し、形態学的に評価した。

C. 研究結果

1. 気管線維芽細胞が気管上皮細胞に及ぼす影響

気管線維芽細胞は、気管上皮細胞の移動、増殖を有意に促進することが明らかになった。気管上皮細胞の線毛細胞、杯細胞および基底細胞への分化は、線維芽細胞存在下で促進されており、その分化細胞数は線維芽細胞非存在下に対して、各々2.3倍、2.5倍、5.4倍であった。共培養した上皮細胞層は、正常気管上皮層と同様に線毛細胞、杯細胞および基底細胞が適切に配置した偽多列線毛上皮層を形成していた。培養中に上皮細胞層表面に分泌された粘液量も線維芽細胞密度に比例して増加していた。これらの結果は、線維芽細胞が機能的な気管上皮層