

# 再生医療の実用化に向けた新規アプローチ — 気管再生を中心に —



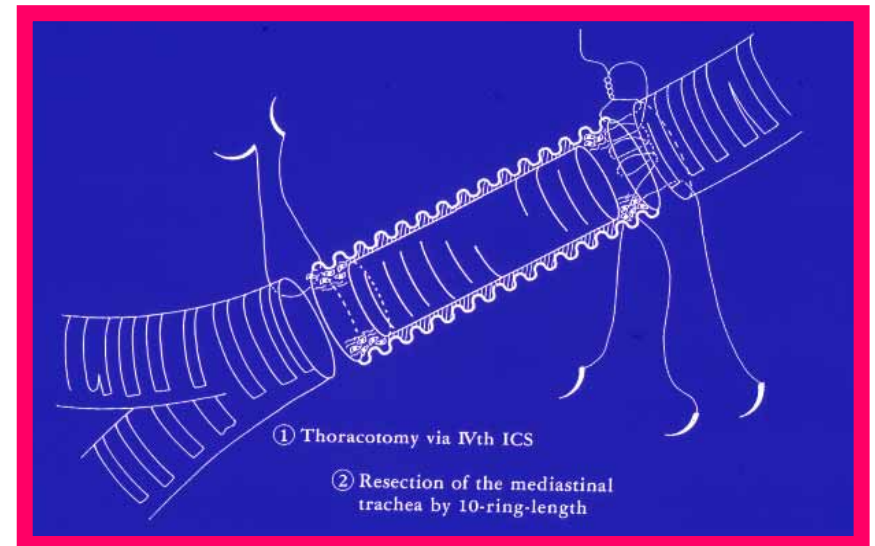
聖マリアンナ医科大学・形成外科学  
同大学院・先端医学研究施設  
准教授 井上 肇

# 研究背景

呼吸器悪性腫瘍患者に対し廓清術を施行する際、広範囲な気管切除を必要とすることがある。この場合気管断端部の吻合が不可能となり、その結果失声する。これは患者のADLとQOLの大きな低下と苦痛を伴う。一方、小児に於ける先天性喉頭軟化症、気管軟化症等も同様であり、気道確保（呼吸確保）の目的で余儀なくされる気管切開は、児童を失声させ、かつ定期的喀痰吸引等の必要性から正常な日常生活、特に児童の学校生活が制限され、健全な精神発達、社会生活へ大きな障害となる。そこで再生医療技術を駆使した組織再生を行い、このような問題を解決する事を試みる。

## [2] 関連する製品

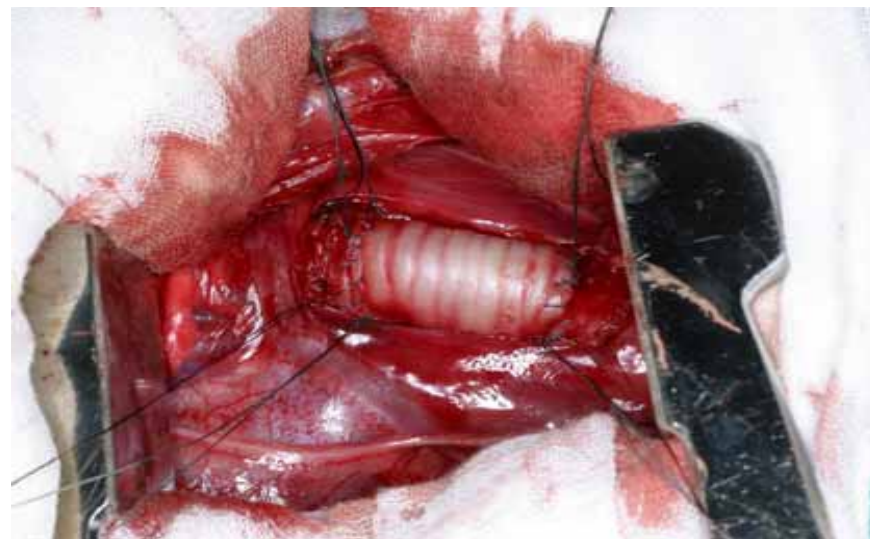
(1) Neville型人工気管（米国USP承認）：現在その有効性の低さから殆ど用いられていない。



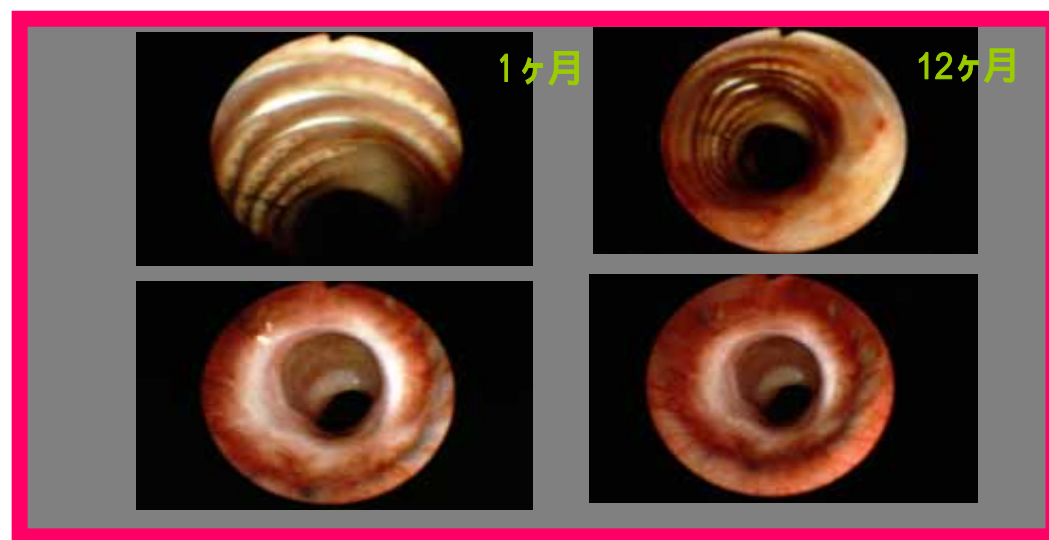
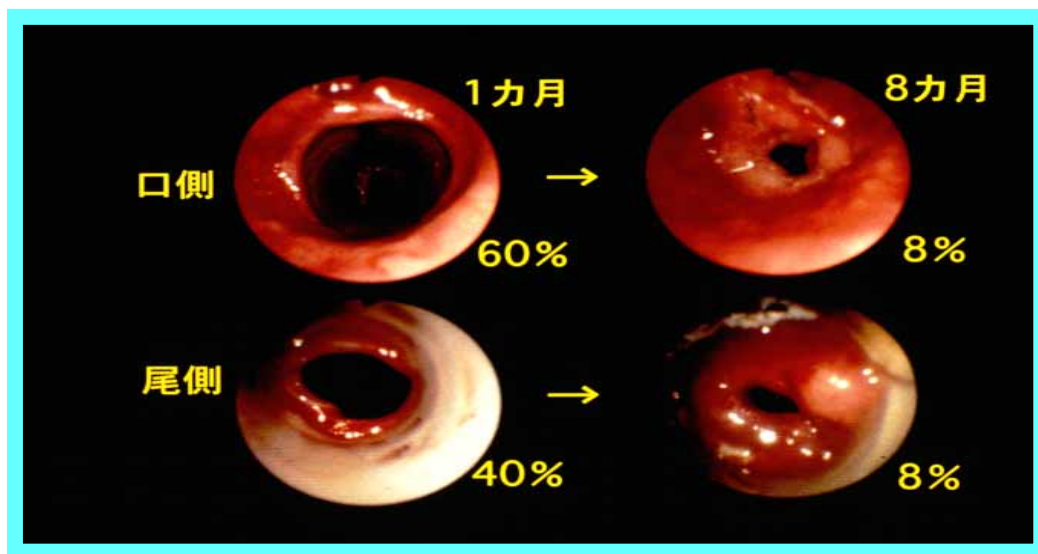
# 新技術の基となる研究成果・技術

## 本学に於けるこれ迄の経緯

1. 失声回避のための短期的人工気管開発と植埋技術の確立
  - シリコン
2. 長期生存を目的とした気管再生のための親和性素材
  - ダクロン
  - 吸収素材(PLLA)
  - 無細胞気管(特許査定)



# 新技術の基となる研究成果・技術限界



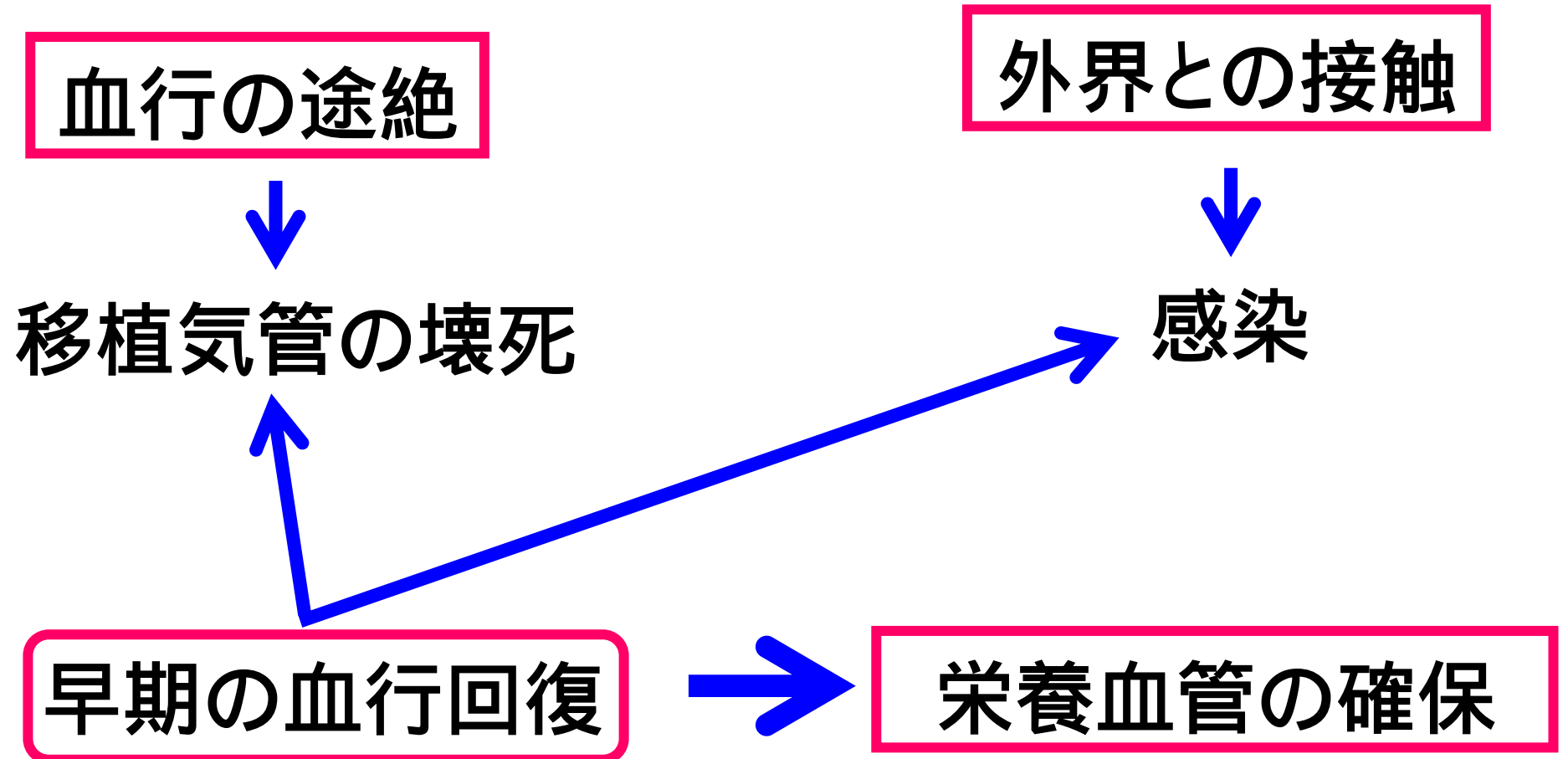
失声を防ぐための短期的な人工気管（シリコン製）の植埋に於いて、技術的な問題ならびに素材の生体親和性の関係から、急速な狭窄を来たした。この状況では、仮に再発迄の短期的なQOL改善目的に於いても、危険が伴い臨床には供せない。

# 打開策

臓器移植としての気管移植

気管移植の最大課題

移植気管の生着環境



# 従来技術とその問題点

1. 1960年代の後半にシリコンを主成分とするNeville型人工気管が唯一商品化された。しかしこの人工気管は感染、狭搾、脱落と言った問題が多発し、今日ほとんど利用されていない。
2. 本邦に於いて、京都大学がコラーゲン、マーロックスメッシュ、ポリプロピレンを素材とする人工気管を考案し、その有用性が報告されている。少数例の臨床応用が報告されている。
3. 臓器移植（肺移植）が解決法であるが、組織適合性とドナー問題に加え、他臓器の移植に比べると移植成績が劣る。

現況50年を経た現在も、満足出来る人工気管、再生気管は完成していない。

## 無細胞気管作成準備



## 摘出気管保存条件

10%DMSO/10%FBS含有DME培地

-85 ~ -150



長期保存用

PBSまたは生理食塩水

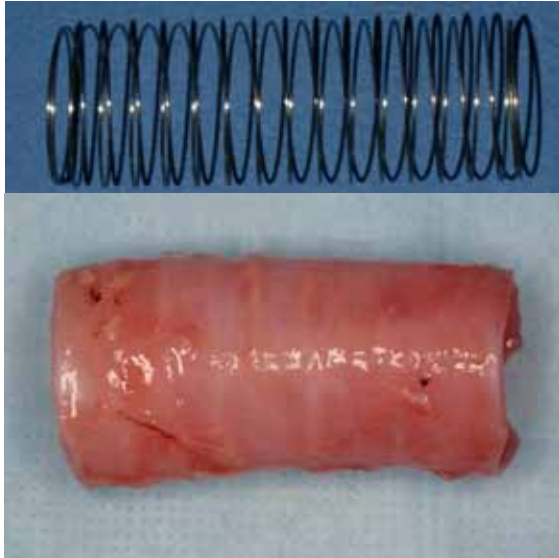
室温または4



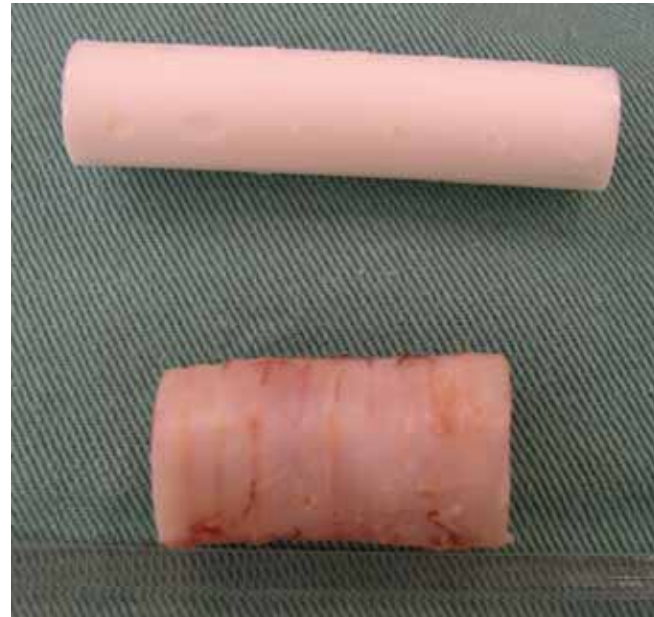
24時間以内処理

# 無細胞気管作成手順

ステンレスステント



シリコンステント



ステント挿入後



## 除細胞操作



0.5% Triton X-100水溶液  
室温で24から48時間振盪

## 洗浄操作



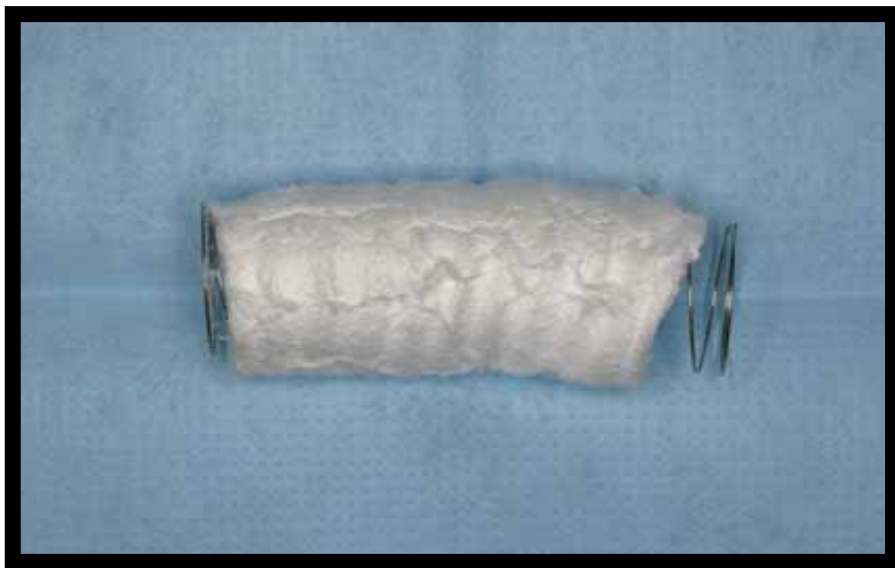
滅菌蒸留水 40 mLに交換し48-72時間室  
温で振盪

## 凍結乾燥

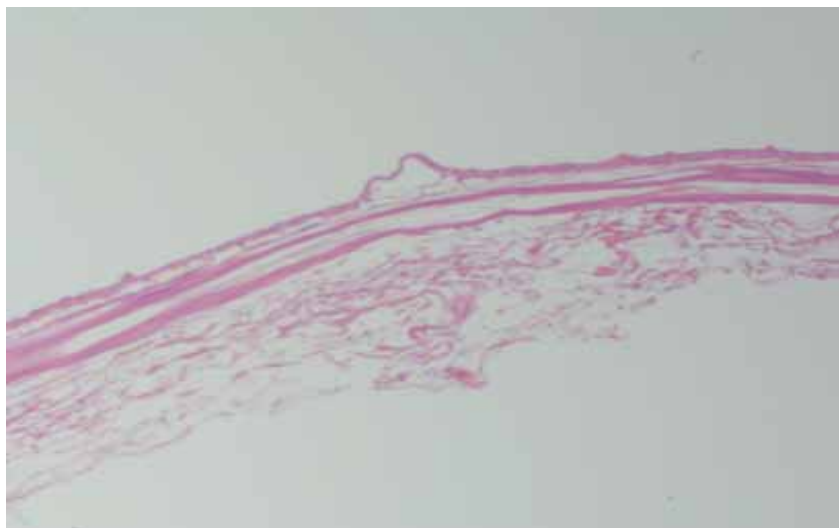


## ガス滅菌後

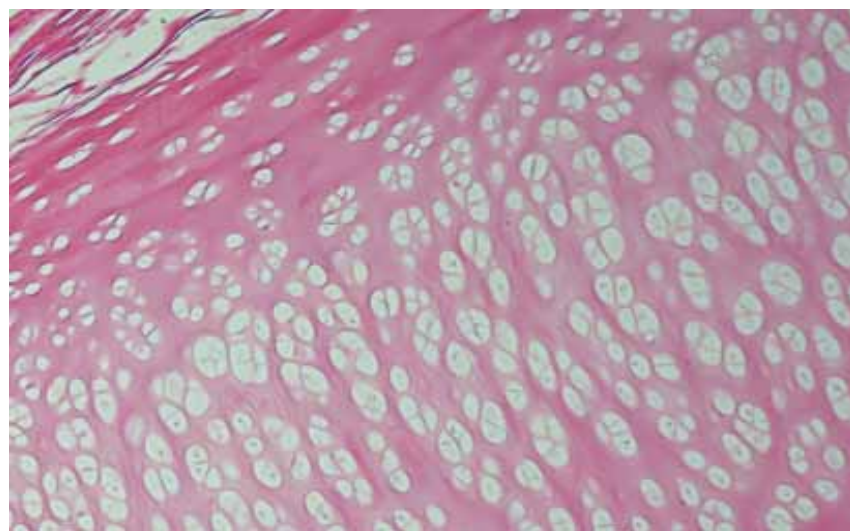




## 無細胞化気管HE所見

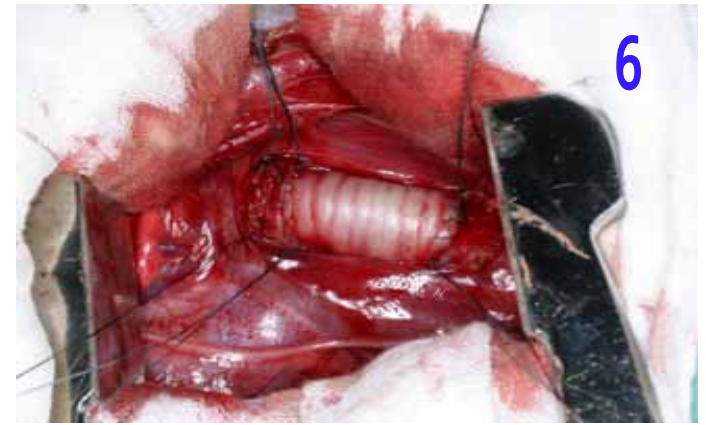
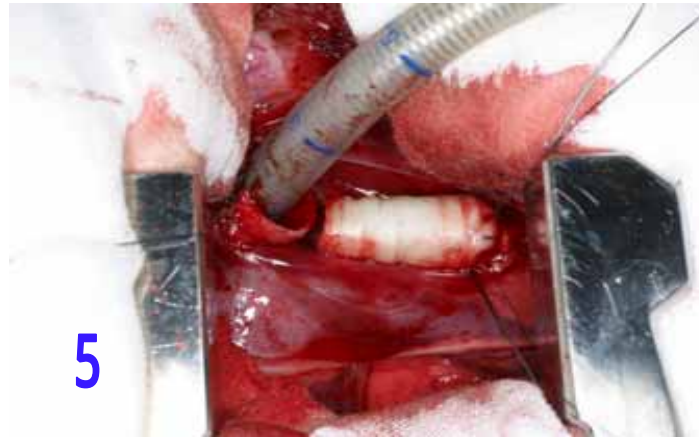
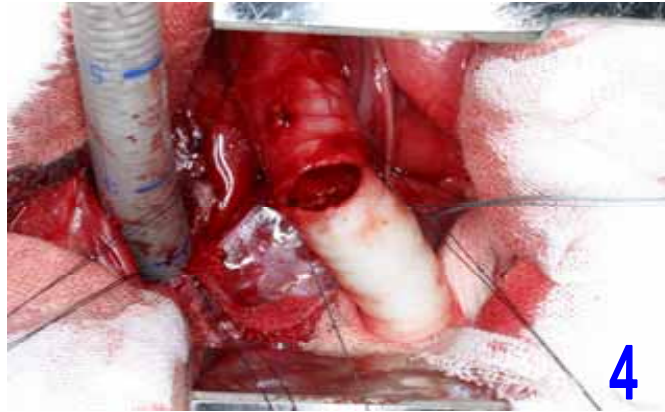


膜様部HE所見



気管軟骨部HE所見

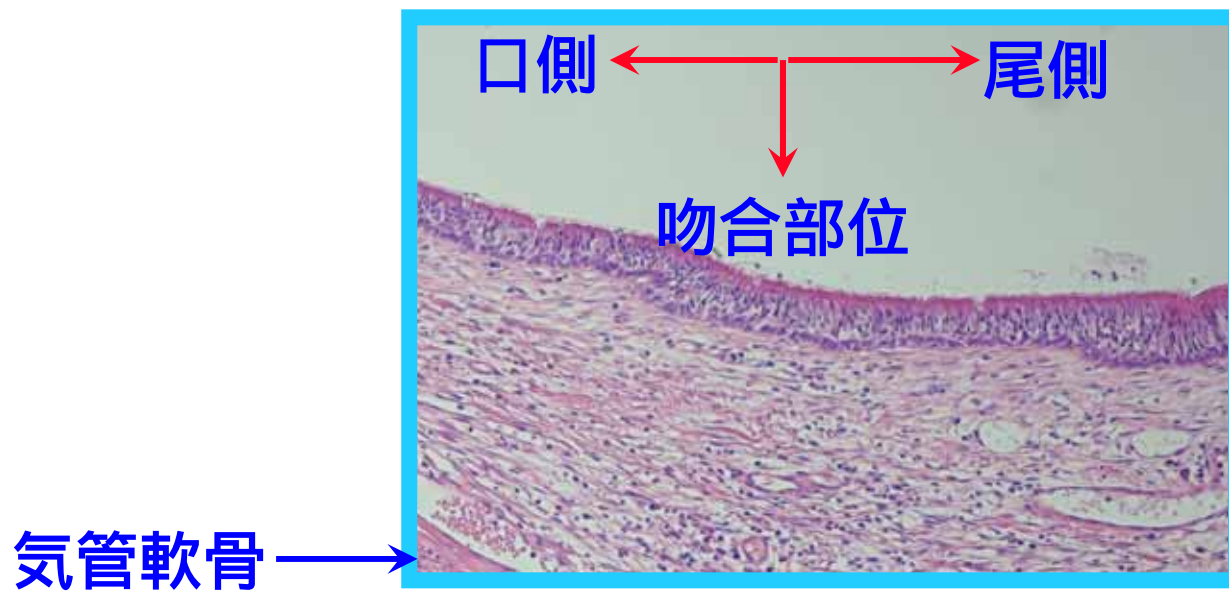
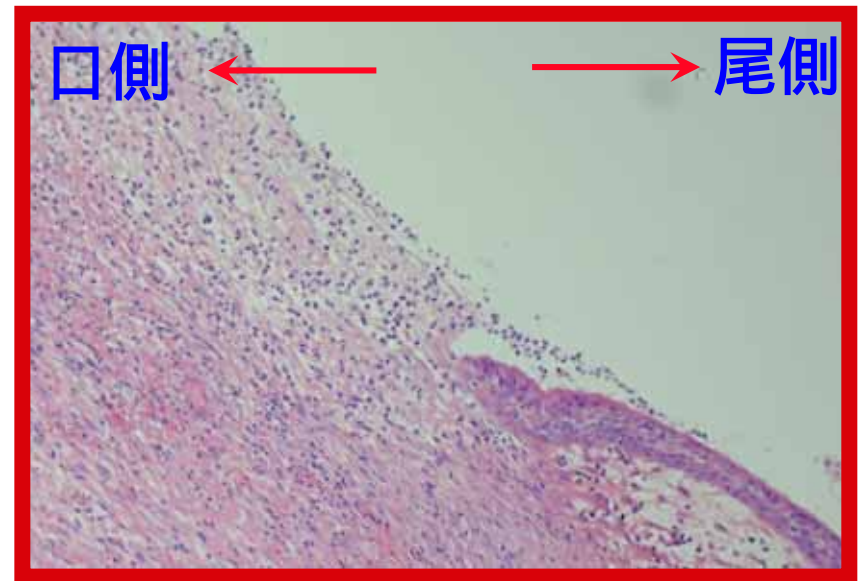
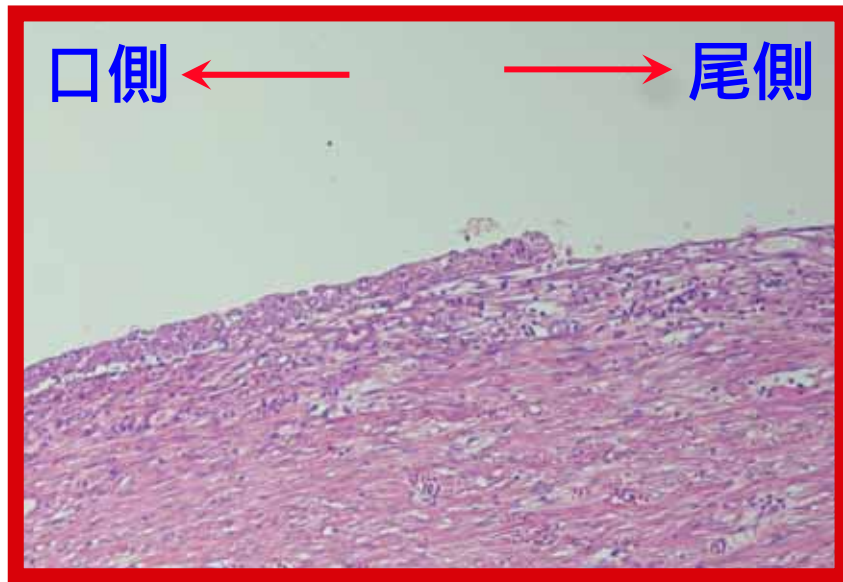
# 植埋手順(イヌ)



大網被覆

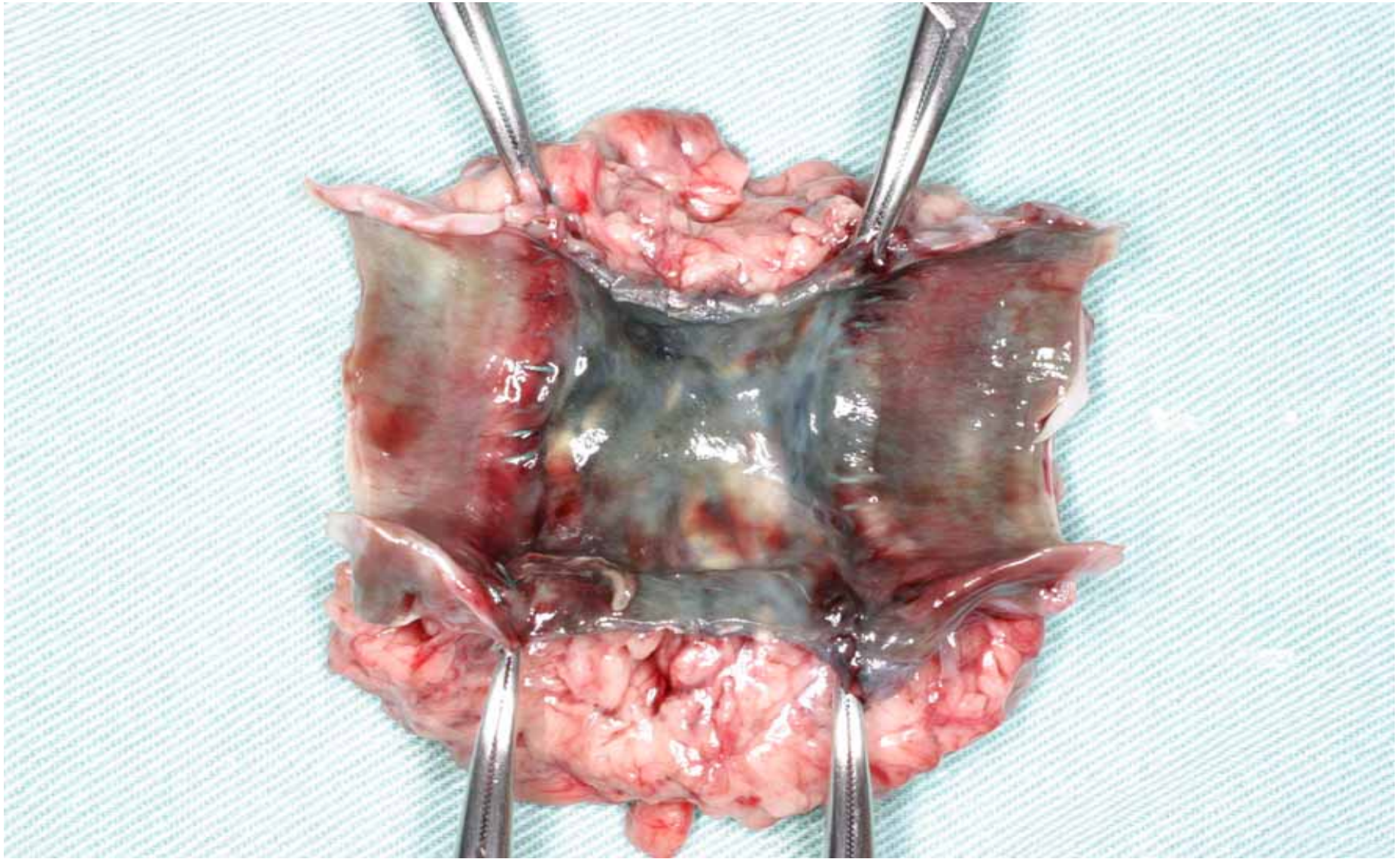


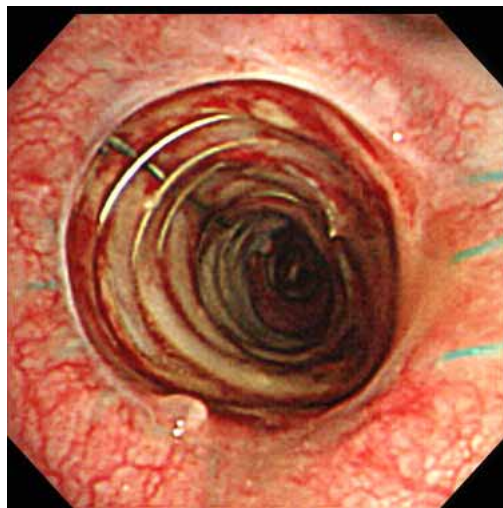
内視鏡所見



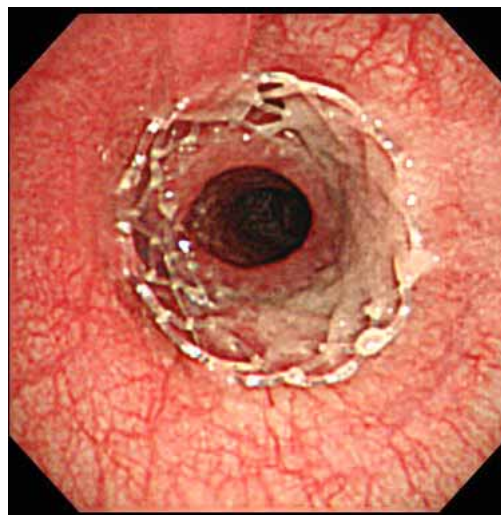
術後1ヶ月イヌ気管HE所見(10x2.5)

## 解剖所見(術後2ヶ月)

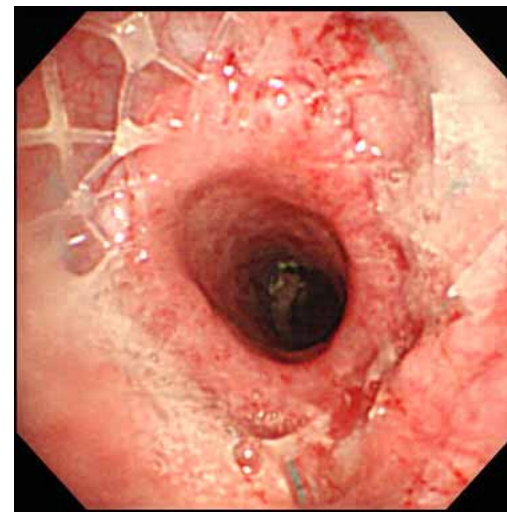




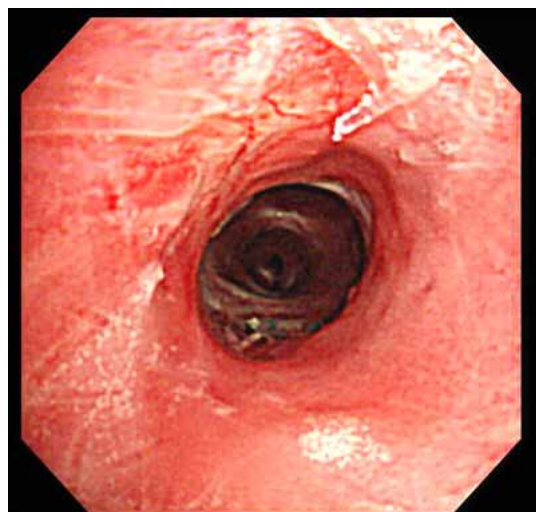
術後2週



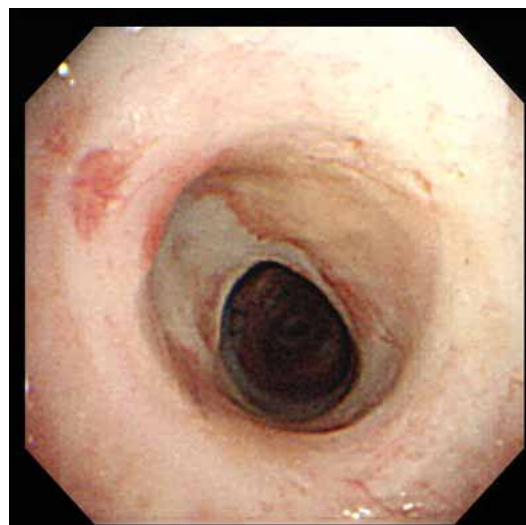
術後4週



術後6ヶ月

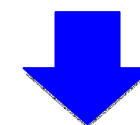


術後9ヶ月



術後18ヶ月

2008年12月20日現在  
問題なく生存中(30ヶ月)

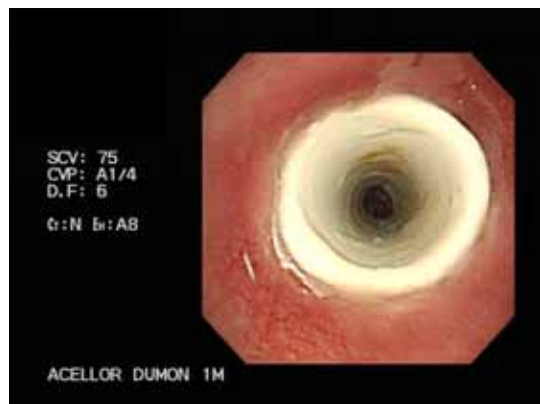


組織学的研究ならびに  
倫理委員会規定により

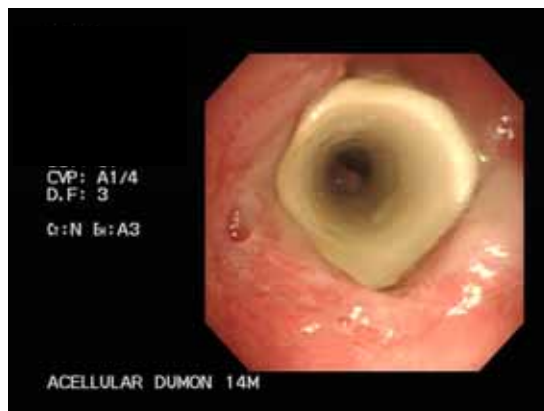
安楽死へ

## 無細胞化気管植埋イヌ

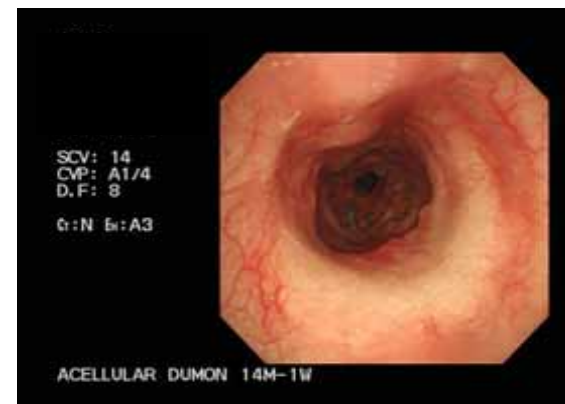
2008年8月19日ステント抜去例



術後1ヶ月

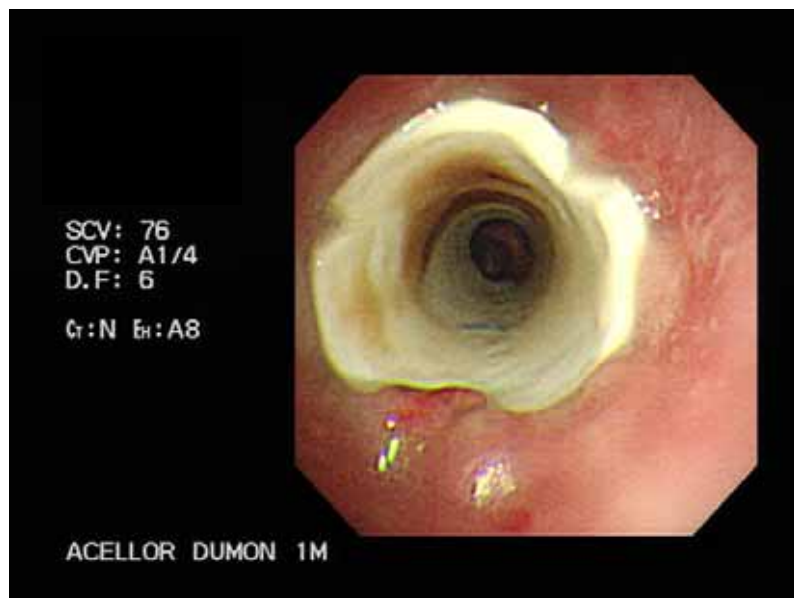


術後14ヶ月



ステント抜去後(1週間)

2010年11月15日現在生存中(34ヶ月)



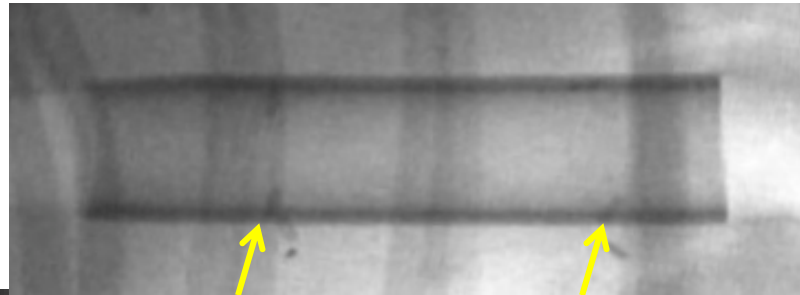
術後1ヶ月



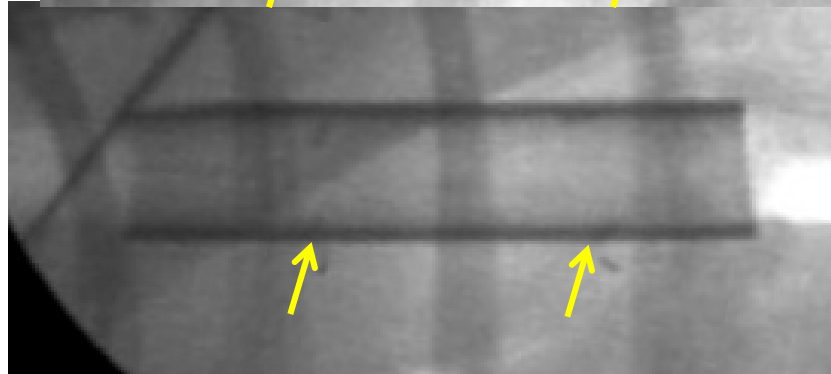
術後18ヶ月

無細胞化気管植埋イヌ

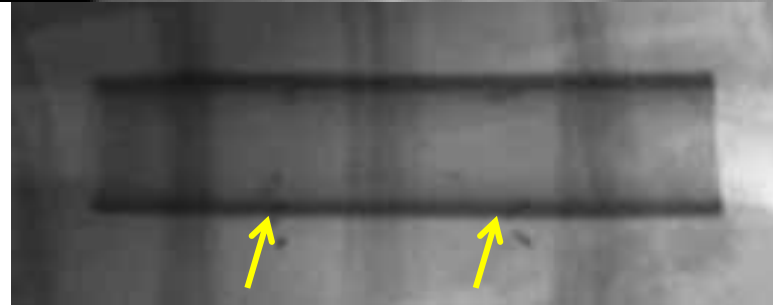
1M 27mm



4M 22mm



7M 18mm

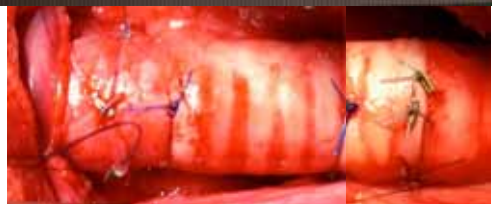
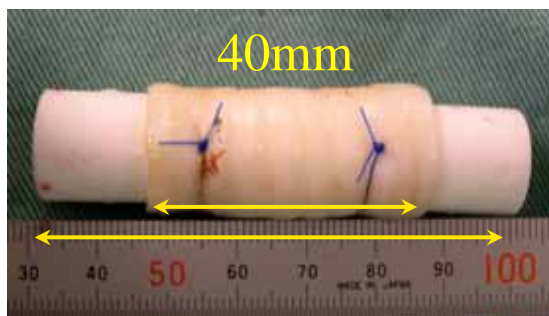


無細胞気管の間置で端々部の気管が伸展？再生？

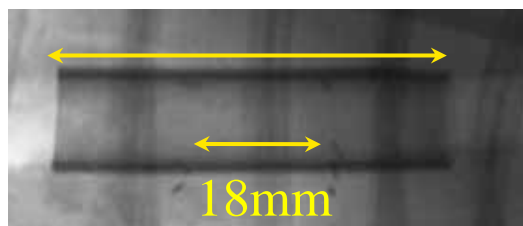


# 比較検討

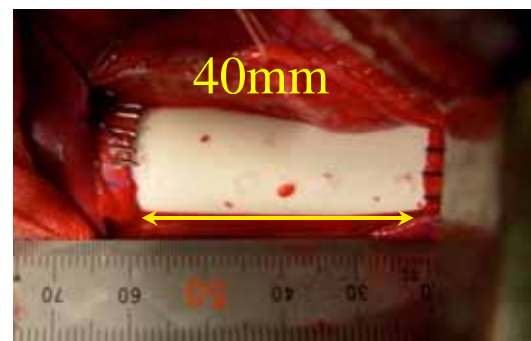
## 無細胞気管付きステント



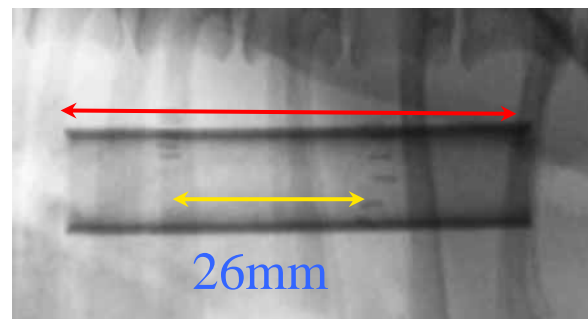
7ヶ月後



## ステントのみ



10ヶ月後



# 結論

- シリコンステントに異物性は無い、抜去も可
- 無細胞気管の存在が端々部の気管伸展を促進する。(即ち気管再生を促す)
- 伸展しきれなかった部分の強度が時に低く、虚脱を起こす事がある。(メンテナンスタ法)の確立)
- 切除縫縮で対応が可能である。
- 内視鏡下処置法の確立。
- 声門通過可能な硬性鏡の作成。
- 縫合方法 縫合器の作成、デシヤンの方法。
- 結紮方法 体外結紮、slip knot法。

# 新技術の特徴・従来技術との比較

無細胞組織（無細胞気管）ならびに吸収性素材を利用した気管再生技術の確立は、以下の様な特徴を有する。

- 脱細胞あるいは吸収素材を用いているので抗原性が無い。
- ヒト組織であるが、心臓死からのドナー提供で賄え、採取制限が少ない。  
この事は、臓器移植に於ける免疫拒絶、ドナー不足の問題を解決出来る。
- 脱細胞過程で、完全な除菌、その後の完全滅菌が可能である。
- 究極は自己組織を吸収性素材で修復しリサイクルする事も可能となる。  
自己組織もしくは吸収生体親和性素材であるので、未知の感染リスクは低い。
- 凍結乾燥が可能であり、長期保存が可能である。  
緊急時の対応が可能である。

# 想定される用途

## 呼吸器関連領域以外として

- 管腔維持が要求される消化器領域。
- 無細胞組織については、軟骨・骨組織等整形外科領域の鑄型として。
- 軟部組織の無細胞化による皮膚等の代替物。

## 本研究展開の上で開発された関連技術

- Xeno free培養技術(特許申請中):再生医療基盤技術への応用
- 上皮系幹細胞を用いた中枢神経再生技術(特許申請中):脊髄損傷への応用
- 内視鏡下吻合器の開発(特許申請中):低侵襲外科処置の実現

# 実用化に向けた課題

1. 現在生存している移植イヌの更なる長期観察
2. 脱着可能なステントによる安定的結果 (実証済)
3. 画像解析によるステント抜去タイミングの確立
4. 再生機序の解明
5. 内視鏡下切除法の技術啓発
6. 倫理委員会への審査承認

# 企業への期待

- Xeno Free培養技術の確立に伴い、低コスト、高安全な多血小板血漿採取システムの提供。
- 着脱式ステントの改良について、共同研究を希望。
- 内視鏡下吻合器の改良と生産について、医療機械メーカーとの共同開発を希望。

# 本技術に関する知的財産権

## ■ 特許出願

発明の名称：気管移植片の調製方法、気管移植片、凍結乾燥気管マトリックス片および細胞の播種方法

出願番号：特願2003 373150 (登録番号：特許4149897 )

発明者：井上 肇、塚田 久嗣、長田 博昭、熊谷 憲夫

出願人：独立行政法人 科学技術振興機構、学校法人 聖マリアンナ医科大学

## ■ 特許出願

発明の名称：気管用縫合器

出願番号：特願2010 223700

発明者：森田 克彦、安藤 幸二、井上 肇、栗本 典昭

出願人：学校法人 聖マリアンナ医科大学

# お問い合わせ先

MPO株式会社(聖マリアンナ医科大学指定TLO)

TEL:044-979-1631

FAX:044-979-1632

E-MAIL:info@mpoinc.co.jp

URL:<http://www.mpoinc.co.jp>

担当者: 聖マリアンナ医科大学 天野 徹也 (文部科学省産学官連携コーディネーター)  
MPO株式会社 代表取締役社長 木苗 貴秀  
知財事業部 熊谷 春乃