

培養網膜色素上皮細胞シート移植による加齢黄斑変性治療

(¹ 眼科学, ² 先端生命医科学研究所, ³ 早稲田大学教育学部)

谷谷尚子¹・大和雅之²・平元正直³・
山本香織¹・菊池明彦²・並木秀男³・
岡野光夫²・堀 貞夫¹

加齢黄斑変性 (AMD) は西欧諸国では失明原因の第一位に挙げられ、わが国でも増加の一途であるが、現在も根治療法はない。硝子体手術による新生血管除去術は有効な治療のひとつであるが、網膜色素上皮細胞 (RPE) の欠損を伴い、視力予後は不良であることが多い。そこで、新生血管除去術に RPE 移植を併用し、RPE の欠損を補うことにより神経網膜を障害から守ることが考えられる。先行研究として、RPE を懸濁液で移植したものや、細胞パッチとして移植した報告があるが細胞は機能していないという報告がほとんどである。今回我々は、温度応答性培養皿を用いて RPE をシートで回収することができたので、3 ポート vitrectomy を施行し神経網膜下にシート移植を行った。

有色家兎 RPE から培養した RPE シートは、作製条件を検討することにより敷石状の細胞形態をもった単層の有色シートとして回収することが可能であった。シートは組織学的な検討を行った。RPE 単層シートは網膜下への移植は可能であったが、細胞シートの挙動のコントロールが難しく、手術手技のさらなる改良が必要であると思われた。今後 RPE シートの移植前後の機能を確認し、長期経過も観察予定である。

経内視鏡的培養口腔粘膜上皮細胞シート移植による食道再建

(¹ 消化器病センター外科, ² 先端生命医科学研究所)

大木岳志¹・大和雅之²・岡野光夫²・高崎 健¹

早期消化管癌の内視鏡治療において、従来の内視鏡的粘膜切除術 (EMR) に加え、内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) が登場し、広範囲の病変でも一括切除可能となった。そのために正確な標本の評価が可能となり、再発率の改善に大きく寄与している。しかしながら切除範囲が大規模化したため、術後の潰瘍による癒痕狭窄の問題が生じている。特に管腔の狭い食道では、亜全周や全周の EMR 後に癒痕狭窄の予防として内視鏡的拡張術の反復的施行やカバー付ステントの一時的挿入が必要とされ、術後の患者の QOL (quality of life) は著しく低下してしまう。そのために食道癌治療ガイドラインでは EMR の相対的適応の条件に周在性の大きさの制限因子が定められている。

そこで我々は人工食道潰瘍の創傷治癒の促進および術後潰瘍癒痕狭窄の防止を目的として、自家培養口腔粘膜

上皮細胞シートを潰瘍面に経内視鏡的に移植する新しい治療法の開発を行っている。本研究により、培養口腔粘膜上皮細胞シートを経内視鏡的に移植が可能であり、創傷治癒の促進および狭窄の抑制を認めた。東京女子医科大学先端生命医科学研究所で開発された温度応答性培養皿により、タンパク質分解酵素を用いることなく低温処理のみで回収した細胞シートは細胞外マトリックスを保持しているため、縫合なしで消化管の潰瘍面に容易に接着が可能であった。培養口腔粘膜上皮細胞シート移植は人工食道潰瘍による癒痕狭窄に対する新しいモダリティとして期待される。

培養線維芽細胞シート移植による新規気漏閉鎖術

(第一外科学)

神崎正人

肺切除術において、剥離面、切離面の胸膜欠損部から術中気漏に対し、様々な手技、フィブリン糊をはじめとする組織修復接着剤による対策が行われているが、現在でも、術中気漏閉鎖に対しては検討の余地がある。理想的な気漏閉鎖に対する修復材は、呼吸に伴う肺の伸展に対応した接着力、柔軟性が要求される。温度応答性培養皿から回収した細胞シート (CS) は細胞-細胞間結合、細胞外マトリックスを有し、さらに、伸縮性を持つことに着目し、CS を創傷治癒促進、シーラントとして用いることで、生体材料による新規の気漏閉鎖法を開発した。

方法は、ラット気漏モデルでは、新生仔ラットより皮膚を摘出し、酵素処理で細胞を単離、初代培養し、培養 3 日目に温度応答性培養皿に継代し、継代 4 日目に CS を回収し、CS を 2 枚積層し移植に供した。8 週齢のヌードラットを腹腔内麻酔下気管内挿管、人工呼吸器管理下、左側方開胸し肺を約 5mm 切除、分時換気量 400cc で気漏を確認し、気漏部位に CS を貼布し、気漏消失を確認し閉胸した。さらに、家兎気漏モデルにおいては、自己皮膚線維芽細胞を用いた気漏閉鎖を行った。移植 4 週後に、CS の伸縮性、病理組織学的評価、超微形態を電顕で評価した。今回、細胞シート気漏閉鎖術の有用性、臨床応用の早期の可能性について報告する。

培養肝実質細胞シート移植による異所的肝組織構築

(奈良県立医科大学 消化器・総合外科学)

大橋一夫

肝疾患における外科治療は、悪性部位は切除する、病期が進み末期段階になれば肝臓を置換するという臓器移植において目覚ましい発展を成し遂げ、予後の改善に貢献してきた。一方で、肝臓全体を移植し取り替える必要のない病態が多数あることも事実であることから、新たな肝疾患治療法の確立が望まれている。この観点から、我々は分離肝細胞を用いた肝細胞移植療法を進展させ、医用工学技術を応用することによる肝 tissue engineering の開発に従事してきた。

具体的には、皮下や腎被膜下という肝臓外部位におい

て生体にとって第二の機能的肝組織を作製するという試みであるが、特に、肝臓としての機能をいかに長期間発揮させ得るかという点に重点を置いてきた。マウスを用いた実験では、体内に作製した肝組織は300日以上安定して存在し得ている。肝臓特異的な現象である再生増殖においても、作製した肝組織は肝臓から離れた部位に位置するものの自己肝と連係した再生増殖現象を示し、機能的にも生体にとって肝臓の一部と認識される組織である。さらに、分離肝細胞を温度応答性高分子をコートした培養皿で初代培養することで、細胞-細胞間結合を密に保持した2次元的肝組織シートを作製することが可能となっている。この肝組織シートはマウス皮下に貼付することで、非常に簡便に肝組織を作製することができる新たな技術である。

以上を含めた肝 tissue engineering 研究の現状と今後の課題、そして新たな治療展開への可能性について概説する。

細胞シート工学を用いた心筋再生

(先端生命医科学研究所)

清水達也

不全心筋に対する再生医療として筋芽細胞や骨髄由来細胞を不全心筋組織内に注入することにより心筋組織を再生させる方法が臨床応用されている。一方、組織工学的手法を用い、3次元的な心筋組織を再構築し移植する

治療法が次世代の治療法として追究されている。我々は温度応答性培養皿を利用してシート状の細胞を回収し積層化することで、3次元組織を再構築する独自の技術により心筋組織再構築の研究を行ってきた。

ラット心筋細胞シートを温度降下処理のみで温度応答性培養皿から回収・積層化したところ、細胞シート間には形態的にも電気的にも結合ができ、肉眼レベルで自律拍動する心筋組織の構築が可能となった。重層化心筋細胞シートを皮下組織に移植したところ、移植組織内には毛細血管網が早期に新生し、生体心筋組織類似の組織像を呈するとともに、移植後、1年まで心筋グラフトが拍動を維持したまま生着することが明らかとなった。

次なる課題として酸素・栄養の透過性の限界を超えたより厚い組織を作製するには、組織内に十分な血管網を再構築することが必須となっている。我々は重層化心筋細胞シートを血管網が再構築されるのを待つて繰り返し移植することにより、1mm厚の心筋組織の再構築を *in vivo* で実現し、さらに現在 *in vitro* で血管網を再構築する技術を追究している。組織工学による心筋再生は、多面的なアプローチにより飛躍的に進んでおり、心不全に対する治療の新たな選択肢として重要なものとなると考えられる。