

組織片のサイトカインにより細胞増殖・遊走が促進し  
上皮化が速やかな代用尿管の開発

(課題番号 08671849)

平成8、9年度科学研究費補助金（基盤研究C）  
研究成果報告書



平成10年3月

研究代表者 合谷 信行

(東京女子医科大学泌尿器科学講座 助教授)



組織片のサイトカインにより細胞増殖・遊走が促進し  
上皮化が速やかな代用尿管の開発

(課題番号 08671849)

平成8、9年度科学研究費補助金（基盤研究C）  
研究成果報告書

平成10年3月

研究代表者 合谷 信行

(東京女子医科大学泌尿器科学講座 助教授)

## 目次

はしがき .....	1
1. 研究課題名・研究組織・研究経費・研究発表 .....	3
2. 研究成果	
1. この度の研究計画及び成果の概要 .....	7
2. 組織片のサイトカインにより細胞増殖・遊走が促進し上皮化が 速やかな代用尿管の開発 .....	1 1
3. 尿路におけるePTFE (Expanded-polytetrafluoroethylene) グラフト補填に関する研究(I) .....	2 7
4. 尿路におけるePTFE (Expanded-polytetrafluoroethylene) グラフト補填に関する研究(II) .....	3 7
5. Endogenous basic fibroblast growth factor for endothelialization due to angiogenesis in fabric vascular prostheses.....	4 7
6. 人工血管内皮化促進のためのin vivo組織培養における内因性 サイトカインの活性化 .....	5 3
7. サイトカインの人工血管壁における植え込み後の挙動 .....	5 9
3. 参考論文	
1. Evaluation of prophylactic levofloxacin therapy for post-TURP infections .....	6 5
2. TUR-P後感染症に対する経口抗菌剤予防投与の有用性について 第二報:リスク群・非リスク群における検討.....	6 9
3. 経尿道的前立腺切除術における経口抗菌剤予防的投与の有用 性についての検討 .....	7 5
4. Prevalence of urinary tract infection durin outpatient follow-up after renal transplantation.....	8 1
5. 経尿道的前立腺切除術におけるエリスロポエチン(EPO)投与下 自己血輸血法の検討 .....	8 7
6. 急性腎不全・排尿障害 .....	9 1
7. 泌尿器科領域における高齢者手術の現況 .....	9 7
8. 慢性透析症例における心大血管手術74例の検討 .....	1 0 3

尿管の狭窄あるいは閉塞による上部尿路通過障害は、腎機能に重大な影響を及ぼし、放置すれば患側腎機能の荒廃を引きおこす深刻な病態である。さらに尿管閉塞が両側に及ぶ場合には腎後性腎不全を招き、生命にも危険な状態となる。

尿管の修復不能の傷害に対し、自己尿路以外の補填材料として、多くの材質が検討されてきた。生体材料としては、動脈、静脈、筋膜、犬、皮膚、卵管、腸管などの使用が試みられたが、一時臨床的に使用されたのはもっぱら腸管だけである。現在では、障害部位の距離が長く、修復できない場合には、腎臓を本来の位置より切離し、同側の腸骨下に移植する自己腎移植が行われることが多い。

尿管の傷害部位に補填できる人工尿管が存在すれば、その部分の置換のみで尿の通過が確保され、従来の方法に比べ患者が得られる恩恵は計り知れないほど大きい。理想的な人工尿管を求めて多くの材質が検討されたがいまだ臨床的に使用できるものはなく、ここに人工尿管の研究を行う意味がある。

1. 研究課題名：研究組織・研究経費・研究発表

【研究課題名】

組織片のサイトカインにより細胞増殖・遊走が促進し上皮化が速やかな  
代用尿管の開発

研究課題番号 08671849

【研究組織】

研究代表者 合谷信行（東京女子医科大学泌尿器科学助教授）

研究分担者 富澤康子（東京女子医科大学循環器外科助手）

【研究経費】

平成8年度 1,400千円

平成9年度 800千円

計 2,200千円

【研究発表】

学会誌

1. 中沢速和、伊藤文夫、龍治修、奥田比佐司、鬼塚史朗、巴ひかる、山崎雄一郎、木原健、田辺一成、合谷信行、東間紘、阿岸鉄三、太田和夫:透析患者の腎癌手術症例の予後の検討、透析会誌、30:1033-1039, 1997
2. 前田佳子、中沢速和、吉村直子、奥田比佐司、大島直、伊藤文夫、鬼塚史朗、木原健、合谷信行、東間紘:高カルシウム血症を呈した膀胱腫瘍の1例、泌尿紀要、43:137-140,1997
3. 木原健、伊藤文夫、小林千佳、龍治修、徳本直彦、井口靖浩、前田佳子、鬼塚史朗、合谷信行、中沢速和、東間紘:Prostate specific antigen (PSA)軽度上昇例の前立腺診断におけるPSA densityの有用性、泌尿紀要、43:13-18, 1997
4. Goya N, Tanabe K, Toma T et al:Prevalence of urinary tract infection during outpatient follow-up after renal transplantation, Infection,25:102-5, 1997
5. 合谷信行:尿路感染症を伴う症例;症候から見た腎不全患者の診かた・考え方、p207-9、腎不全治療学(太田和夫監修)、南江堂、東京、1997
6. 合谷信行、湯村和子:肉眼的血尿がある症例;症候からみた腎不全患者の診かた・考え方、p185-6、腎不全治療学(太田和夫監修)、南江堂、東京、1997
7. Tanabe K, Agishi T, Goya N et al:Clinicopathological analysis of rejection episodes in ABO-incompatible kidney transplantation, Transplant Proc, 28:1447-8, 1996
8. Tanabe K, Takahashi K, Goya N et al:Long-term results of OKT3-treated renal transplant recipients, Transplant Proc, 28:1350-1, 1996

9. 小山一郎、合谷信行、東間 紘ほか：サイトメガロウイルス感染症の診断および治療にアンチゲネミア方が有用であった3例、移植、31:234-8,1996
10. 中田智子、川又田美和子、合谷信行：経尿道的前立腺切除術における液状貯血式自己血輸血の血液凝固線溶動態に及ぼす影響、日本臨床麻酔学会誌、16:473-9,1997
11. 合谷信行、工藤京子、山本公子：泌尿器系手術患者の看護；前立腺肥大症（経尿道的前立腺切除術）、p380-91、看護必携シリーズ6・外科II(浜野恭一他監修)、学習研究社、東京、1996
12. 合谷信行：腎移植；尿路感染症、腎疾患治療薬マニュアル、腎と透析、41:685-6,1996
13. 合谷信行、中沢速和、東間 紘ほか：TUR-P後感染症に対する経口抗菌剤予防的投与の有用性について-第2報:リスク群・非リスク群における検討、西日泌尿、58:798-802,1996
14. 合谷信行、東間 紘、伊藤文夫ほか：経尿道的前立腺切除術における経口抗菌剤予防的投与の有用性についての検討、東女医大誌、66:90-4,1996
15. Noishiki Y, Yamane Y, Tomizawa Y, Satoh S: Attempt to use natural cytokine synthesis from transplanted bone marrow, Cell Eng, 1997, 2(1):19-28
16. Ohtsuka G, Aomi S, Koyanagi H, Tsukui H, Tomizawa Y, Hashimoto A, Sakomura Y: Heart valve operation in acromegaly, Ann Thorac Surg, 64:390--3, 1997
17. Noishiki Y, Tomizawa Y, Yamane Y and Matsumoto A: Autocrine angiogenic vascular prosthesis with bone marrow transplantation. Nat Med. 2:90-3, 1996
18. Ohkado A, Sato M, Tomizawa Y, Nishida H, Endo M and Koyanagi H: Transdiaphragmatic drainage of pericardial effusion with severe pericardial adhesions. Ann Thorac Surg. 62:1196-7, 1996
19. Tomizawa Y, Noishiki Y, Okoshi T, Nishida H, Endo M and Koyanagi H: Endogenous basic fibroblast growth factor for endothelialization due to angiogenesis in fabric vascular prostheses, ASAIO J, 42:M698-M702, 1996
20. Komeda M, Bolger A, DeAnda A, Tomizawa Y, Ingels N and DC Miller: Improving methods of chordal sparing mitral valve replacement. Part I: A new, non-distorting isovolumic balloon preparation for the left ventricle with intact mitral subvalvular apparatus. J Heart Valve Disease. 5:376-382, 1996
21. Nishida H, Sato M, Uwabe K, Shiikawa A, Tomizawa Y, Endo M, Koyanagi H: Coronary artery bypass grafting with both internal thoracic arteries and the right gastroepiploic artery, J Cardiovasc Surg, 37:471-4, 1996

22. 富澤康子、高梨吉則、野一色泰晴、今井康晴、小柳仁：先天性心疾患の姑息的シャント術に使用された人工血管の変化、人工臓器、26:524-528, 1997
23. 富澤康子、野一色泰晴、西田博、遠藤真弘、小柳仁：人工血管内皮化促進のためのin vivo組織培養における内因性サイトカインの活性化、人工臓器、26:699-703, 1997
24. 富澤康子、西田博、遠藤真弘、小柳仁：各種動脈グラフトの組織学的特性、coronary,14:5-8, 1997
25. 富澤康子、西田博、遠藤真弘、小柳仁：MIDCABにおける工夫、日本冠疾患学会雑誌、3:71-74, 1997
26. 遠藤真弘、西田博、富澤康子、八田光弘、北村昌也、青見茂之、小柳仁：In situ, 3本動脈グラフトによるCABG-何も引かない、何も足さない、coronary,14:59-66, 1997
27. 高梨吉則、富澤康子、野一色泰晴、吉原克則：Blalock-Taussig短絡に用いたEPTFE人工血管壁に石灰化が認められた1症例、胸部外科、50:71-73, 1997
28. 北村昌也、青見茂之、木原信一郎、大塚吾郎、平田欽也、富澤康子、八田光弘、西田博、遠藤真弘、小柳仁：遠隔成績から見た弁膜症手術の術式の選択：弁置換術と弁形成術の比較検討、日胸外会誌、45:406-407, 1997
29. 西田博、前田朋大、上部一彦、八巻文貴、平田欽也、中野秀昭、北村昌也、富澤康子、青見茂之、八田光弘、遠藤真弘、小柳仁：人工心肺離脱困難時の補助循環-導入基準とClinical Impression-、Cardiovascular Anesthesia, 1:95-98, 1997
30. 富澤康子、野一色泰晴、遠藤真弘、橋本明政、小柳仁：綿状コラーゲン製止血材の吸血性、止血性及び純度の評価、胸部外科、39:126-129, 1996
31. 富澤康子、遠藤真弘：心タンポナーデ、最近の傾向と処置法を中心に、循環管理の実際、医学のあゆみ、pp78-81, 1996
32. 富澤康子、野一色泰晴、大越隆文、西田博、遠藤真弘、小柳仁：人工血管の注射針を用いた穿刺に関する一考案、人工臓器、25:230-233, 1996
33. 富澤康子、野一色泰晴、大越隆文、西田博、遠藤真弘、小柳仁：皮下に植え込まれた人工血管の治癒過程におけるbFGFの動向-皮下結合組織片及び骨髄組織の播種による影響-、人工臓器、25:443-447, 1996
34. 富澤康子、遠藤真弘、西田博、小柳仁：医師が患者になったときの冠動脈バイパス術、日医雑誌、115:2091-2093, 1996
35. 西田博、富岡秀行、西中知博、北村昌也、青見茂之、富澤康子、八田光弘、遠藤真弘、橋本明政、小柳仁、有尾幸、中藤三千代、岸田智恵子、西田文子、助川智子、久保田由美子、岡本美樹、東山範康、田島行く雄、鈴木進、近藤泉、白井希明：心臓手術における医師・看護婦・臨床工学技士の連携、薬理と臨床、6:1407-1410, 1996
36. 西田博、富澤康子、遠藤真弘、小柳仁：慢性完全閉塞病変と冠動脈バイパス術、心血管インターベンション、11:321-325, 1996
37. 遠藤真弘、西田博、富澤康子、佐藤志樹、小柳仁：CABTグラフト別の早期

- および遠隔成績、脈管学、36:799-804,1996
38. 西田 博、富岡秀行、西中知博、佐藤志樹、椎川 彰、富澤康子、遠藤真弘、  
小柳 仁、浅野竜太、河口正雄、住吉徹哉、細田瑳一:冠動脈バイパス術後  
の再血行再建術,再バイパス術 vs. PTCA、冠疾患誌、2:182-187, 1996



## この度の研究計画及び成果の概要

東京女子医科大学泌尿器科 合谷信行

### はじめに

この度の研究計画及び成果のエッセンスについて簡単に解説しておきたい。それを理解しておくことで、本研究の全貌が大まかに理解できるであろうし、以下に続く研究成果論文、参考論文を読むに当たっても、一層深い理解が得られるであろう。また同時に、この研究を始めるに当たっての背景についても解説しておくので、それを知ること、この度の研究成果の意味及び役割を浮き彫りにすることができると思う。

### 研究の背景

生殖泌尿器の欠損部に対して、一般的には体の中の他の部分から組織を採取して利用するが、もともとの器官が持つ機能を完全に保持させることは不可能に近い。今回は特に泌尿器の中でも尿管に注目し、組織工学的手法を用いて生体親和性の良好な代用尿管の開発にあたる。

過去において、尿管の移行上皮に関しては分裂能が低く、老化しやすいため培養は困難とされているため、移行上皮の再生についてはほとんど研究されていない。我々は代用尿管の開発段階で生体内における尿管の上皮再生を観察した。この基礎研究においては尿管にステントを留置したときに、植え込み直後は移行上皮が剥離・損傷されていても、良好に再生し、再生した移行上皮の下層には豊富な細小血管が形成されていた。生体内の血管新生をつかさどる生理的活性物質の中では basic fibroblast growth factor (bFGF) が最も強いとされているが、これが同時に尿管壁の上皮の再構築にも関与している可能性があるのではないかと考えた。以上のような状況のもと、耐久性、耐水性に優れた代用尿管の開発およびそれに関わる生理的活性物質の研究にかかる期待はきわめて大きい。

### 研究の目的

生体内において欠損部を埋め、機能する代用尿管を開発するのを目的にしている。この代用尿管において、内因性サイトカインを活性化することにより、治癒を促進し、さらにその尿管の壁内および周囲のbFGFの推移と移行上皮の再生の状態から生理的活性物質の関与状態を追求する。さらに外因性にサイトカインを利用することによりさらに治癒が加速することが可能か検討する。

科学研究費の交付を希望する期間内には代用尿管の開発、この代用尿管におけるbFGFの役割、尿管の移行上皮の再生に関与するサイトカインを中心に研究することにした。また余裕があれば、外因性bFGFの影響をrecombinant bFGFを用いるところまで到達する予定であった。この研究は、尿路の再建に貢献するばかりでなく、将来の泌尿器科における高機能型人工臓器への発展をも目指している。

### 学術的な特色と独創的な点

- ① Tissue engineeringの手法を用いた内因性サイトカイン活性型人工臓器である。
- ② ホモジナイザーの使用では細胞活性が低下するため組織を細切するという刺激で内因性サイトカインを活性化する。
- ③ 自己の組織を移植するので、異物反応、拒絶反応などが問題にならない。
- ④ 人工材料を基礎構築とし、生きた細胞を含有する生体材料を合わせて利用するように代用尿管を設計した、ハイブリッド人工臓器である。
- ⑤ 細胞外マトリックスを化学処理なしに生の状態で組み込んでいるので移植された細胞の培地としての至適条件がそろっている。
- ⑥ 代用尿管の開発は現在では世界でも少ない。
- ⑦ 移行上皮の再生時に血管新生が豊富であつ

たためbFGFの強い関与が疑われるが、泌尿器系の移行上皮の再生にbFGFが関係するのを観察した報告はない。

⑧recombinant bFGFが尿管の移行上皮再生に影響するという研究はされていない。

これらの各点を活かすことにより、最先端のデバイスに発展させることが可能である。昔から自己組織は多用されてきたが、細胞を傷害することにより内因性サイトカインを活性化し、それによって細胞の分裂能を高め、組織治癒を促進し、最終的には尿管の上皮の再生を目指すというように、発想を転換することにより独創的な研究になっていると考えた。

### 予想される結果と意義

このような研究が重要かつ緊急性を有することは明白な事実であり今まで人工臓器の開発に成功してきた我々の実績から考えて困難はなく本研究は必ずや実用化されると考える。また、現在代用尿管がないために漏孔を作成してきた患者の”生活の質”を向上させることに十分に貢献する考える。

### 国内外の関連する研究の中での当該研究の位置づけ

泌尿器学においてgrowth factorの研究はほとんど行われておらず、膀胱の移行上皮にEGFは必要ないとさえいわれていたが、最近ではサイトカインの検出法も進歩し、生体とのつながりが明らかになりつつあるため、内因性サイトカインの活性化を利用した研究は興味を持たれるはずである。代用尿管においてはdonor cellを効果的に用いること、細胞の長期生存、成長のために良好な環境を作ることが重要であるが、膀胱の平滑筋細胞を利用した(Langer, 1990)り、管状にしたコラーゲン製スポンジを尿管として用いた(Mooney, 1994)が失敗しており、細胞のみ用いる方法に比べ我々の細胞及び細胞外マトリックスをサイトカインごと用いる組織片の方が有利である可能性がある。吸収性ポリマーを用いた報告(Olsen, 1992)や吸収性ポリマーに膀胱の平滑筋細胞を播種して培養した報告がある

(Atala, 1992)が、我々の行ったように培養の手間がらず、手術台の上で行える方が優れていると考える。

### 研究計画

現在まで、人工臓器とサイトカインについての研究を行ってきたが、内皮細胞での被覆が遅延する人工血管においてもサイトカインの働きにより血管新生を増強させ、それを内腔面に誘導することに成功した。尿管の移行上皮も分裂が遅延していることに注目し、これを内因性サイトカインの働きにより無理なく促進すれば良いと考えた。I-①で代用尿管の開発を開始し、基礎実験は順調に進んだ。動物実験にても移行上皮の再生と血管新生の関係も明らかになりつつあり十分に準備されている。

#### 1. 代用尿管の設計

基礎構築の選択(吸収性ポリマー、非吸収性ポリマー、高有孔性布製人工血管)、生体材料の選択(自己の皮下結合組織、静脈、血管、膀胱壁、尿管、大網)、処理法の検討(細切方法、圧力注入法)、性状および形態の検討、recombinant bFGFの賦与方法の検討

#### 2. 代用尿管の作成

basic materialに細切した生体材料(自己)を圧力をかけて壁内に播種する。

#### 3. 代用尿管のin vitro安全性評価

in vivo評価をするための

水漏れ試験：代用尿管からのリークを調べる。

basic material, 生体材料、細切条件、壁内注入条件を変えても漏れるようならば吸収性ポリマーで内側から被覆することも考える。

組織培養：作成した代用尿管を培地の条件を尿に近いようにpHを低く設定しておこなう。細胞の増加が好ましい条件を材料面から求める。培地中のbFGFを測定する。

#### 4. 皮下植え込みin vivo実験

動物(雑種成犬)の皮下に作成した代用尿管をクーボン状にして2週間、植え込み組織学的に免疫組織学的に細胞の増殖、遊走能を観察する。また周囲化からの血管新生状況を見る。bFGFを抗体を用いて染色し、陽性になる

細胞の種類、血管新生の部位との関係、治癒の状態とbFGFとの関係を観察する。

#### 5. 急性動物実験

雑種成犬の尿管を作成した代用尿管で置換し、植え込み後の尿漏れ、適合性を24時間観察する。24時間後に標本を摘出し観察する。

#### 6. 慢性動物実験

雑種成犬に全身麻酔下に清潔に作成した代用尿管を長さ5cmに植え込み、3ヶ月間観察する。コントロールとして同じ太さ、長さのテフロングラフトを対側に植え込む。

- 腎盂尿管造影的機能評価：慢性犬の造影を毎月1回行い、形態(腎盂の拡大、尿管の吻合部狭窄)および機能を評価する。
- 超音波的検査：腎臓および尿管の状態を毎月1回検査する。
- 血液生化学的検査：赤血球数、白血球数、BUN、Cr、GOT、LDH、等を検査する。
- 尿検査：尿中の細胞を植え込み直後、1日目、1週間目、2週間目、1ヶ月目、2ヶ月目、3ヶ月目を検査する。
- 血中サイトカイン測定：ELISA法にて検査時に同時に行う。
- 尿中サイトカイン測定：ELISA法にて

#### 7. 病理学的検査

摘出した試料を光顕的に観察する。また走査電顕で移行上皮の被覆過程の観察を行う。また免疫組織学的にbFGFを染色し線維芽細胞、平滑筋細胞および移行上皮の増殖及び遊走の状態を観察する。

### 研究成果と参考論文

今回のプロジェクトで目指した、開存性の良好な代用尿管に関しては、研究開始時には尿管閉塞、尿漏、尿腫等の問題に難渋したが、尿管の開存を得るために用いたステント内面の移行上皮の再生、しかも6ヶ月後に安定している上皮という結果が得られた。この成果をもとにまとめた第一は『組織片のサイトカインにより細胞増殖・遊走が促進し上皮化が速やかな代用尿管の開発』でありこの度の研究成果として学術的にふさわしい論文にまとまっている。

第二及び第三の成果論文は『尿路におけるePTFEグラフト補填に関する研究』であるが、

人工血管として用いられたときに開存が得られ理由としての、「生体の細胞および血栓をはねつける性質」を利用し尿路に用い、『欠損膀胱壁補填におけるePTFE及び膀胱壁の変化について』、および『ePTFE人工尿管』に記載してあるごとくに検討した。その結果、我々の目指した内因性サイトカインを活性化することによる促進された血管新生、また促進された治癒、尿管移行上皮の再生にたどり着いた。

成果論文の後半では、内因性サイトカインの挙動を基礎的に評価した結果をまとめた。そのため治癒が阻害されない皮下組織内において、また内側を血液が、外側を宿主が接するという栄養状態が良好な動脈位にて評価した。さらに人工臓器へのサイトカインの導入の可能性、未来の多機能型人工臓器の理想像について研究した。特に『Endogenous basic fibroblast growth factor for endothelialization due to angiogenesis in fabric vascular prostheses』に記載されているように人工血管においての血管新生は良好であったため、これを尿路にいかに関与させるのが今後の課題となった。

参考論文としては研究代表者が泌尿器科の臨床医としての手術と尿路感染の対策、手術時の輸血を減らす為の自己血輸血法を中心とした論文を、また日本も高齢化社会となりつつあるため高齢者手術、また分担研究者の専門である循環器外科領域から透析患者の心大血管手術の論文を選んだ。我々が未来に向けた泌尿器科領域の人工臓器の開発を試みる上で考えなければならない現実を示した。

#### まとめ

我々が用いた『内因性サイトカインの活性化』は自然現象を活性化して利用したため、器質化が進み生体内で因子が不必要になると効果が消退するという利点があった。この度の研究成果をもとに、人工臓器に適応しやすくさらに改良することが可能であったら幸いである。

## サイトカイン誘導による人工尿管の基礎的実験および Metallic stent尿管内留置後の組織学的検討

東京女子医科大学 泌尿器科  
合谷信行・石 冰冰・石川暢夫・木原 健  
同 循環器外科  
富澤康子

### 【要旨】

われわれは、理想的な人工尿管を求めてイヌを用いた尿管の補填実験を施行した。内因性サイトカインを活性化し血管新生と移行上皮の誘導を試みることを目的に、TF polyester人工尿管とアルコール保存頸動脈の尿管補填実験を行ったが、いずれも内腔の通過性が保持できず、基礎的検討で終わった。次にメタリックステントの尿管狭窄への有用性を検討するために、アキュフレックスステント (ACCUFLEX, Medi-tech, Boston Scientific Corporation 社製) の尿管内留置実験を行った。その結果6ヵ月後の長期観察例において良好な組織親和性と内腔通過性の確保及び炎症や異型性の無い上皮の再生が確認された。このメタリックステントが、今後尿管狭窄の治療法の1つとして地位を確保する可能性を充分有していると考えられた。

### I. はじめに

尿管は腎臓と膀胱を連結する管状の器官であり、腎臓で生成された尿を下部尿路まで運搬する機能を有する。尿管は、代謝や体内物質の生成、分泌、そのコントロール等の役割を担うわけではないが、尿管が傷害されると生体にとって生命の危機を招くような大きなダメージを引き起こすことになる。すなわち尿の通過が障害される結果、尿のうっ滞、ひいては水腎症をきたす。病変が両側に及び両側の水腎症になれば、腎後性腎不全となりうる。このため尿管の閉塞性病変に対しては速やかに解除されるための対策が施行されることになる。尿管の修復が不可能な病態では、腎瘻造設術が施行されるのが一般的である。この手技により腎不全の病態から解除されるが、カテーテルが体表に出ているという状態を余儀なくされることになり、患者にとっては日常生活において肉体的、さらには精神的苦痛を強いられる。自己の尿管の代替え物として人工尿管があり、従来より理想的な人工尿管の開発を目指して、数多くの実験が重ねられてきた。しかしいまだ臨床的に満足でき

る人工尿管は出現していないのが現実である。今回われわれは、既に行ったE-PTFE人工尿管の実験結果を基礎とし、サイトカイン誘導を利用した人工尿管について検討し、さらにmetallic stentの尿管への応用についてイヌを用いて実験を行い、若干の知見を得たので報告する。

### II. 対象と方法

実験動物としては、体重18~20kgの雑種成犬を用いた。麻酔はペントバルビタールによる静脈麻酔を使用した。

実験方法は、尿管の一部を切除しわれわれの用意した人工尿管で置換した。すなわち腹部正中切開で入り、経腹的に後腹膜腔に達し尿管中部を露出した。次に約5cmの尿管を切除し、人工尿管で置換した。尿管とグラフトの吻合には3-0 vicryl縫合糸を用いて連続縫合で行った。またメタリックステントの尿管内留置実験では、中部尿管に1~2mmの切開を入れ、この小孔よりカテーテルに装着されたステントを上方の尿管に向かって挿入した。ステントが上部尿管の予定の位置に達したこ

とを確認後、カテーテルのみを抜去し、尿管切開部は3-0 vicryl縫合糸で2針結節縫合を行った。これらの操作が終わった後、創を3層に閉鎖し、手術を終了した。

術後の検査としては、静脈麻酔下に点滴静注腎盂造影検査(DIP)を行い、人工尿管の通過性および腎盂の形態を検索した。

用いたグラフトは、Tissue fragmented グラフト(TF; N=1)、アルコール保存同種頸動脈(N=3)、膀胱壁グラフト(N=2)であり、また尿管ステントの補填実験を2頭で行った。

TFグラフトは、布製(ポリエステル)のロール状のグラフトに細切した結合組織片を播種して用いた。これは内因性サイトカインを活性化し、グラフトにおける血管新生と移行上皮再生の誘導を目的とするものである。またアルコール保存同種頸動脈グラフトは採取した頸動脈を70%エタノールにて架橋処理し細胞親和性を良好にするために親水性に注目した。膀胱壁グラフトは膀胱壁をロール上に尿管状にして、欠損尿管に補填した。

### III. 結果

(1)TF polyester人工尿管 (14日後) : 肉眼的所見では、グラフトは屈曲しており、グラフトより上部の尿路の拡張、すなわち水腎症、水尿管症を呈していた。グラフト自身は周囲の組織から分かれていた(図1)。

(2)アルコール保存同種頸動脈グラフト (25日後) : グラフトは閉塞しており、尿嚢腫がみられたがグラフト自体の弾性に变化無かった(図2)。しかしグラフト周囲の組織には良好な血管新生がみられた(図3)。

(3)自家膀胱壁グラフト (7日後) : グラフト植え込み時、取り扱い性は良好で尿管に良く適合し(図4)、摘出時にはグラフト内腔は開存していたものの少量の尿漏れがみられた。

(4)尿管ステント (6日後) : ステント部分は開存していた(図5)。ステント挿入部の尿管は茶褐色であり、ステントが尿管内腔に露出していたが、ステントそのものに変化はみられなかった。組織学的には尿管上皮は脱落しており、結合組織 および筋層内に出血を主とした強い炎症所見がみられた(図6)。しかし腎には糸球体の変化や尿細管の拡張な

ど病的変化は認めなかった。

(5)尿管ステント (6ヵ月後) : X線検査(DIP)では、メタリックステントは十分開いており、造影剤の漏れはみられなかった。ステントの直上及び直下の尿管は拡張していたが、上部尿管、腎盂、下部尿管に変形、拡張はなかった。造影剤の排泄も良好で、腎機能もほぼ正常であると考えられた(図7)。

摘出標本では、ステント部の外側は肉眼的には本来の尿管と同様の組織で覆われており、内側面は尿管上皮と区別つかない表面平滑な組織がみられ、ステントが露出している箇所はなかった。ただ吻合部に軽い組織の隆起が観察された(図8)。ステント部分の組織学的検討では、ステント内側に異型性のない移行上皮が低層に再生しており、上皮下には、筋層もみられた。ステント外側は、血管新生を伴った結合組織で包まれていた。腎臓の組織所見であるが、糸球体はほぼ正常所見を示しており、尿細管も拡張はなく浸潤細胞もみられなかった。少なくとも尿路に起因する病変は指摘できなかった(図9 & 10)

### IV. 考察

上部尿路とくに尿管の閉塞性疾患は、腎機能に重大な影響を及ぼすため、早急に外科的治療が必要とされる。

尿管の修復不能の障害に対し、自己尿路以外の補填材料として、多くの材質が検討されてきた。生体材料としては、動脈、静脈、筋膜、犬、皮膚、卵管、腸管などの使用が試みられたが、臨床的に使用されたのはもっぱら腸管だけであり、それも現在ではほとんど使用される機会のないのが実状である。これに対し人工的合成材料として、glass, rubber, silber, vitallium<sup>5)</sup>, tantalum<sup>6)</sup>, polyethylene<sup>7) 8) 9)</sup>, polyvinyl<sup>10)</sup>, teflon<sup>11) 12) 13)</sup>, silicone<sup>14) 15) 16) 17) 18)</sup>が人工尿管としての適合性を動物実験で検討されたが、良好な結果が得られたものは少ない。失敗の原因としては、尿漏、吻合部の痂皮の形成および狭窄、さらにグラフトの移動などが問題とされてきた。

人工尿管の備えるべき資質としては、1)耐水性および耐久性にすぐれていること、

- 2)内腔が保持されること、
- 3)良好な尿流が保持されること、
- 4)生体適合性が良好なこと、があげられる。

われわれはすでに長さ4cmのE-PTFEグラフトを、人工尿管として、自己移植したイヌの腎盂と膀胱の間に移植し、9頭において最長21ヵ月観察した結果、次の結論<sup>1) 2)</sup>を得ている。すなわち、

- 1)いずれの時期においても尿瘻はみられなかった。1例においてグラフトが脱落したために膀胱結石が形成されたが、他の8例では結石形成はみられなかった。
- 2)9例のうち5例において、腎臓の組織学的所見は正常であった。残り4例は水腎症を示したが、このうち器質的尿路通過障害が存在したのは2例で、原因はグラフトの屈曲およびグラフト脱落後の肉芽組織による狭窄であった。
- 3)E-PTFEグラフト自体はほとんど変化を示さず、エオジン好性の無構造物質の侵入がみられるのみであった。
- 4)E-PTFEグラフトは、ある一定期間において人工尿管として機能するが、やがて脱落する。これは、グラフト周囲に再生上皮を伴った肉芽組織が発達するためであろう。しかし、この新生尿管ともいふべき管状構造物が、尿を運搬する機能を示すことが示唆された。

E-PTFEグラフトを人工尿管として用いた Dreikornら、Varady等、および三輪らは、E-PTFEグラフトそれ自体が人工尿管として機能する可能性を示唆している。しかしわれわれは動物実験より、長さ約4cmのE-PTFE尿管は、生理的に最終的には尿路より排除される運命にあるが、ある一定期間においては尿漏、結石形成、重篤な感染症がなく尿路における適合性は良好で腎機能を保全しつつ尿を通過させることが可能である、という結論を得た。

上記のように尿路において異物として認識される物質は、結局排除される機転にあると考えられる。この機転には、上皮の再生がグラフトの外側に起こるといふ現象に合致する。例えばE-PTFEが人工血管として用いられた場合、移植後3～4週で、E-PTFE内腔表面の全長にわたり薄いneointimaが新生する。この

頃、E-PTFE壁内には線維芽細胞の侵入がみられる。さらに4～5ヵ月後には、E-PTFEの壁全層において線維化が進む。このように管状構造をもった人工的補填物質が生体内で機能を保持するためには、管腔の内面に上皮の再生がみられ、壁自体は何らかの器質的変性により組織内に埋没することが必要であろう。

今回われわれは、尿管補填実験において、サイトカインの誘導を図ることにより、人工尿管の組織への親和性、再生過程の増進が起こるのではないかと推測した。

この目的のためにわれわれは、まずTFグラフトの人工尿管としての可能性を検討した。しかしこの人工尿管は、14日間の観察にて水腎症を呈していた。この原因は尿管の構造上の軟らかさにあると判断された。すなわち尿管に吻合された後に尿管の内腔が保持されず、その結果尿管が屈曲して水腎症を起こしたのである。

アルコール保存頸動脈は、われわれの実験では補填後25日目に機能していなかったが、手技的問題も否定できず、また数も少ないため人工尿管としての可能性についての結論は言及できないと考えている。

膀胱壁グラフトは膀胱上皮が尿管上皮同様の移行上皮であること、臨床的には尿管と膀胱の吻合は問題なく行われていることを考慮すれば、組織親和性については問題ないであろう。しかし、フリーグラフトとして使用する場合の処理方法には工夫を要すること、実際に自己膀胱壁から必要な膀胱壁を採取したときの残された膀胱の排尿機能を考慮する必要があることが今後の課題であろう。いずれにしても今回のわれわれの実験は基礎的検討の準備のみで終わったといえる。

上部尿路閉塞の原因としては、先天性疾患を除けば悪性疾患によるものが一番多い。すなわち悪性腫瘍が後腹膜腔に浸潤した結果、尿管が狭窄または閉塞されることになる。このような病態に対しまず行われる上部尿路確保のための対策は、経尿道的尿管ステント留置術であり、これが不成功の場合には腎瘻造設術が行われることになる。

尿管のステントとしては、腎盂から膀胱までの全尿管に対して留置される、両端がJ型

をしたdouble-J stentが一般に使用されている。このステントは尿管の内腔をその直径の太さで確保するものであるが、狭窄に対し拡張する機能は有していない。このため外側からの強い圧排が生じた場合には、尿の通過を確保できなくなり、結局経皮的腎瘻造設術を余儀なくされる。経皮的腎瘻造設術は腎機能を保持できるとはいえ、腎臓に穿刺することにより何らかの組織傷害を避けることができず、また体表からカテーテルが留置されているという患者の精神的および肉体的苦痛は言葉では言い表せないものである。また膀胱に接している末梢のJ型の部分は膀胱刺激症状を引き起こす。患者は、下腹部不快感に始まり、頻尿、残尿感、排尿痛を訴え、肉眼的血尿を示すことも少なくない。このステントは常に尿路内に存在する状態が続くため、異物として尿路感染の原因となり、細菌性腎盂腎炎や膀胱炎も起こる。

われわれが今回尿路における有用性を検討した尿管ステントは、アキュフレックス胆管用ステント(ACCUFLEX, Biliary Stent System; Self-expanding for biliary malignant structures: Medi-tech, Boston Scientific Corporation社製)であり、すでに胆管用としては有効性が認められている。このメタリックステントは、狭窄部をかなりの拡張力により広げ、内腔を確保できる機能を有する<sup>3) 4)</sup>。

今回の実験において6ヵ月の長期留置後の成績では、尿の通過性は保たれているのが確認された。この4~6cmのadynamic portionが、上部尿路の対し尿のうっ滞を招くのではないかと心配されたが、上部尿管の拡張も腎盂の拡大も認められなかった。さらに腎実質の組織学的所見もきわめて良好であった。すなわち短い部分の尿管の蠕動の欠如は、その上下の尿管の蠕動が正常に保たれていれば導管として尿を通過させる機能を果たしていることが示唆された。さらに驚くべきことは、ステント内腔が再生上皮により被覆されていたことである。通常異物が存在する場合の再生組織は、異常な炎症性の反応を示し多少とも乳頭状の変化を示すものと予想されたが、われわれの実験結果では、再生上皮はきわめて低

層で異形性もなく、ほとんど正常の上皮に近かった。

ここでステント留置6日後の尿管の組織が、ステント挿入時の操作に起因する尿管上皮の脱落を示していたことを考えると、この再生上皮は、ステントの外側に存在した尿管の組織が、ステントの強い外側への圧迫によりステントの内腔に進展してきたものか、あるいはステント両端から上皮が再生し延長してきたものかは現時点では不明であり、今後の検討に解答を委ねる必要がある。

悪性腫瘍が原因の尿管狭窄では、患者の予後が通常数ヵ月、長くても1年前後と短い。アキュフレックス尿管ステント留置実験において6ヵ月後にも良好な組織親和性と、十分な内腔の保持、さらには異物反応のきわめて少ない内膜再生が得られたことは重要なことである。すなわち症例を選べば、アキュフレックス尿管ステントは、腎後性腎不全に対する尿管内留置物質として、十分臨床応用する価値のあることが確認された。さらに6ヵ月以降の長期の変化を検討することにより、この尿管ステントはさらに適応を広げる可能性を有している。

## V. 文献

- 1) 尿路におけるE-PTFEグラフト補填に関する研究；第1報 欠損膀胱壁におけるE-PTFEおよび膀胱壁の変化について、日泌尿会誌、77, 813-821, 1986.
- 2) 尿路におけるE-PTFE(Expanded-polytetrafluoroethylene)グラフト補填に関する研究；第2法 E-PTFE人工尿管、日泌尿会誌、78, 1923-1922, 1987.
- 3) Lopez-Martinez, RA, Singireddy S and Lang, EK: The use of metallic stents to bypass ureteral strictures secondary to metastatic prostate cancer; Experience with 8 patients. J Urol., 158, 50-53, 1997.
- 4) Barbalias, GA, Siablis, D Liatsikos, EN et al.: Metal stents: A new treatment of malignant ureteral obstruction. J Urol., 158, 54-58, 1997.

- 5) Lord, JW, Jr., Stefko, PL, and Stevens, AR.  
:On bridging a gap in the ureter by  
means of a free fascial transplant  
over a strighth vitallium tube.  
A experimental study. J Uol, 49, 249-  
254, 1943.
- 6) Lubash, S: Experiences wuth tantalum  
tubes in the reimplantation of the  
ureters in the sigmoid in dogs and  
humans. J Uol, 57, 1010-1027, 1947.
- 7) Herdman, JP: Polyethylene tubing in  
experimental surgery of the ureter.  
Brit J Surg, 37, 105-106, 1949.
- 8) Tulloch, WS: Restoration of the continu-  
ity of the ureter by means of poly-  
ethylene bubing. Brit J Urol, 24, 42-  
45, 1952.
- 9) Scher, AM, Erickson, RV, and Scher, M:  
Polyethylene as partial ureteral pros-  
thesis in dogs. J Urol, 73, 987-989,  
1955.
- 10) Ulm, AH and Lo, MC: Total bilateral  
polyvinyl ureteral substitutes in the  
dogs. Surgery, 45, 313-320, 1959.
- 11) Ulm, AH and Krauss, L: Total unilateral  
teflon ureteral substitutes in the  
dogs. J Urol, 83, 575-582, 1960.
- 12) Kocavara, S and Zak, F: Ureteral substi-  
tution with dacron and teflon prosthe-  
sis. J Urol, 88, 365-376, 1962
- 13) Warren, JW, Jr., Coomer, T, and Fransen, H  
: The use of teflon grafts for replace-  
ment of ureters. II, J Urol, 89, 164-166,  
1963.
- 14) Blum, JA, Skemp, C, and Reiser, M: Sili-  
cone rubber ureteral prosthesis. J  
Urol, 90, 276-280, 1963.
- 15) Stern, A, Apoil, A., Thony, H et al.: A  
silicone polyester prosthesius for  
ureteral replacement. Trans Amer Soc  
Artif IntOrgans, 19, 370-375, 1973.
- 16) Dufour, B and Blodel, P: The prosthetic  
replacement of the ureter. Eur Urol, 1,  
134-139, 1975.
- 17) Sculmann, CC, Vandendris, M,  
Vanlanduyt, et al: Total replacement of  
both ureters by prosthesis. 2, 89-91,  
1976.
- 18) Auvert, J: Review; Trends in alloplastic  
replacement of segments of the urinary  
tract. Urol Res, 4, 143-145, 1976.



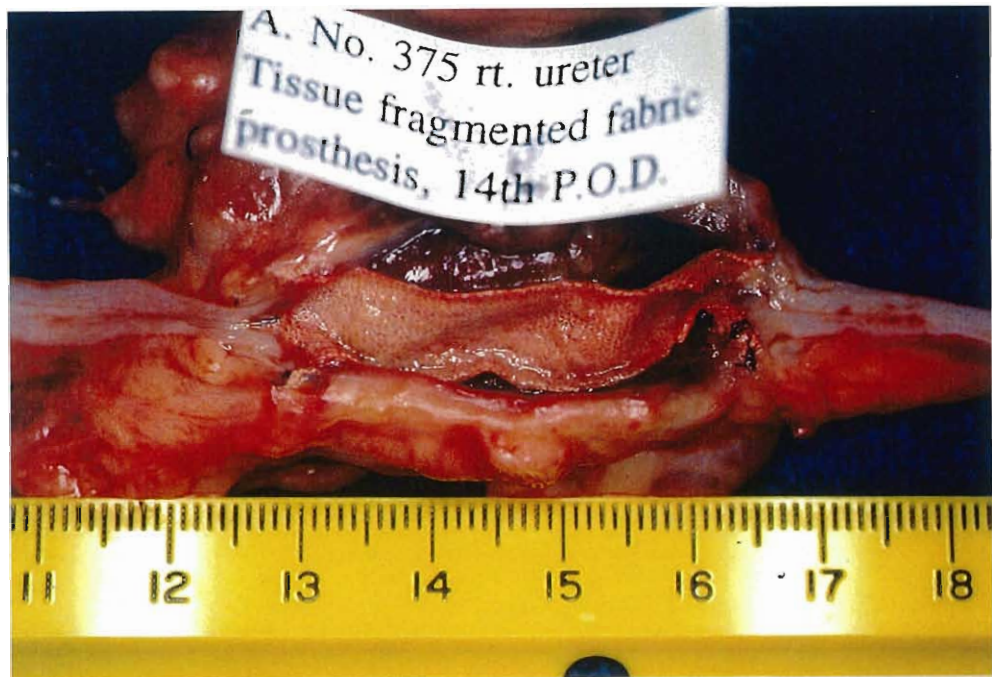


図1 Tissue fragmented polyester人工尿管(14日目)の摘出時肉眼的所見グラフトが周囲の組織から遊離している。

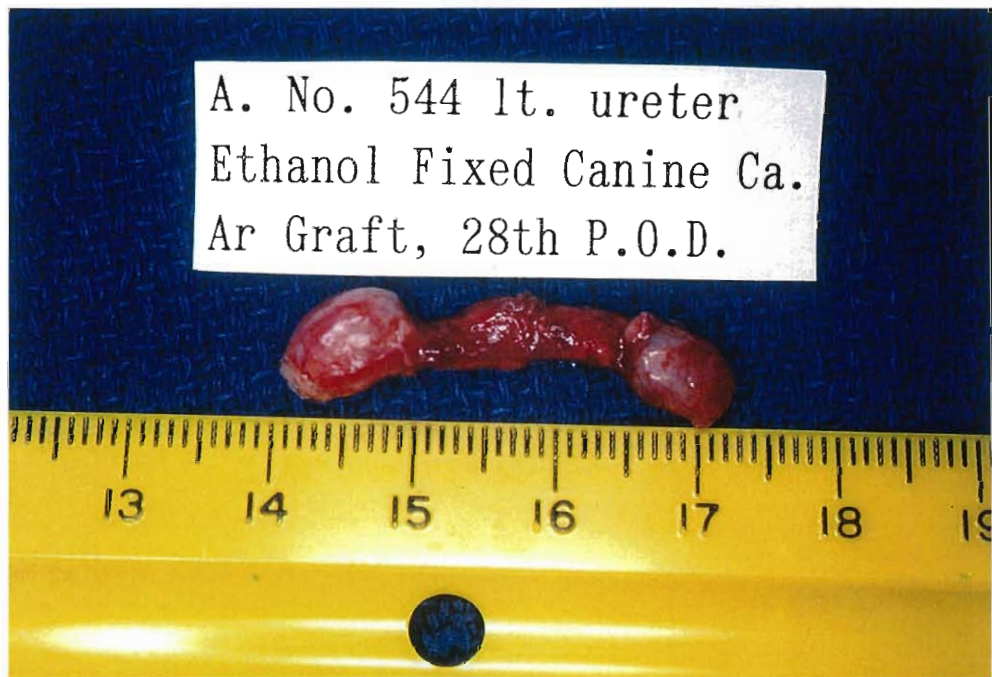


図2 アルコール保存同種頸動脈グラフト(28日目)の摘出時肉眼的所見周囲に疎性結合組織が形成されていた。グラフト自体の異物反応は少ない。



図3 アルコール保存同種頸動脈グラフト(25日目)の肉眼的所見  
グラフト外側組織に血管新生が観察される。

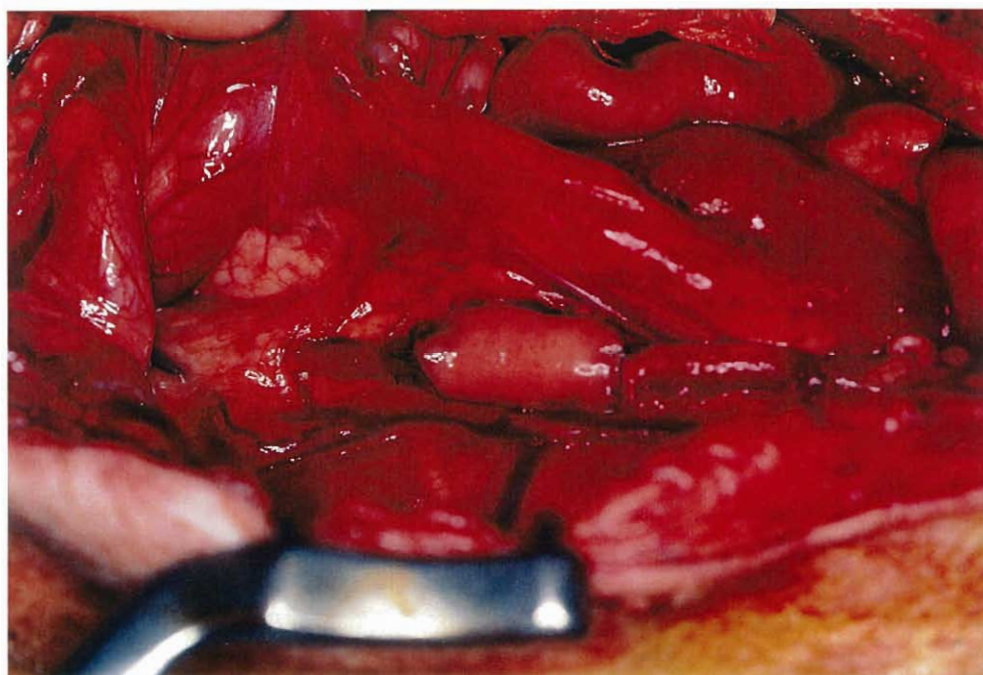


図4 自家膀胱壁グラフトの植え込み時肉眼的所見  
グラフトは尿管へのフィッティングは良い。



図5 尿管ステント留置6日目、摘出時肉眼的所見  
ステント部分は開存し平滑であるが、茶褐色をしている。

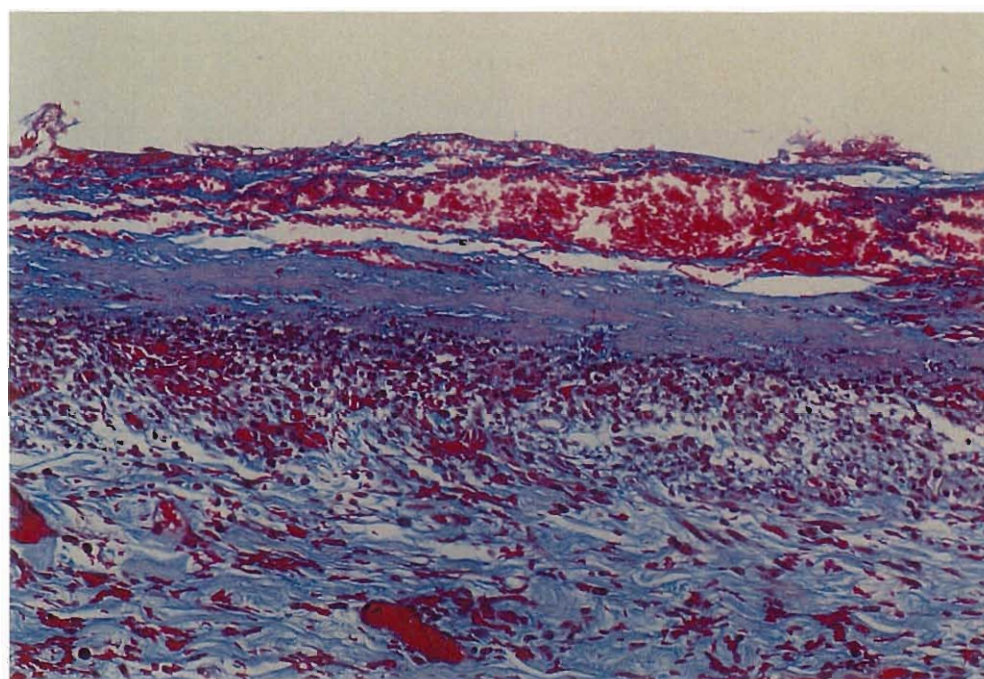


図6 尿管ステント(6日目)組織学的所見(x50)  
上皮層内および筋層内に出血を主とした強い炎症所見が見られる。



図7 尿管ステント(6ヶ月後)の造影所見  
ステントの直上及び直下の尿管は拡張していたが、上部尿管、  
腎盂、下部尿管に変形、拡張はなかった。



図8 尿管ステント(6ヶ月目)の摘出後肉眼的所見  
内面は平滑で、ステントは露出していない。



図9 尿管ステント(6ヶ月目)組織所見(x10)  
ステントの周囲の治癒も良好で、異物反応も見られない。

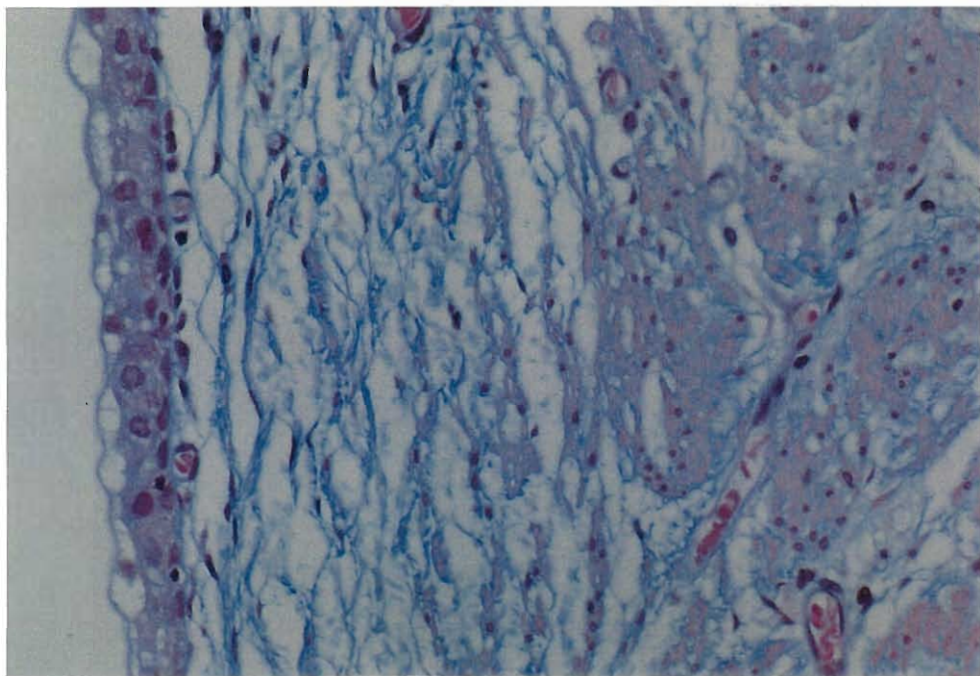


図10 尿管ステント(6ヶ月目)組織所見(x100)  
内側に異型性のない移行上皮が低層に再生しており、上皮下には筋層も見られた。血管新生も豊富