

論文の内容の要旨

論文題目「気管・気管支の術後損傷部治癒促進治療の開発：

骨格筋由来幹細胞と吸収性ポリグリコール酸フェルトのハイブリッド

移植法を用いた生体内三次元的神経-血管構築」

学位申請者 中里 顕英

キーワード：CD31、N200、気管・気管支、肺、気管支断端瘻

【背景】 肺癌の根治には原則として外科的に完全切除することが最低条件であり、現時点においては手術こそが肺癌を治癒せしめるただ一つの確立された方法であると考えられる。しかし、肺は肺門を幹とした樹枝状構造であり、肺実質に生じた癌組織は主に肺静脈、リンパ管、気管支粘膜を伝って肺の中樞方向へ浸潤する性質を持っている。このため肺癌に対する手術療法は主病巣の存在する肺葉全体と肺門・縦隔リンパ節の切除が基本となる。さらに、気管・気管支は軟骨を主体とした臓器であるため、血流に乏しく、また、縫合不全も起きやすい。さらに上記のリンパ節郭清による末梢循環障害が加わることで、重篤な合併症の一つである「気管支断端瘻」の発症リスクが高まる。気管支断端瘻はほぼ全例が難治性膿胸に至ることから予防必須の事象であるが、それには気管支断端が治癒するための十分な血流確保が必要とされる。

【目的】 本研究では、筋・神経・血管をユニットとして再構築する能力を有する「骨格筋由来多能性幹細胞」とPGAフェルトのハイブリッド移植を用いて、通常、生体内において移植細胞群を定着・限局（拡散防止）させることが困難な場所に凝集させ、神経・血管を3次元的に再構築することを試みた。即ち、大幅に欠損した気管及び肺切除後の気管支断端部における神経・血管構築を促進し、述部の治癒促進を試みた。

【方法】 GFP-Tgマウス骨格筋をコラゲナーゼで処理し、幹細胞群を抽出した後、3日間増幅培養を行った。増幅した幹細胞群を、吸収性ポリグリコール酸フェルト（組織代用人工

繊維布：ネオベール、グンゼ）に吸着させることで拡散防止化をはかり、同系正常マウスをレシピエントとして、以下のモデルに移植した；即ち、1）血流に乏しく、かつ呼吸による物理的な吸引作用を受ける場所として、気管大きく開口し、「気管支損傷モデル」とした。

2）実際に、左肺を切除し、血流に乏しく、定着に際して不安定な場所として、気管支断端部を選択し、「気管支断端モデル」とした。移植2, 3, 6, 8, 10週後に損傷組織を摘出し、免疫組織学的検索、及びRT-PCRによる移植細胞群のパラクライン効果の測定を行った。

【結果】 4週後、移植細胞は吸収フェルト内に止まり、限局した状態で着床していた。着床細胞は、血管内皮細胞（CD31陽性）、血管平滑筋（ α SMA陽性）、Schwann細胞（p75陽性）に分化し、神経・血管網の立体的再構築に貢献していた。加えて、移植2週間で、気管及び気管断端に移植した細胞群は神経・血管増殖、栄養因子mRNAを活発に発現していたことから、パラクラインによる周辺組織への再生促進にも貢献していることが示唆された。さらに、移植8週間後には、フェルト剤はほぼ完全に吸収されていた。

【考察】 今回の結果より、骨格筋由来幹細胞と吸収性ポリグリコール酸フェルトのハイブリッド移植法が、移植細胞の拡散防止に極めて有効であることが示された。加えて、吸収フェルトは生体内での幹細胞分化に、何ら悪影響を与えることなく、移植細胞の神経・血管再構築への貢献が認められると同時に、パラクライン効果も期待できることも明らかとなった。これらの結果は、これまでの骨格筋由来幹細胞を用いた、外科的腫瘍切除に伴う大幅な神経・血管網欠損を補う方法(sheet-pellet法)の発展型として、さらに「細胞限局と剛性」を強化した方法として期待できるものである。現状、申請者らは、本方法が肺切除に伴う気管支断端瘻の予防に役立つ可能性あるものとして期待している。