

# 濱田隆志 論文内容の要旨

主 論 文

## Bile duct reconstruction using scaffold-free tubular constructs created by Bio-3D printer

(Bio-3D プリンターで作製した scaffold free の管状構造体を用いた胆管再建)

濱田隆志、中村アンナ、曾山明彦、堺 裕輔、三好敬之、山口 峻、日高匡章、  
原 貴信、釘山統太、高槻光寿、紙谷聡英、中山功一、江口 晋

(Regenerative Therapy • 16 巻 81—89 2021 年)  
〔9〕

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻  
(主任指導教員：江口 晋 教授)

### 緒 言

胆道手術や肝移植などの手術後の合併症として生じる胆道狭窄に対してステントによる治療が行われているが、定期的な交換が必要であり、患者の QOL 低下につながっている。これまでに胆道狭窄を治療するために scaffold(足場)を用いた人工胆管の報告はあるが、異物である scaffold は炎症を引き起こし感染のリスクも高く、臨床応用されたものない。そこで、細胞のみで構成された scaffold free の管状構造体を作製できる Bio-3D プリンターを用いて、初めて人工胆管を作製することとした。

今回、胆管狭窄部を置換することが可能な scaffold-free である細胞のみで構成されたバイオ人工胆管を作製し、その治療への応用の可能性を明らかにすることを目的として本研究を行った。

### 対象と方法

家畜ブタから真皮を採取後、Explant 法で線維芽細胞を培養・増殖し、Bio-3D プリンターによってブタ由来線維芽細胞のみの管腔構造体(バイオ人工胆管)を作製した。はじめにブタの生来胆管と作製したバイオ人工胆管に対して牽引試験を行い、強度を比較した。次に、5 匹のブタで総胆管を切離し、同部位に別の家畜ブタの線維芽細胞を用いて事前に作製していたバイオ人工胆管を同種移植した。移植から摘出までの 2 週間、抗生剤と免疫抑制剤を連日投与した。術後 2 週目に全肝を含めて標本を摘出した。移植前と摘出術前に体重を測定し、術前と術後 1、2 週目に血液検査(AST、ALT、T-Bil、ALP、 $\gamma$ -GTP、Crea)を行った。血液検査の結果は総胆管吻合のみを行った群のデータと比較検討した。摘出した全肝の胆管に造影剤を注入し、X 線撮影、また Micro-CT による画像評価を行った。胆管移植部に関して、免疫染色(CK7、CK19、CD31)を含む組織学的評価を行った。

## 結 果

バイオ人工胆管の最高強度は 4.6 N と生来胆管の 13.4 N より低かったものの、実際に吻合するには十分な強度を有していた。血液検査では術前から術後 2 週目まで肝胆道系酵素の上昇は認めなかった〔AST(IU/L):34(POD0) vs 46(POD14), ALT(IU/L):50 vs 68, T-Bil(mg/dL):0.041 vs 0.091, ALP(IU/L):691 vs 550,  $\gamma$ -GTP(IU/L):36 vs 50, Cr(mg/dL):0.67 vs 0.67〕。総胆管吻合のみを行った群との比較では、ALT で有意差を認めたが(POD7, POD14  $p < 0.05$ )、そのほか有意差は認められなかった。摘出した標本での胆道造影では造影剤の漏出や吻合部、非吻合部ともに狭窄所見を認めず、肝内胆管の拡張も認めなかった。組織学的検査ではバイオ人工胆管が残存し、レシピエント胆管との連続性を認めた。内腔側には肉芽組織が存在し、外層は線維性癒痕組織により胆管壁が厚くなっていた。バイオ人工胆管の内腔への胆管上皮細胞の伸展(CK7、CK19 による評価)は確認できなかったが、人工胆管周囲組織と吻合部近傍に血管新生(CD31 による評価)を認めた。

## 考 察

本研究にて線維芽細胞を用いた scaffold-free の管腔構造体が、人工胆管として移植可能であることが明らかとなった。線維芽細胞を用いた理由は線維芽細胞を容易に培養でき、機械的強度が期待できたためである。また、本研究で作製したバイオ人工胆管の強度は縫合可能であるほど十分に高く、また胆汁による化学的的刺激にも耐えられることも明らかとなった。

吻合部狭窄の大きな原因の一つが虚血による局所炎症である。本研究では吻合部狭窄は認めなかった。その理由として、免疫組織化学的所見においてバイオ人工胆管の管内と吻合部側面に新生血管が存在していることから、吻合部に十分な血液を供給していたことにより狭窄が生じなかったと考えられる。胆道上皮においても新生血管は不可欠であり、管腔内で血管新生が認められたことにより長期観察によって周囲より伸展する可能性があり、さらなる研究が必要である。

組織工学によって生成された生体適合性の高い scaffold は臨床的応用が期待される一方、レシピエントの免疫反応、分解産物の長期的な安全性や感染リスクなどの問題も含んでいる。本研究で作製した scaffold free の管状構造体は細胞のみで構成され、生体適合剤は使用されていないため、アレルギーや感染症のリスクが軽減され、また scaffold の分解産物がないため、毒性の懸念がない。

本研究で用いた線維芽細胞は患者自身の皮膚から簡便かつ低侵襲で採取でき効率的に培養可能であり、自家移植への臨床応用を考える際に有用な細胞源と考える。

本研究により、細胞による scaffold-free の管状構造体を用いた人工胆管の移植の実施可能性を大動物モデルで証明した。今後、長期例での有効性、安全性や組織学的変化を明らかにすることにより、胆道狭窄に対する革新的な再生治療法につながる可能性がある。

(備考) ※2000 字以内で記述。 A4 版。 1950 字