



Title	DEVELOPMENT OF A PORCINE ACELLULAR BLADDER MATRIX FOR TISSUE ENGINEERED BLADDER RECONSTRUCTION
Author(s)	出口, 幸一
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/87896
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	出口 幸一
論文題名 Title	DEVELOPMENT OF A PORCINE ACELLULAR BLADDER MATRIX FOR TISSUE ENGINEERED BLADDER RECONSTRUCTION (組織工学を用いた膀胱再建のためのブタ由来脱細胞化膀胱マトリックスの開発)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 先天性疾患や腫瘍性疾患に起因する末期膀胱機能不全では、膀胱容量低下・膀胱コンプライアンス低下・神経因性膀胱を来し、膀胱尿管逆流や尿失禁等の症状により患者QOLが著しく低下する。腸管を利用した膀胱拡大術は末期膀胱不全患者に対する膀胱再建術として標準的に行われており、多くの症例のQOL改善に寄与してきたが、一方で感染、結石形成、悪性化などの術後長期にわたる重大な合併症を来すことが指摘されており、代替手段の確立が必要である。脱細胞化法は、種々の天然由来細胞外マトリックスを作成する手法として注目されている。今回、天然由来脱細胞化膀胱マトリックスを作成するプロトコルを確立し、脱細胞化膀胱の構造のおよび機能的特性を検討することで、組織工学的に作成する新規代用膀胱の足場としての利用可能性を評価することを目的とした。 〔方法 (Methods)〕 ブタ膀胱組織を用いて、蠕動ポンプとDetergent-Enzymatic Treatmentを用いた動的脱細胞化プロトコルを確立した。経尿道的カテーテルを膀胱内に挿入し、尿管は根部にて結紮した。脱細胞化には4% Sodium deoxycholateと2000 kU DNase-Iを使用した8時間の処理を1サイクルとし、必要サイクル数を最適化した。蠕動ポンプを用いて、脱細胞化液を10ml/時で持続的に注入した。脱細胞化膀胱組織は、組織学的評価 (Hematoxylin & Eosin, Masson Trichrome, Elastica van Gieson, Picosirius Red染色)、電子顕微鏡を用いた超微細構造 (Scanning Electron Microscope, Transmission Electron Microscope)、コラーゲン/グリコサミノグリカン/DNA定量化、生体力学的テストで多角的に評価し、正常膀胱組織と比較した。さらに脱細胞化膀胱組織の膀胱壁コンプライアンスと血管新生特性(トリ絨毛膜 [CAM] アッセイ) を評価した。統計学的検定はt検定を使用し、P値0.05以下を有意水準とした。 〔結果 (Results)〕 脱細胞化膀胱組織の組織学的評価では、1サイクルの動的脱細胞化プロトコルにより細胞核成分は完全に除去され、一方で組織マトリックス構造や支配血管が保持されていることが確認された。超微細構造評価では、脱細胞化膀胱組織から細胞成分が除去された一方で、微細構造(粘膜、粘膜下組織、筋層)が保持されていることが確認された。脱細胞化膀胱組織のDNA量は$0.01 \mu\text{g}/\text{mg}$で、正常膀胱組織のDNA量($0.13 \mu\text{g}/\text{mg}$)に比べて有意な低下を認めた($p<0.01$)。コラーゲン量は脱細胞化組織と正常膀胱組織で同等であり、グリコサミノグリカン量は脱細胞化により低下するものの組織内に保持されていた。脱細胞化膀胱組織は、引張強度(0.259 ± 0.022 vs 0.116 ± 0.006, respectively, $p<0.0001$)と剛性(0.00075 ± 0.00016 vs 0.00726 ± 0.00216, $p=0.011$)が正常膀胱組織と比較して増加した。CAMアッセイでは、6日後には新生血管数が有意に増加した($p<0.01$)。尿流動態検査では、脱細胞化膀胱組織は膀胱容量と膀胱壁コンプライアンスを維持または増加させた。 〔総括(Conclusion)〕 今回確立した動的脱細胞化により、構造的特徴を保持し、正常膀胱組織と比較して強度とコンプライアンスの高い脱細胞化膀胱組織の作成が可能であった。さらに、脱細胞化膀胱は血管新生誘導能を示した。本脱細胞化膀胱は、膀胱拡大術を必要とする患者のための新規組織工学的膀胱の足場として有用である可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 出口 幸一			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	奥山 宏臣
	副 査	大阪大学教授	野々村 祝夫
	副 査	大阪大学教授	宮川 繁

論文審査の結果の要旨

末期膀胱機能不全に対する膀胱機能再建術として、腸管を利用した膀胱拡大術が行われ一定の成果が見られる。一方、本術式は術後長期にわたる合併症を来すことが指摘されており、代替手段として再生医療技術を利用した膀胱再生の臨床応用が期待されている。本研究では、膀胱に由来する細胞外マトリックスは人工材料と比較して優れた膀胱再生基材となりうるとの仮説のもと、膀胱細胞外マトリックスが開発された。ブタ膀胱組織を用いて、動的脱細胞化プロトコルが確立された。1サイクルの動的脱細胞化プロトコルにより細胞核成分は完全に除去され、一方で組織マトリックス構造、微細構造、支配血管が保持された。脱細胞化膀胱組織は、引張強度・剛性・膀胱壁コンプライアンスが正常膀胱組織と比較して増加した。さらに脱細胞化膀胱組織は新生血管を誘導した。以上の結果より、本脱細胞化膀胱は、膀胱拡大術を必要とする患者のための組織工学的膀胱の足場としての有用性が期待され、学位に値すると考える。