

自己幹細胞を分化、誘導した喉頭、気管の再生

課題番号：14370541

平成 14 年度～平成 16 年度科学研究費補助金

基盤研究（B）（2）研究成果報告書

平成 17 年 3 月

研究代表者 金 丸 眞 一

（京都大学・医学研究科・助手）

はしがき

組織再生医工学的手法により声帯、甲状軟骨、輪状軟骨を中心とした喉頭、気管の再生および声帯の支配神経である反回神経の再生を試みた。イヌを用いた動物実験の良好な成績を背景に、輪状軟骨、気管、反回神経をはじめとする脳神経の再生については当初の研究計画どおり臨床応用段階に入った。現在、臨床応用を施行した症例は総数 10 例を超えており、その基礎疾患は悪性腫瘍あるいは先天奇形による障害であるが、特記すべき後遺症もなく良好な経過をたどっている。

本研究により、再生医療の喉頭、気管への応用が本格化することとなった。

研究組織

研究代表者：金丸 眞一（京都大学大学院医学研究科・助手）
分担研究者：田中 信三（京都大学大学院医学研究科・助教授）
中村 達雄（京都大学再生医科学研究所・助教授）
大森 孝一（福島県立医科大学・医学部・教授）
平塚 康之（京都大学大学院医学研究科・助手）
福島 英行（財団法人田附興風会・第 4 研究部・研究員）

交付決定金額

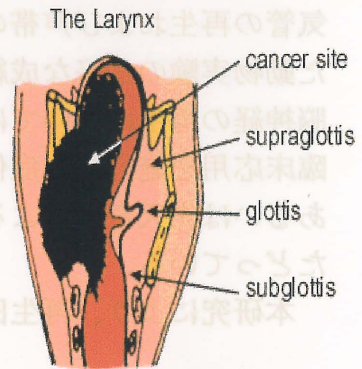
（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 14 年度	4,600	0	4,600
平成 15 年度	5,000	0	5,000
平成 16 年度	3,200	0	3,200
総 計	12,800	0	12,800

A. 研究目的

進行した下咽頭癌、頸部食道癌および喉頭癌では、癌の発生部位によっても切除範囲は異なるが、喉頭全摘出術を施行するのが一般的である。これは、不十分な形態での喉頭の温存は癌の再発を招くばかりでなく、摂食の際の嚥下困難や誤嚥を来し、結局は、喉頭の摘出という結果になることが多いためである。一方、喉頭は気道の一部であると共に発声器官でもあることから、喉頭を摘出することは、発声機能の喪失と呼吸のために頸部に永久気管孔を設けることを意味し、これを余儀なくされた患者にとって、仮に癌そのものから開放されたとしても、その後の患者自身の社会生活や精神面に計り知れない重大な影響を及ぼす。これに対し、喉頭の枠組みを部分的にでも再生させることができれば、より完全な形態で喉頭を温存することができる。このことは、癌の再発率を低下させながら、嚥下困難や誤嚥という後遺症をなくし、発声機能を保存でき、永久気管孔も不要となる。

頭頸部領域の臓器再生研究は、現在のところほとんどなされていない。とくにわれわれ行っている声帯を含めた喉頭およびその周辺臓器の再生研究は気管を除き皆無である。しかし、発声、嚥下、呼吸に關与する喉頭およびその周辺臓器の重要性は言うまでもなく、喉頭癌や頸部食道をはじめとする悪性腫瘍に対して、これらの機能を温存する治療法の開発は急務である。これまで国内外で報告されてきた喉頭機能を温存する治療法は、欠損部分の再建という旧来の手術法の改良でしかなく、出来上がった喉頭は機能・形態ともに正常とはかけ離れたものである。このような状況から、外傷や頸部悪性腫瘍をはじめとする疾患により、失われた喉頭およびその周辺臓器の再生およびより自然な呼吸・発声機能の回復を目標とした研究を立案した。再生に含まれる臓器は、喉頭(声帯を含む)、反回神経(声帯の支配神経)、気管などである。



喉頭摘出

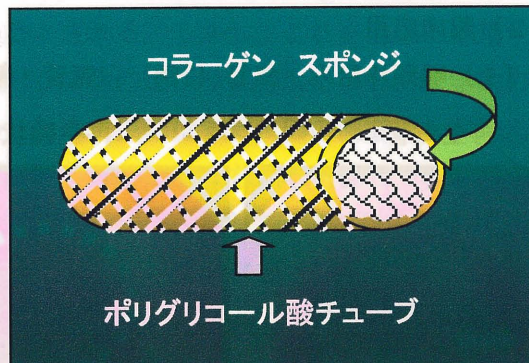
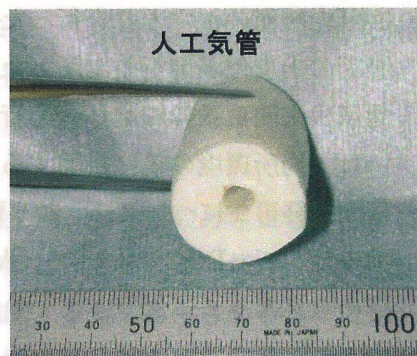
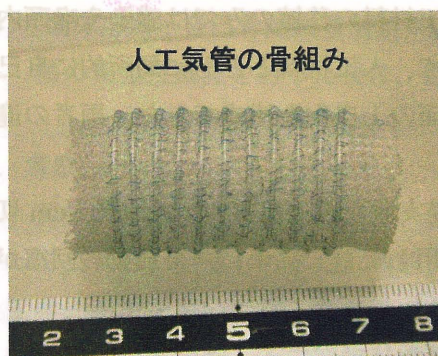


喉頭再生

B. 研究方法

1. 喉頭枠組みと周辺臓器の再生

1) 基礎実験：気管、輪状軟骨、反回神経の再生については、様々な癌の浸潤範囲を想定して、ビーグル犬で部分的に喉頭、気管および周囲組織の切除を行い、その欠損部分に最適形状の人工材料を縫着して、喉頭の枠組み、周辺臓器の再建を図った。評価は、再生の経過を経時的にファイバースコープなどで観察した。また、一定の観察期間の後にこれらの組織学的検討を行い、反回神経については、機能的再生を確認するために声帯の動きの観察のみならず、電気生理学的検討も施行した。つぎに神経再生以外では、アテロコラーゲン内で3次元培養した間葉系幹細胞移植を行い、人工材料の移植のみの症例と再生の程度を比較した。この際、間葉系幹細胞に標識をつけ、分化成長した組織を確認した。また、目的臓器への分化誘導因子の添加についても検討した。また、甲状軟骨および喉頭内腔については、歯科用印象剤を用いて喉頭内腔面のかたどりをを行い、甲状軟骨摘出モデルのイヌを使用して、甲状軟骨および喉頭内腔面の再生実験を行った。



2) 臨床応用

基礎実験の成果が得られた後に、人工生体材料のみで臨床応用に順次移行している。神経については、反回神経以外の神経についても臨床応用を施行中である。

2. 声帯の再生

- 1) 基礎実験：ビーグル犬の両側声帯を電気メスで部分的に切除した後、左側は、アテロコラーゲン内で3次元培養した自己間葉系幹細胞をコラーゲンとともに移植、右側はコラーゲンのみの移植を行った。両声帯の再生過程をファイバースコープで経時的に観察するとともに、音声学的、組織学的検討を行い、さらに移植した細胞の分化を調べるために、GFPマウスの自己間葉系幹細胞を用いて、これをヌードラットの声帯に移植し、蛍光免疫組織学的検討で移植細胞の行方を検討した。
- 2) 臨床応用：自己骨髄由来間葉系幹細胞の培養に際して培養液の検討を含め細胞移植の安全性確認を行った後に、臨床応用へと移行する予定である。

C. 研究結果

1. 喉頭枠組みと周辺臓器の再生

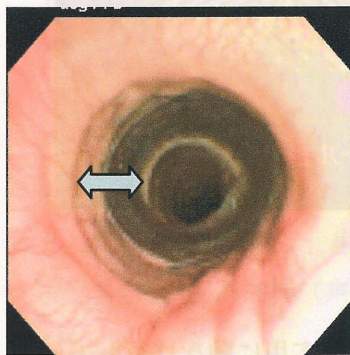
- 1) 基礎実験：気管・輪状軟骨・甲状軟骨の再生に関しては、いずれも当初の実験計画に従いイヌを用いた動物実験を行い良好な成績を得た。前2者は人工材料のみの移植で十分な結果が得られたが、甲状軟骨摘出モデルで歯科用印象剤を用いて喉頭内腔面のかたどりをを行った実験では、人工材料の移植のみでは感染や喉頭内腔面上皮化が進行しなかった。これに対して、人工材料とともに局所的に自己骨髄由来間葉系幹細胞移植を行い、喉頭内腔面上皮化を達成できた。両者の違いは、局所環境の差に起因すると考察した。

反回神経再生についても、計9頭のイヌで基礎実験を行ったが、反回神経1cm切除モデルで、PGAチューブ（人工神経）を使用した群で高率に声帯運動の回復が認められた。

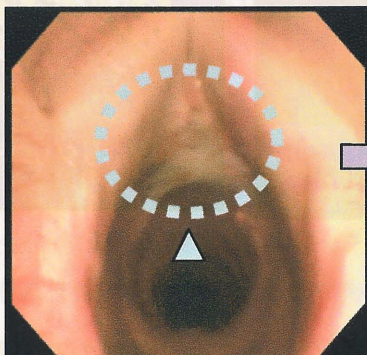
2) 臨床応用

- (1) 喉頭枠組み：気管（2例）、気管・輪状軟骨合併再生（1例）

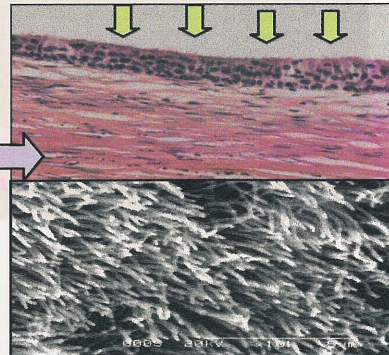
再生気管



再生輪状軟骨



再生した上皮と線毛



(2) 神経再生：反回神経(5例)、顔面神経(5例)、鼓索神経(7例)

このうち、反回神経1例、顔面神経2例、鼓索神経4例の機能的再生を確認した。

その他の症例は術後の時間経過が短く、最終評価はまだできない。

2. 声帯の再生

1) 基礎実験：ビーグル犬の両側声帯を電気メスで部分的に切除した後、左側は、アテロコラーゲン内で3次元培養した自己間葉系幹細胞をコラーゲンとともに移植、右側はコラーゲンのみの移植を行ったが、処置後2ヶ月で両側声帯の再生の程度に大きな差異が観察された。すなわち細胞移植を行った側は、正常の声帯と際がない程度にまで再生が進んだが、コラーゲンのみの移植側は瘢痕治癒し、声帯の萎縮が観察された。さらに9ヵ月後ではその差が一層顕著になった。また機能的にも声帯の振動にも大きな差が生じた。さらに移植細胞の行方と分化を評価したが、移植したEGFPマウスの自己間葉系幹細胞は、ホストのヌードラットの声帯およびその周辺で、上皮系細胞、筋細胞、軟骨への分化が確認された。以上から、自己骨髄由来間葉系幹細胞移植は、声帯および声帯のような複合組織で構成された臓器の再生に有効であることが証明された。

2) 臨床応用：自己骨髄由来間葉系幹細胞の培養に際して培養液の検討を含め細胞移植の安全性確認を行った後に、臨床応用へと移行する予定である。

D. 考察

再生医学は、近年の組織工学、分子生物学、発生遺伝学などのめざましい進歩によって支えられ発展してきた。本研究は、再生医学の臨床応用のさきがけとして、組織工学的手法を用いて行ったものである。一般に組織・器官を再生させるためには、再生の元になる細胞、その細胞が成長するための足場、そしてそれらを調節する因子の3つの要素を適切な環境におく必要があるとされる。しかし、これを臨床に応用する段階となると、細胞移植の安全性、採取する細胞の出所や拒絶反応など、医学的のみならず倫理的、社会的問題が山積しているため、現在はまだ一部の領域でしか進んでいない。本研究においては、臨床応用に直結するという点を最も重視し、現時点で医学的、社会的認知が得られる方法を最優先にするという考えで研究を行ってきた。

われわれは再生医学における場の理論という概念に基づき *In situ tissue engineering* の手法で頭頸部領域での臨床応用を開始し、良好な成果を挙げてきた。場の理論は、障害を受けた組織・臓器が本来持つ再生能力を最大限に引き出すために最適な再生環境を創り出すことによって、生体から再生に必要な要素がおのずと供給されるという概念である。さらに *In situ tissue engineering* という手法は、上記に示した再生医学の三要素である細胞、足場、調節因子をかならずしもすべて外部から供給する必要はなく、再生を目的とする生体部位に足場のみ、足場と細胞、細胞と調節因

子などひとつないし二つを供給することでも組織再生を可能にできるというものである。ただし、すべての組織・臓器がこの手法で再生可能であるわけではなく、特定臓器の局所再生にのみ適応できる手法である。

本研究においては、3要素のうちで足場の作製と移植に最大の重点を置くことによって、いまだ問題点のある細胞移植と調節因子の投与をできる限り行わずに臨床応用を開始してきた。これによって、気管・輪状軟骨・神経の再生は、良好な動物実験の結果を背景に臨床応用段階に入っている。しかし、研究結果の項目でも述べたように喉頭枠組み再生では、気管および輪状軟骨までは足場としての人工材料のみの移植によって再生が可能であったが、甲状軟骨にいたっては自己骨髄由来間葉系幹細胞移植を必要とした。これは、再生部位の両端も同様の組織で構成される気管のような組織とは異なり、甲状軟骨は内腔に声帯を含み上方は咽頭に連なる組織で、甲状軟骨の前後で組織形態が大きく変化すること、さらには咽頭に近いということから感染にさらされやすいといった不利な条件から、足場のみの移植では再生が困難なものとなっていると思われる。

声帯のような複合組織の再生では、単なる足場のみの移植では障害された声帯の完全な再生は難しいと考えられるため、コラーゲン内で3次元培養した自己骨髄由来間葉系細胞(BSCs)を移植した。これはコラーゲンが、再生の場を確保しかつ組織再生の元になる細胞が成長する足場を提供する材料として最適であると考えられたこと、およびBSCs内に含まれる間葉系幹細胞は、声帯を構成する筋肉や腺組織、粘膜固有層、上皮層などのさまざまな組織を再生しうる多分化能を有しているという理由からである。実際に本研究でも、移植した細胞が上皮系の細胞、筋系の細胞さらには軟骨細胞にも分化した所見が得られており、間葉系幹細胞の多分化能が示され、複合組織再生に有効に働くことが証明され、声帯再生のみならず他の多くの組織再生にも応用が期待される。今後、臨床応用に向けた研究を積み重ねていく予定である。

本研究によって、部分的にでも神経や気管の再生が可能になったことは、実際の臨床面では癌浸潤部位に大きな安全率をかけて組織を切除することができ、局所再発率を低下させることが可能である。さらに欠損部分の再建のための自家組織や皮弁の採取は不要となり一期的に手術がなされるために在院日数が短縮できる。このことは、患者の精神的、肉体的負担のみならず医療経済的にも大きなメリットが得られ、これまでの癌治療の概念にも大きな変化をもたらすものと考えられる。

E. 結論

組織再生工学的手法を用いて気管・喉頭枠組み、反回神経をはじめとする脳神経再生を試み、動物実験による良好な結果を背景に、気管・輪状軟骨、神経再生については、臨床応用段階に入った。声帯、甲状軟骨など細胞移植を必要とすると考えられる器官再生についても順次、臨床応用をめざして研究を重ねていく予定である。

本研究により、喉頭およびその周辺臓器の再生が可能であることが示され、癌治療を含めた従来の治療概念が大きく変革されることが期待できる。

F. 研究発表

1. 主要関連論文

1. Shin-ichi Kanemaru, Tatsuo Nakamura, Koichi Omori, Akhmar Magrufov, Masaru Yamashita, Juichi Ito. Functional regeneration of tissue engineered recurrent laryngeal nerve and the mechanism of this process studied on the peroneal nerve. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2005 (in press)
2. Omori K, Nakamura T, Kanemaru S, Asato R, Yamashita M, Tanaka S, Magrufov A, Ito J, Shimizu Y: Regenerative medicine of the trachea: The first human case. Annals Otol Rhinol Laryngol 2005 (in press)
3. Nakamura, T., Inada, Y., Fukuda, S., Yoshitani, M., Nakada, A., Itoi, S., Kanemaru, S., Endo, K., Shimizu, Y.: Experimental study on the regeneration of peripheral nerve gaps through a polyglycolic acid-collagen (PGA-collagen) tube. Brain Research. 1027: 18-29 2004
4. Koichi Omori, Tatsuo Nakamura, Shin-ichi Kanemaru, Hisayoshi Kojima, Akhmar Magrufov, Yasushi Hiratsuka, Yasuhiko Shimizu. Cricoid regeneration using in situ tissue engineering in canine larynx for the treatment of subglottic stenosis. Ann Otol Rhinol Laryngol 113:623-27,2004
5. 金丸眞一 頭頸部領域における神経再生医療 頸胸部領域における先端的外科手術 日気食 55:135-6, 2004
6. 稲田有史、清水慶彦、中村達雄、金丸眞一、森本 茂、山科幸夫、飯田秀之、諸井慶七郎、橋爪圭司、古家 仁、細井裕司: Polyglycolic acid (PGA)-collagen tube による末梢神経損傷への臨床応用. 形成外科. 47:883-891, 2004
7. Shin-ichi Kanemaru, Tatsuo Nakamura, Hisayoshi Kojima, Akhmar Magrufov, Koichi Omori, Yasuyuki Hiratsuka, Shigeru Hirano, Juichi Ito, Yasuhiko Shimizu. Regeneration of the vocal cord using autologous mesenchymal stem cells. Ann Otol Rhinol Laryngol 112:915-20,2003
8. Shin-ichi Kanemaru, Tatsuo Nakamura, Hisayoshi Kojima, Koichi Omori, Yasuyuki Hiratsuka, Akhmar Magrufov, Juichi Ito, Yasuhiko Shimizu. Recurrent laryngeal nerve regeneration by tissue engineering. Ann Otol Rhinol Laryngol 112:492-8,2003
9. Shigeru Hirano, Susan Thibeault, Diane Bless, Charles Ford, O, Shin-ichi Kanemaru. Hepatocyte Growth Factor and its receptor (c-Met) in Rat and Rabbit Vocal Folds. Ann Otol Rhinol Laryngol 111:661-6,2002
10. Kanemaru S, Nakamura T, Kojima H, Omori K, Hiratsuka Y, Magrufov A, Ito J, and

Shimizu Y : Regeneration of the recurrent laryngeal nerve using in situ tissue engineering.
Proceedings of the 12th World Congress for Bronchology and the 12th World Congress for
Bronchoesophagology Scientific Free Paper 303-6, 2002

2. 学会発表

2004 年

1) 国際学会発表

(1) 口演

1. Shin-ichi Kanemaru, Tatsuo Nakamura, Koichi Omori, Akhmar Magruf, Masaru Yamashita, Yoshihiro Tamura, Hisanobu Tamaki, Juichi Ito, Yasuhiko Shimizu. Functional regeneration of tissue engineered Recurrent laryngeal nerve and the mechanism of this process studied on the peroneal nerve. COSM Phoenix AZ USA 2004.4.30
2. Shin-ichi Kanemaru, Tatsuo Nakamura, Koichi Omori, Akhmar Magruf, Masaru Yamashita, Yasuhiko Shimizu, Juichi Ito. Regeneration of the Mastoid Air Cells in Clinical Applications. COSM Phoenix AZ USA 2004.5.2
3. Koichi Omori, Tatsuo Nakamura, Shin-ichi Kanemaru, Akhmar Magruf, Masaru Yamashita, Yasuhiko Shimizu. Regenerative Medicine of the Tracheal Tissue. COSM Phoenix AZ USA 2004.5.2
4. Kanemaru S, Omori K, Nakamura T, Akhmar MM, Yamashita M, Fujino K, Hiraumi S, Ito J. Regeneration of The Mastoid Air Cells. 7th International Congress on Cholesteatoma and Ear Surgery 2004.6.24 Hague Netherlands
5. Masaru Yamashita, Koichi Omori, Shin-ichi Kanemaru, Akhmar Magruf, Hisanobu Tamaki, Yoshihiro Tamura, Tatsuo Nakamura, Juichi Ito. A preliminary study on laryngeal regeneration using tissue engineering technique. TESI and ETES Lausanne, Switzerland 2004.10.13

(2) ポスター

1. Masaru Yamashita, Shin-ichi Kanemaru, Akhmar Magruf, Tatsuo Nakamura, Koichi Omori, Juichi Ito. In vitro trial for the regeneration of the mastoid air cells. COSM Phoenix AZ USA 2004.5.1
2. R. Asato, S. Kanemaru, A. Magruf, M. Yamashita, K. Omori, T. Nakamura, Skull base rigidity reconstruction by polypropylene-mesh coated with collagen TESI and ETES Lausanne, Switzerland 2004.10.13
3. Shin-ichi Kanemaru, Tatsuo Nakamura, Masaru Yamashita, Akhmar Magruf, Tomoko Kita, Hisanobu Tamaki, Yoshihiro Tamura, Koichi Omori, Juichi Ito. Regeneration of the vocal fold by implantaion of bone marrow derived stromal cells TESI and ETES Lausanne, Switzerland 2004.10.13

4. Hisanobu Tamaki, Shin-ichi Kanemaru, Masaru Yamashita, Akhmar Magrufov, Yoshihiro Tamura, Tatsuo Nakamura, Juichi Ito. Assessment of the HGF therapy for radiation induced salivary gland disorder in mice. TESI and ETES Lausanne, Switzerland 2004.10.13
5. Yoshihiro Tamura, Shin-ichi Kanemaru, Masaru Yamashita, Akhmar Magrufov, Hisanobu Tamaki, Tatsuo Nakamura, Tomonori Matsuno, Koichi Omori, Juichi Ito. The palatal bone regeneration by *in situ* tissue engineering. TESI and ETES Lausanne, Switzerland 2004.10.13
6. Akhmar Magrufov, Shin-ichi Kanemaru, Masaru Yamashita, Tatsuo Nakamura, Yoshihiro Tamura, Koichi Omori, Juichi Ito. Mastoid mucosa regeneration by tissue engineering technique, *in vitro* study. TESI and ETES Lausanne, Switzerland 2004.10.13

2) 国内発表

(1) シンポジウム

1. 金丸眞一 頭頸部領域における神経再生医療
第16回 日本頭蓋底外科学会 2004.7.1 横浜
2. 金丸眞一 頭頸部領域における再生医療
第18回 エムイー学会秋季大会 2004.11.5 松山

(2) パネルディスカッション

1. 金丸眞一 難治性中耳炎に対する再生医学的アプローチ
— *In situ* tissue engineering による乳突蜂巣の再生 —
第14回 日本耳科学会総会 2004.10.22 京都

(3) 口演

1. 金丸眞一、中村達雄、Akhmar Magrufov、大森孝一、山下 勝、安里 亮、玉木久信、田中信三、伊藤壽一. 神経再生医療 — 反回神経の機能的再生をめざして — 第16回 日本喉頭科学会 2004.3.19 松山
2. 山下 勝、大森孝一、金丸眞一、Akhmar Magrufov、伊藤壽一、中村達雄. 組織工学的手法による喉頭の再生：内腔の形態復元を目指して 第16回 日本喉頭科学会 2004.3.19 松山
3. 金丸眞一、玉木久信、中村 一、福島英行、内藤 泰、伊藤壽一. *In situ* tissue engineering による乳突蜂巣の再生 第105回 日本耳鼻咽喉科学会 2004.5.13 広島
4. 安里 亮、金丸眞一、Akhmar Magrufov、山下 勝、池田晴人、大森孝一、伊藤壽一、中村達雄、清水慶彦. 組織再生型材料による頭蓋底硬性再建 第105回 日本耳鼻咽喉科学会 2004.5.13 広島
5. 藤野清大、金丸眞一、Akhmar Magrufov、山下 勝、平海晴一、大森孝一、中村達

- 雄、内藤 泰、伊藤壽一. 術後乳突腔に移植可能な呼吸上皮粘膜シートの作成
第 105 回 日本耳鼻咽喉科学会 2004. 5. 13 広島
6. 山下 勝、金丸眞一、中村達雄、Akhmar Magrufov、藤野清大、田村芳寛、大森孝一、清水慶彦、伊藤壽一. 組織工学的的手法による乳突蜂巣再生の試み 第 105 回 日本耳鼻咽喉科学会 2004. 5. 13 広島
7. 平海晴一、金丸眞一、藤野清大、山下 勝、Akhmar Magrufov、大森孝一、中村達雄、内藤 泰、伊藤壽一. 乳突蜂巣再生の臨床応用 第 105 回 日本耳鼻咽喉科学会 2004. 5. 13 広島
8. 内藤 泰、平海晴一、藤野清大、金丸眞一、辻 純、三浦 誠、伊藤壽一. 蝸牛骨化例の人工内耳 第 105 回 日本耳鼻咽喉科学会 2004. 5. 13 広島
9. 玉木久信、金丸眞一、山下 勝、Akhmar Magrufov、松本昌宏、中村達雄、伊藤壽一. 肝細胞増殖因子を用いた放射線被爆マウスによる唾液腺障害軽減の試み 第 105 回 日本耳鼻咽喉科学会 2004. 5. 15 広島
10. 大森孝一、中村達雄、金丸眞一、安里 亮、田中信三、山下 勝、Akhmar Magrufov、伊藤壽一、清水慶彦. 気道の再生治療 第 105 回 日本耳鼻咽喉科学会 2004. 5. 14 広島
11. 田村芳寛、金丸眞一、松野智宣、山下 勝、中村達雄、Akhmar Magrufov、平塚康之、大森孝一、伊藤壽一、清水慶彦. In situ tissue engineering を用いた上顎骨(口蓋)再生の試み 第 105 回 日本耳鼻咽喉科学会 2004. 5. 14 広島
12. 金丸眞一、玉木久信、中村 一、福島英行、内藤 泰、伊藤壽一. 高度鼓膜穿孔症例に対する鼓室形成術 I 型の治療成績と lateral healing 防止対策 第 66 回 耳鼻咽喉科臨床学会 2004. 6. 11 青森
13. 金丸眞一、山下 勝、Akhmar Magrufov、喜多知子、玉木久信、井口福一郎、田村芳寛、大森孝一、中村達雄、伊藤壽一. 骨髄由来間葉系幹細胞移植による声帯の再生 第 7 回 日本組織工学会 2004. 7. 1 東京
14. 山下 勝、大森孝一、金丸眞一、Akhmar Magrufov、田村芳寛、中村達雄、伊藤壽一. 喉頭声帯隆起の組織工学的再生のころみ 第 7 回 日本組織工学会 2004. 7. 1 東京
15. 玉木久信、金丸眞一、山下 勝、Akhmar Magrufov、大屋夏生、田村芳寛、大森孝一、中村達雄、伊藤壽一. 放射線誘発マウス唾液腺障害に対する肝細胞増殖因子の検討 第 7 回 日本組織工学会 2004. 7. 1 東京
16. Akhmar Magrufov, Shin-ichi Kanemaru, Tatsuo Nakamura, Masaru Yamashita, Koichi Omori, Yoshihiro Tamura, Tetsuya Tamura, Juichi Ito. Regeneration of mastoid mucosa, invitro preliminary study 第 7 回 日本組織工学会 2004. 7. 1 東京
17. 玉木久信、金丸 眞一、山下 勝、Magrufov Akhmar、伊藤壽一 放射線による唾液腺障害マウスに対する肝細胞増殖因子の検討 第 25 回 炎症・再生医学

会 2004. 7. 13 東京

18. 田村芳寛、金丸眞一、山下 勝、Akhmar Magrufov、松野智宣、戸田好信、大森孝一、中村達雄. In situ tissue engineering を用いた上顎骨（口蓋）再生の試み 第 25 回 炎症・再生医学会 2004. 7. 13 東京
19. 金丸眞一、中村達雄、大森孝一、山下 勝、Akhmar Magrufov、藤野清大、平海晴一、玉木久信、伊藤壽一. 難治性中耳炎に対する再生医療－乳突蜂巣再生の臨床応用－ 第 25 回 炎症・再生医学会 2004. 7. 13 東京
20. 山下 勝、金丸眞一、Akhmar Magrufov、中村達雄、大森孝一、伊藤壽一. 組織工学的的手法による乳突蜂巣再生の試み 第 25 回 炎症・再生医学会 2004. 7. 13 東京
21. 金丸眞一. 小児人工内耳症例－わが国における最年少手術症例の検討－ 第 15 回 人工内耳研究会 2004. 10. 23 京都
22. 金丸眞一、山下 勝、Akhmar Magrufov、喜多知子、井口福一郎、金 泰秀、大森孝一、中村達雄、伊藤壽一. 自己骨髄由来間葉系細胞移植による声帯の再生－移植細胞の所属と行方－ 第 56 回 日本気管食道科学会 2004. 11. 25 東京
23. 山下 勝、金丸眞一、大森孝一、Magrufov Akhmar、玉木久信、田村芳寛、中村達雄、伊藤壽一. 気管の部分欠損に対する組織工学的再生 第 56 回 日本気管食道科学会 2004. 11. 25 東京
24. 野本幸男、鈴木輝久、多田靖宏、三宅将生、狭間章博、金丸眞一、大森孝一. 組織工学的的手法による気管上皮細胞組織の作成 第 56 回 日本気管食道科学会 2004. 11. 25 東京

2003 年

(ア) 国際学会発表

(1) 口演

1. Kanemaru S, Nakamura T, Kojima H, Magrufov A.A, Hiratsuka Y, S. Fukuda, Hirano S, Ito J, Shimizu Y. Regeneration of the vocal fold using autologous mesenchymal stem cells. J. ASAIO 2002;48:191.
2. S Kanemaru, T Nakamura, H Kojima, A.A Magrufov, Y Hiratsuka, Y Shimizu and J Ito. Regeneration of the Recurrent Laryngeal Nerve Using In Situ Tissue Engineering. Proceeding of the WCBE 2002;303-6
3. Kanemaru S, Nakamura T, Kojima H, Omori K, Hiratsuka Y, Magrufov A, Ito J, and Shimizu Y : Recurrent laryngeal nerve regeneration by tissue engineering. The 123rd Annual Meeting of American Laryngological Association, Boca Raton. May 10-11, 2002. Florida, USA.
4. Kanemaru S, Nakamura T, Kojima H, Magrufov A, Omori K, Hiratsuka Y, Hirano S, Ito

J, and Shimizu Y : Regeneration of the vocal cord using autologous mesenchymal stem cells. The 82nd Annual Meeting of American Broncho-esophagological Association, Boca Raton. May 10-14, 2002. Florida, USA.

5. Shin-ichi Kanemaru, Tatsuo Nakamura, Hishayoshi Kojima, Koichi Omori, Yasuyuki Hiratsuka, Magrufov Akhamar, Juichi Ito, Yasuhiko Shimizu. Regeneration of the recurrent laryngeal nerve using a woven polyglycolic acid (PGA) tube coated with collagen. The 9th Korea-Japan Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. 60,2002.
6. Kanemaru S, Nakamura T, Omori K, Magrufov A, Shimizu Y, and Ito J : Co-culture of mucous cells and/or mesenchymal stem cells on hydroxyapatite, in vitro study. The 5th International Meeting of Tissue Engineering Society international. Dec 8-10, 2002. Kobe, Japan.

2) 国内学会発表

(1) 口演

1. 金丸眞一、中村達雄、児嶋久剛、Akhamar Magrufov、平塚康之、平野 滋、伊藤壽一、清水慶彦 臓器再生医工学的手法を用いた反回神経の機能的再生 第14回日本喉頭科学会 東京 2002. 3. 21
2. 金丸眞一、伊藤壽一、中村一、福島英行、玉木久信 鼓室形成術におけるコルメラ転倒防止法の試み マフラー法 第2報 第64回耳鼻咽喉科臨床学会 大阪 2002. 6. 28
3. 金丸眞一、中村達雄、大森孝一、児嶋久剛、Magrufov Akhmar、平塚康之、平野滋、伊藤壽一、清水慶彦 自己間葉系細胞移植による声帯の再生 第53回日本気管食道学会 大阪 2002. 11. 7
4. 金丸眞一、大森孝一、Magrufov Akhmal、辻純、内藤泰、伊藤壽一、中村達雄 In site tissue engineering による乳突蜂巣再生の試み 日本耳鼻咽喉科学会 東京 2003. 5. 23
5. 金丸眞一、大森孝一、Magrufov Akhmal、平海晴一、藤野清大、内藤泰、伊藤壽一、中村達雄 難治性慢性中耳炎に対する乳突蜂巣再生の試み (ビデオ演題) 第13回日本耳科学会 幕張 2003. 10. 16
6. 金丸眞一、中村達雄、児嶋久剛、Magrufov Akhmar、山下勝、大森孝一、平塚康之、平野滋、楯谷一郎、伊藤壽一、清水慶彦 骨髓由来自己間葉系細胞を用いた声帯の再生 第24回炎症再生医学会 京都 2003. 11. 27

2002 年

(ア) 国際学会発表

(1) 口演

1. Kanemaru S, Nakamura T, Kojima H, Magrufov A.A, Hiratsuka Y, S. Fukuda, Hirano S, Ito J, Shimizu Y. Regeneration of the vocal fold using autologous mesenchymal stem cells. J. ASAIO 2002;48:191.
2. S Kanemaru, T Nakamura, H Kojima, A.A Magrufov, Y Hiratsuka, Y Shimizu and J Ito. Regeneration of the Recurrent Laryngeal Nerve Using In Situ Tissue Engineering. Proceeding of the WCBE 2002;303-6
3. Kanemaru S, Nakamura T, Kojima H, Omori K, Hiratsuka Y, MagrufovA, Ito J, and Shimizu Y : Recurrent laryngeal nerve regeneration by tissueengineering. The 123rd Annual Meeting of American Laryngological Association, Boca Raton. May 10-11, 2002. Florida, USA.
4. Kanemaru S, Nakamura T, Kojima H, Magrufov A, Omori K, HiratsukaY, Hirano S, Ito J, and Shimizu Y : Regeneration of the vocal cord usingauto logous mesenchymal stem cells. The 82nd Annual Meeting of American Broncho-esophagological Association, Boca Raton. May 10-14, 2002. Florida, USA.
5. Shin-ichi Kanemaru, Tatsuo Nakamura, Hishayoshi Kojima, Koichi Omori, Yasuyuki Hiratsuka, Magrufov Akhamar, Juichi Ito, Yasuhiko Shimizu. Regeneration of the recurrent laryngeal nerve using a woven polyglycolic acid (PGA) tube coated with collagen. The 9th Korea-Japan Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. 60,2002.
6. Kanemaru S, Nakamura T, Omori K, Magrufov A, Shimizu Y, and Ito J : Co-culture of mucous cells and/or mesenchymal stem cells on hydroxyapatite, in vitro study. The 5th International Meeting of Tissue EngineeringSociety international. Dec 8-10, 2002. Kobe, Japan.

2) 国内学会発表

(1) パネルディスカッション

金丸眞一、中村達雄、児嶋久剛、Magrufov Akhmar、大森孝一、平塚康之、伊藤壽一、清水慶彦 頭頸部領域における神経再生の試み 第23回炎症再生医学会 東京 2002. 7. 2

(2) 口演

1. 金丸眞一、中村達雄、児嶋久剛、 Akhamar Magrufov、平塚康之、平野 滋、伊藤壽一、清水慶彦 臓器再生医工学的手法を用いた反回神経の機能的再生 第14回日本喉頭科学会 東京 2002. 3. 21
2. 金丸眞一、伊藤壽一、中村一、福島英行、玉木久信 鼓室形成術におけるコルメラ転倒防止法の試み マフラー法 第2報 第64回耳鼻咽喉科臨床学会

大阪 2002.6.28

3. 金丸眞一、内藤泰、伊藤壽一、鼓室形成術における有茎骨膜 flap を使用した
削開乳突腔表面の早期乾燥上皮化の試み (ビデオ演題) 第 12 回日本耳科学
会 東京 2002.10.12
4. 金丸眞一、中村達雄、大森孝一、児嶋久剛、Magrufov Akhmar、平塚康之、平
野滋、伊藤壽一、清水慶彦 自己間葉系細胞移植による声帯の再生 第 53 回
日本気管食道学会 大阪 2002.11.7

G. 知的所有権の取得

1. 特許取得

工業所有権の名称: 組織充填剤

発明者名: 金丸眞一、中村達雄、児嶋久剛、清水慶彦

権利者名: 金丸眞一、中村達雄、児嶋久剛、清水慶彦

種類、番号: PCT/JP01/04145

出願年月日: 2001年5月18日

取得年月日: 申請中

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし