

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実用化研究事業  
(英語) Research Project for Practical Applications of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) 培養鼻腔粘膜上皮細胞シート移植による中耳粘膜再生治療の実現  
(英語) Realization of middle ear mucosal regenerative medicine by cultured nasal mucosal epithelial cell sheet transplantaion

研究開発担当者 (日本語) 東京慈恵会医科大学 耳鼻咽喉科 主任教授 小島 博己  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Otorhinolaryngology, Jikei University School of Medicine  
Professor Hiromi Kojima

実施期間： 平成28年11月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語)  
開発課題名： (英語)

研究開発分担者 (日本語)  
所属 役職 氏名： (英語)

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### 和文

癒着性中耳炎や真珠腫性中耳炎に対しての根本治療は鼓室形成術といわれる中耳手術であり、術後に正常な中耳腔を形成するためには中耳粘膜の早期再生が最も重要である。術後に障害された中耳粘膜を早期に再生させることが可能になれば、癒着性中耳炎では鼓膜の再癒着を防止し、また真珠腫性中耳炎においては再形成性再発を予防することが可能になり、これまで困難であった再発の防止が格段に期待できると考えられ、これまでも如何にして中耳粘膜を早期に再生させるかが大きな課題とされている。これらの問題を解決するために、われわれは鼓室形成術の際に、自己の鼻腔粘膜上皮細胞シートの移植を併用するという新たな術式を開発した。現在までに中耳真珠腫の患者 4 例、癒着性中耳炎の患者 1 例に対して、自己鼻腔粘膜上皮細胞シート移植を併用した鼓室形成術を行なっている。あらかじめ外来にて内視鏡下に鼻粘膜組織を採取し、自己の培養鼻腔粘膜上皮細胞シートを作製し、通常の鼓室形成術時に、術後の中耳粘膜の再生を目的として粘膜欠損部位に細胞シートの移植を行なった。いずれも移植後経過は良好で、真珠腫の再発や鼓膜の再癒着もなく、有害事象も認められていない。

これまでの先行研究 5 例における細胞培養の SOP 等に大きな問題はなかったが、本研究課題では更なる効率化をはかり細胞培養プロトコルの改良点を抽出しブラッシュアップを行った。また、先行研究では東京慈恵会医科大学のみの単施設での臨床研究であったが、本研究課題では聖マリアンナ医科大学耳鼻咽喉科との多施設共同研究の実施を予定している。細胞シート製造施設と移植施設を分けた他施設での検討を行い、術者の違いによる移植の安全性や効果についても検討する。聖マリアンナ医科大学耳鼻咽喉科で癒着性中耳炎もしくは真珠腫性中耳炎患者の鼻腔粘膜を採取し東京慈恵会医科大学の細胞加工施設へ輸送し、細胞シートを作製する。作製した細胞シートを聖マリアンナ医科大学へ輸送し、鼓室形成術の際に細胞シート移植を行うという臨床研究である。そのため、採取した鼻腔粘膜組織と細胞シートの輸送コールドランを数例実施した。採取した組織および作製した細胞シートの輸送を想定し、採取した鼻腔粘膜組織を 5 時間以上輸送液に運搬した上での細胞シート作製を試みた。細胞シート作製は東京慈恵会医科大学の細胞加工施設で作製し、作成した細胞シートを更に 5 時間以上運搬し、輸送の前後において、細胞シートの細胞数、生存率など品質基準を満たす細胞シートを回収することに成功した。

再生医療新法下において本研究課題の実施に向け、各種書類の作成を行い、平成 29 年 1 月に聖マリアンナ医科大学の特定認定再生医療等委員会へ申請し、平成 29 年 3 月 28 日に開催された聖マリアンナ医科大学特定認定再生医療等委員会で承認を取得した。

### 英文

There is no curative therapy for adhesive otitis media and cholesteatoma other than tympanoplasty. In order for a normal middle ear cavity to form after surgery, regeneration of the middle ear mucosa, recovery of the physiological gas ventilation capacity, and prevention of tympanic membrane adhesion are essential. If regeneration of the damaged middle ear mucosa were possible in the early postoperative period, it would be possible to prevent re-adhesion of the tympanic membrane and recurrence of adhesive otitis media. Additionally, regeneration of middle ear mucosa would prevent recurrence of cholesteatoma. However, achieving early regeneration of the middle ear mucosa has

been a major challenge. We developed a novel treatment method combining tympanoplasty and autologous nasal mucosal epithelial cell sheet transplantation for postoperative regeneration of the middle ear mucosa. Using a nasal mucosal tissue that we endoscopically harvested, tissue-engineered autologous nasal mucosal epithelial cell sheets were fabricated by culturing the harvested cells in an aseptic environment in a good manufacturing practice-compliant cell processing facility. The cultivated cell sheets were transplanted, during tympanoplasty, onto the exposed bony surface of the middle ear cavity where the mucosa had been lost. We performed this procedure on four patients with middle ear cholesteatoma and one patient with adhesive otitis media. All patients showed favorable postoperative course with no adverse events or complications.

Major problems have not occurred of SOP in previous clinical study, we pointed out and improved efficiency of protocol. Although we previously performed cell sheet transplantation only at Jikei University School of Medicine, a collaborative research program is being planned by Jikei University School of Medicine and St. Marianna University School of Medicine. This new co-research program included transportation of a nasal mucosal tissue and cell sheets between St. Marianna University School of Medicine Hospital and the cell processing facility of Jikei University School of Medicine. Therefore, in pre-clinical study, we examined quality of the nasal mucosal epithelial cell sheets before and after transportation such as cell number, viability, and purity. A few of the nasal mucosal epithelial cell sheets were successfully fabricated by using transported nasal tissue. The comparability between pre- and post-transported cell sheets permits a conclusion that this transportation technology can be introduced as a way of providing a clinical-grade cell sheet safely in a coming clinical study.

Towards starting new clinical co-research study, we obtained approval to initiate this study from Certified Special Committee for Regenerative Medicine which is approved by the Minister of Health, Labour and Welfare through certain formalities.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 培養鼻腔粘膜上皮細胞シート移植による中耳粘膜再生治療の実現，ポスター，小島博己，平成28年度AMED再生医療公開シンポジウム，2017/2/2，国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願