

「ミシシippアカミミガメ甲羅を用いた膀胱再建に関する基礎的研究」

鈴木 理 功

東亜大学 医療学部 医療工学科
suzuki@toua-u.ac.jp

〈要 旨〉

現在、膀胱に疾病を抱えている患者は約4億人がいるといわれている。そのうち、膀胱機能異常を示す疾患には合併症を予防するために膀胱拡大術が必要となる。膀胱拡大術における膀胱再建材料として自己の消化管を用いることが多いが、消化管粘膜に起因する合併症が問題となっている。そのため、自己消化管に代わるものとして以前より人工材料を用いる研究がなされてはいるが、現在まで満足のいく結果は得られていない。今回、我々は新しい膀胱再建材料としてミシシippアカミミガメの脱皮した甲羅（以降亀甲羅とする）をフィルム状にして用いた。亀の甲羅の主成分はケラチンであり、近年羊毛から抽出したケラチンを用いた医療材料が検討されている。そこで我々は亀甲羅を膀胱移植片用に加工後、SDラットメス35匹に埋植試験を実施した。その結果、移植した22匹のラットは目立った炎症反応や溢尿、感染がなく生存した。これらのラットでは、移植片が異物として認識、排除されることがなかった。HE染色にて組織学的検討を行った結果、埋植試験1カ月後の移植片には自己の膀胱組織が亀甲羅フィルムに浸潤、増殖した像が見られた。6ヶ月目には一部分の移植材料を残して、移植部位は肉芽組織に囲まれ、膀胱内腔面は再生した尿路上皮細胞で被覆され膀胱が再建されている様子が観察された。

今後、亀甲羅を加工し、形状や機械的強度を変化させることにより様々な再生医療用の新規医療材料として使用できる可能性があると考えられる。

〈目 次〉

1. 諸言
2. 方法
 - 2-1 埋植試験
 - 2-1-1 調整法
 - 2-1-2 試験動物
 - 2-1-3 試験方法
 - 2-1-4 移植片摘出
 - 2-1-5 病理標本
3. 結果
4. 考察
5. 謝辞

1. 緒言

膀胱の機能は低圧で尿を貯留し、尿意により尿を完全に膀胱から排出することである。膀胱が正常に保たれていることはQOLの維持に重要である⁽¹⁾。現在、膀胱疾患に悩んでいる人は全世界で約4億人いるといわれている⁽²⁾。膀胱機能異常を来す疾患としては先天性疾患、外傷、炎症、放射線障害、機能的拘縮などが様々ある⁽³⁾。これらの疾患は尿路感染や尿失禁、腎不全を引き起こすためQOLの改善や尿路感染、腎不全の防止を目的とした膀胱拡大術が必要となる⁽¹⁾。

近年、膀胱拡大術や悪性腫瘍等に対する膀胱摘出後の膀胱再建術の補填材料には自己の消化管を用いることが一般的である⁽⁴⁾。しかしながら、消化管粘膜に起因する結石形成や感染症、代謝障害、癌の発生等さまざまな合併症が問題となっている⁽⁵⁾。一方、人工材料を用いた膀胱再建に関する研究も数多く行われてきた。しかしながら、機械的、構造的、生物学的適合性の問題により水腎症、腫瘍形成、結石形成等によりいずれも失敗に終わっている⁽⁶⁻¹⁰⁾。

膀胱再建に必要な条件としては生体内で安定であり、結石形成や感染原因とならず、加えられる種々の外力によって容易に変形するものであってはならない。反面、生体の動きにある程度対応しうる柔軟さも要求される。また、その使用にあたっては尿路と材料との間に尿漏れのない密な縫合が可能であること、取り扱いが簡便であることが挙げられる。近年の研究から膀胱再建材料の条件として生体分解性が挙げられており、その際、正常の尿路組織が再生するまでの適当な期間、機械的な強度を保つこと、長期的な安全性として発癌性がないことなどが要求される⁽¹¹⁻¹²⁾。

本実験を行う前にコラーゲンフィルムやコラーゲンスポンジなどの医療材料を用いて膀胱再建を試みたが、いずれも移植片の機械的強度不足により亀裂・破損が生じ移植片と膀胱との間で密な縫合を行うことができず、その結果尿漏れが生じ実験が失敗に終わった。今回使用した、ミシシippアカミミガメの脱皮した甲羅(以下亀甲羅とする)は他の高分子医療材料よりも機械的強度に優れ、生体分解性を有し、尿漏れない縫合が可能であると考えられたため膀胱再建術に使用した。その結

果、良好な知見を得たのでここに報告する。

2. 方法

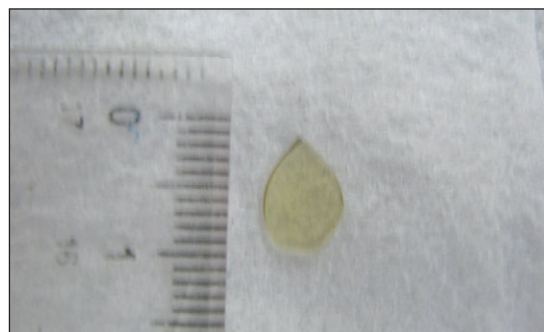
2-1 埋植試験

2-1-1 調整法

被験物質は10年間飼育されたミシシippアカミミガメの脱皮した甲羅を用いた(図1)。採取した甲羅は直射日光が当たらない場所で室温にて保管し、使用前に注射用蒸留水で十分に洗浄し、汚れを取り除いた。洗浄した甲羅を1晩注射用蒸留水に浸漬させて、軟化させた。次にラット膀胱に移植する部位の大きさ(1cm×1cm)に亀の甲羅をハサミで切り取り、縫合しやすいように楕円形に成形した(図2)。その後、アルコールランプで熱したピンセットの先を押しあて、直径1mmの縫合用の穴を6箇所2mmの間隔であけた。これを35枚作成し高圧蒸気滅菌(ヤマト科学株式会社製SP500)を用いて121℃、20分間で滅菌処理を施した。



(図1) 脱皮した亀の甲羅
移植材料に用いたミシシippアカミミガメの
脱皮した甲羅(3.5cm×4.5cm)



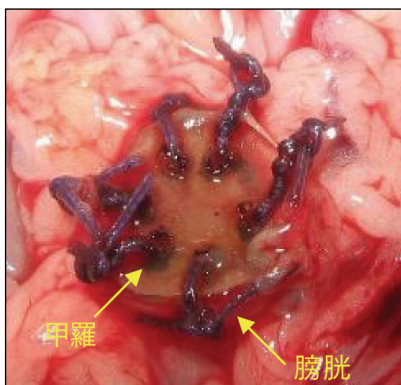
(図2) 膀胱再建に用いた移植片
脱皮したミシシippアカミミガメの甲羅を
移植部位型に成形したもの

2-1-2 試験動物

試験動物は九動株式会社の10週齢の雌Sprague-Dawley (SD) ラットを用いた。搬入後、約1週間予備飼育を行って健康に異常のないことを確認した後、35匹を使用した。ラットはFRP製ケージに収容し、照明時間12時間/日に設定した飼育室にて飼育した。飼料はラット用固形飼料を給与し、飲料水は水道水を自由に摂取させた。

2-1-3 試験方法

99%ジエチルエーテル（シグマアルドリッチジャパン社製）をガーゼに染み込ませ、吸入麻酔にて全身麻酔をかけた後、ハサミを用いて下腹部表皮を長さ5cmにわたり切り、その後、腹膜を切開し膀胱を露出させた。膀胱の両端をピンセットで固定した後、5mm切開し、作成した亀甲羅の移植片を分解性縫合糸バイクリル（日本パラメディック株式会社製 J593G）にて6箇所縫合した（図3）。膀胱からの尿の溢水がないことを確認し、腹壁の二層縫合を行った。術後、創傷部には外用殺菌消毒剤のネオヨジゲル（岩城製薬株式会社製）を塗布し消毒した。また、予定飼育期間60日、180日、365日の実験には埋植実験後、抗生物質（ジスロマック ファイザー株式会社）を3ml皮下注射し投与した。



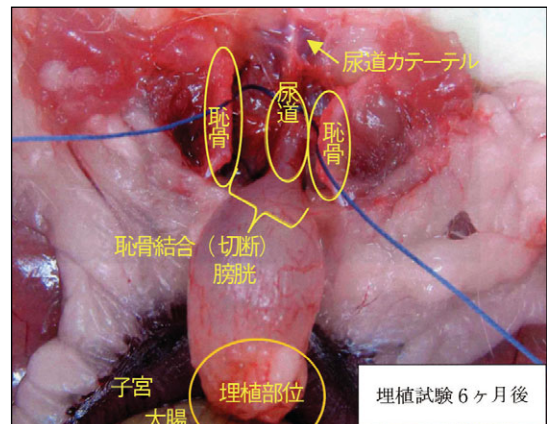
(図3) 移植片の縫合

亀甲羅フィルムを分解性縫合糸にて6箇所縫合した

2-1-4 移植片摘出

亀甲羅をSDラットメス35匹に移植後、経過観察を続け7日、30日、60日、180日、365日後に7匹ずつラットを屠殺し膀胱を摘出した。膀胱を摘出する際はガーゼに99%ジエチルエーテル（シグ

マアルドリッチジャパン社製）を染み込ませ、吸入麻酔にて全身麻酔をかけて安楽死させ、表皮を剥離、腹膜を切開したのち恥骨結合をハサミで切断した。その後、オリーブ油（タツミ薬品工業株式会社製）を塗布したカテーテルをラット尿道より挿入し、4%w/vホルマリン（シグマ社製 Lot03K4380）を5ml注入した（図4）。ラット膀胱を膨張させ、尿漏れについて確認後、これを摘出した。



(図4) 埋植試験180日後のラット膀胱摘出
尿道カテーテルを尿道に挿入し
4%w/vホルマリンを注入している様子

2-1-5 病理標本

埋植試験後に摘出した移植片は、4%w/vホルマリンで3日間固定後パラフィン包埋し、3μm切片として、hematoxylin-eosin (HE) 染色し組織学的検討を行った。

3. 結果

本実験において亀甲羅で作成した移植片が膀胱再建材料として長期に渡り水密性を保ちつつ、かつ適度な物理的強度を持ち、過度な感染症や拒絶反応を呈することなく膀胱移植片として使用できるかどうか、また長期間の留置により生体内で分解される過程で自己の細胞がフィルム内に浸潤し、膀胱が再建されるかどうかについて検討を行った。その結果を表1に示す。フィルムを移植したSDラットメス35匹のうち、22匹で尿を貯留する機能を有し長期間、脱落や感染および拒絶反応などの所見が見られず、膀胱再建に成功したと判定された。膀胱再生に至らなかった13匹につ

表1 埋植試験結果

ラット番号	予定飼育期間	実飼育期間 (日)	転帰	死亡原因
1	7	7	生存	
2	7	7	生存	
3	7	0	死亡	手術中の深麻酔による呼吸停止
4	7	1	死亡	移植片の脱落による尿漏れ
5	7	2	死亡	移植片の脱落による尿漏れ
6	7	3	死亡	感染症による敗血症
7	7	4	死亡	感染症による敗血症
8	30	30	生存	
9	30	30	生存	
10	30	30	生存	
11	30	30	生存	
12	30	0	死亡	手術中の深麻酔による呼吸停止
13	30	1	死亡	感染症による敗血症
14	30	2	死亡	移植片の脱落による尿漏れ
15	60	60	生存	
16	60	60	生存	
17	60	60	生存	
18	60	60	生存	
19	60	60	生存	
20	60	2	死亡	移植片の脱落による尿漏れ
21	60	2	死亡	移植片の脱落による尿漏れ
22	180	180	生存	
23	180	180	生存	
24	180	180	生存	
25	180	180	生存	
26	180	180	生存	
27	180	2	死亡	移植片の脱落による尿漏れ
28	180	3	死亡	移植片の脱落による尿漏れ
29	365	365	生存	
30	365	365	生存	
31	365	365	生存	
32	365	365	生存	
33	365	365	生存	
34	365	365	生存	
35	365	2	死亡	移植片の脱落による尿漏れ

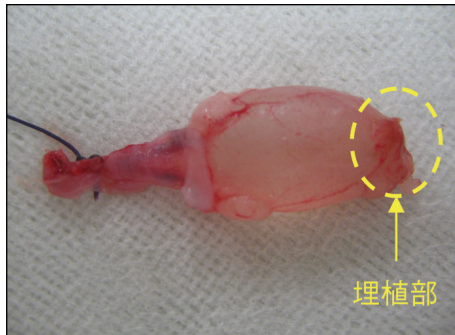
いては3匹が細菌感染、8匹が甲羅フィルムの縫合不全による尿漏れ、2匹が麻酔による死亡であった。

図5は、亀の脱皮した甲羅を膀胱内に180日間留置した後摘出した膀胱を示す。肉眼的観察では移植した部位に肉芽組織が発達し、かつその肉芽組織を覆うように幾重にも血管新生が観察された。膀胱再建を成しうるためには移植片が体内で分解促進や新生組織への栄養供給が必要であり、そのため移植部位に十分な血流を確保することが必須であることが報告されている^(13,14)が、本実験においても摘出後の移植部付近には肉眼的所見により幾重にも血管新生が観察された。

図6、7は埋植180日後の膀胱を3日間ホルマ

リンに浸漬させたものを示す。図8、9は摘出した膀胱をホルマリン固定した後、組織学的観察を行うためHE染色を施したものである。ラット膀胱に長期間留置することにより移植片は大部分が融解し、その周囲は肉芽組織に囲まれ、膀胱内腔面は再生上皮で被覆されていた。

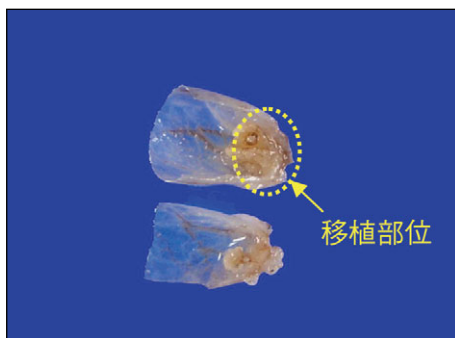
埋植後、7日目のものは、肉眼的観察では亀甲羅の移植片が分解されず完全に残っていたが、縫合部からの炎症、感染は特に観察されなかった。30日間経過すると肉眼的には移植片が融解・吸収され、膀胱組織が移植片を覆い、病理学的にも置換していく様子が観察された。180日後に摘出した膀胱では、移植片がほとんど融解され、移植部位の修復がなされている様子が観察された。



(図5) ホルマリン固定前のラット膀胱
埋植試験180日後膀胱を摘出したもの



(図6) ホルマリン固定後のラット膀胱
埋植試験180日後摘出したラット膀胱を4%w/v
ホルマリンにて3日間浸漬させ固定したもの



(図7) ホルマリン固定後のラット膀胱
図6の半切標本

4. 考 察

これまでの人工材料を用いて行われた膀胱再建に関する研究を表2に示す。補填材料としてはゼラチンスポンジ、シリコンゴム、ポリビニルアルコールスポンジ、ポリテトラフルオロエチレン、ポリビニールアルコールスポンジ、ポリエチレン等の人工材料を用いて多くの研究者が膀胱再建を試みている。しかしながら、人工材料の問題点は機械的なトラ

ブルと異物反応であり、腎への尿の逆流や尿路閉塞による水腎症、腎盂腎炎、腹膜炎、腫瘍等がある場合人工材料のところが感染源として働くこと、また異物による結石形成のため、いずれも不成功に終わっている⁽³⁶⁾。1986年にGoyaが報告したexpanded polytetrafluoroethylene (E-PTFE) グラフトを用いたイヌの膀胱再建では、後日E-PTFEグラフトが膀胱内に脱落したという結果から、非吸収性の人工材料は反応性の肉芽形成が起こり、グラフトを排出させるように生体が反応して、膀胱内腔へ脱落することが示された⁽²⁶⁾。従って、膀胱再建には使用する材料には生体吸収性が要求されるといえる。一方、筋膜、皮膚、保存膀胱、大網等の生体材料を用いた研究も行われており、一時的置換が可能なが報告されている(表3)。

著者も本実験を始める前にコラーゲンフィルムやコラーゲンスポンジ、塩化ビニル等の材料を用いて膀胱再建術を行ったが、いずれも移植片の脱落や溢水、破損により失敗をした。しかしながら、今回ミシシッピアカミミガメの脱皮した甲羅を用いて実験をおこなったところ、22匹のSDラットでこれらの症状が現れずに膀胱再建を行うことができた。しかし、11匹では細菌感染やフィルムの脱落などにより不成功であった。細菌感染によるものでは手術部位からの細菌感染が考えられた。実験開始当初、このような症状で死亡するケースが多かったが手術後に抗生物質を投与することにしてからはこのような死亡例が減少した。

移植片の脱落による尿漏れによる死亡例では移植手術の縫合時に物理的力が加わり移植片に若干の亀裂・破損が生じることによって移植片と膀胱との縫合が不完全な場合に、手術後にラットが生活行動を行うことにより亀裂・破損が日々大きくなり、尿漏れに至ったと考えられた。そのため、縫合は綿密に行い、体内へ戻す際にも再度、亀裂、破損および移植片と膀胱との間隙がないかどうか確認することとしたところ、それ以降は死亡例が減少した。これらの工夫により、手術成功例が増加した。これにより長期的なラットの観察が行いやすくなり、データには示していないが2年間長期飼育が可能になった例もあった。

移植後7日目の肉眼的観察では、移植片が分解されず完全に膀胱部に残っていたが縫合部からの

表2 人工材料を用いた膀胱再建と合併症

材質	報告年	報告者	対象	合併症
ポリアミド (Acrylic mold)	1955	Bohne ら ⁽¹⁵⁾	イヌ	腹膜炎 膿腎症 狭窄
	1961	Swinney ら ⁽⁷⁾	イヌ	水腎症 瘻孔
ポリビニールアルコールスポンジ (Polyvinyl alcohol sponge)	1957	Kudish ⁽⁸⁾	イヌ	グラフト萎縮 腹膜炎
	1961	Swinney ら ⁽⁷⁾	イヌ	水腎症 グラフト排出
	1962	McDonald ら ⁽⁹⁾	イヌ	グラフト萎縮
ポリエチレン (Polyethylene)	1957	Bohne ら ⁽¹⁰⁾	ヒト	水腎症 尿路感染症
	1964	Tsulukidze ら ⁽¹⁶⁾	ヒト	膀胱尿管逆流
ポリテトラフルオロエチレン (Polytetrafluoroethylene)	1961	Swinney ら ⁽⁷⁾	イヌ	グラフト移動
	1970	Kelami ら ⁽¹⁷⁾	イヌ	水腎症 グラフト外被化
ポリテフタレートエチレングリコール (Polyterephthalate ethylene glycol)	1963	Uhlir ⁽¹⁸⁾	ウサギ	記載なし
ナイロン (Nylon velour)	1969	Dressler ら ⁽¹⁹⁾	イヌ	記載なし
テトロン膜 (Tetron membrane)	1967	Tsuiji et ら ⁽²⁰⁾	イヌ	グラフト排出
		Tsuiji et ら ⁽²⁰⁾	ウサギ	グラフト外被化
ゼラチンスポンジ (Gelatin sponge)	1967	Tsuiji et ら ⁽²⁰⁾	イヌ	水腎症
		Tsuiji et ら ⁽²⁰⁾	ウサギ	瘻孔
		Tsuiji et ら ⁽²⁰⁾	ヒト	狭窄
	1970	Orikasa ら ⁽²¹⁾	ヒト	記載なし
シリコンゴム (Silicone rubber)	1967	Askhar ら ⁽²²⁾	イヌ	グラフト外被化 水腎症
ポリプロピレン (Monofilament knitted Polypropylene)	1972	Stanley ら ⁽²³⁾	ヒツジ	膀胱尿管逆流
		Stanley ら ⁽²³⁾	イヌ	記載なし
	1971	Rigotti ら ⁽²⁴⁾	イヌ	腫瘍
和紙 (Paper)	1977	Taguchi ら ⁽²⁵⁾	ヒト	記載なし
ポリテトラフルオロエチレン (expanded polytetrafluoroethylene)	1986	Goya ⁽²⁶⁾	イヌ	グラフト脱落
ポリグラクチン910 (Polyglactin 910)	1988	Youssef ら ⁽²⁷⁾	マウス	結石

(注) 上記膀胱再建術の実施においては、すべて人工材料を膀胱の一部分に補填する部分置換を行っている。

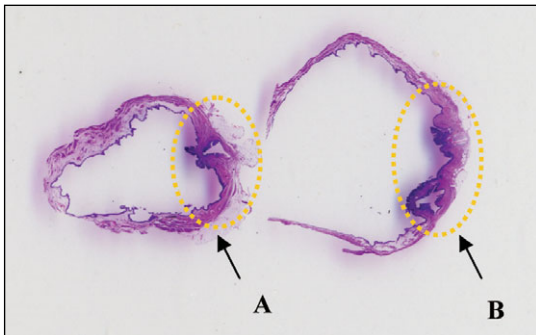
表3 生体材料を用いた膀胱再建の試み

材質	報告年	報告者	対象
筋膜	1917	Neuhofら ⁽²⁸⁾	ヒト
皮膚	1956	Draperら ⁽²⁹⁾	イヌ
保存膀胱	1961	Tsuijiら ⁽³⁰⁾	イヌ
大網	1967	Goldsteinら ⁽³¹⁾	ウサギ
硬膜	1971	kelamiら ⁽³²⁾	イヌ
消化管	1972	Leongら ⁽³³⁾	イヌ
腹膜	1978	Hutschenreiterら ⁽³⁴⁾	ウサギ
心外膜	1992	Kambicら ⁽³⁵⁾	イヌ

炎症などは特に観察されなかった。30日経過すると肉眼的に移植片の融解が見られ、膀胱組織が移植片を覆い、組織学的にも移植片内に浸潤していく様子が観察された。180日後のものは、移植片がほとんど融解しており、膀胱組織が移植片内によく浸潤し移植部位の修復がなされている様子が観察できた。1年間経過したものでは、完全に亀甲羅が融解・吸収され周囲の膀胱組織と一体化し修復がなされていた。

今回用いた亀甲羅の移植片は膀胱再建の必須条件である尿の貯留機能を長期間保持できただけではなく、手術後にラットが生活行動を行うことにより生ずる物理的影響に耐えうるだけの適度な強度、柔軟性があることが確認できた。また、脱落

や感染および拒絶反応などがなく細菌感染、結石や尿路の狭窄も起こらず、手術直後から膀胱摘出直前まで排尿を確認することができた。さらに膀胱と材料との間に尿漏れのない密な縫合が可能であることや材料としての入手や作成、保存が簡便であることが利点として挙げられる。膀胱は尿路上皮、粘膜固有層、内縦、中輪、外縦の平滑筋層、漿膜からなるが、図9のように移植部位の粘膜固有層と平滑筋層の間には境界線がはっきりとは観察できなかった。しかしながら、移植片を覆うように増殖能力の盛んな若い結合組織である肉芽組織が尿路上皮を支えるように発達している様子が観察でき、180日後には移植片はほとんど残っておらず、亀甲羅の移植片が本来の膀胱組織に置換されたと考えられた。



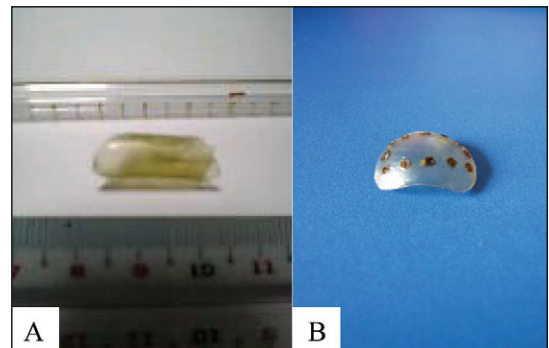
(図8) HE染色後のラット膀胱断面図
埋植試験180日後に摘出したラット膀胱を
ホルマリン固定後、HE染色を行った
A：移植片の辺縁に近い部位
B：移植片の辺縁に遠い部位



(図9) HE染色による埋植試験180日後の
ラット膀胱切片の所見 (×10)

黄点線内に亀甲羅フィルム的一部分が残存し、周囲は肉芽組織に囲まれ、膀胱内腔面は再生した上皮に被覆されている。フィルム埋植部位における筋層再生は見られない。

今回、膀胱再建に用いた亀甲羅は多くの研究者が膀胱再建の条件として挙げている生体分解性を持ち、また分解されるまでの期間が長期間にわたるため、組織内で支持組織としての役割を果たし、尿路上皮細胞や漿膜、筋層が十分に発達するための期間が確保されるものと考えられる。このことにより、正常の尿路組織が再生するまでの期間、機械的強度を保持できたため、他の医療材料の移植初期に起こりやすい、ラットが生活行動を行うことにより生ずる移植片の脱落や破損、尿漏れなどが低く抑えられたものと考えられる。また、長期間留置しても著明な炎症や尿漏れが認められなかったことも他の医療材料と比べて優れた点である。



(図10) 脱皮したミシシippアカミミガメ甲羅
フィルムの形状変化
ミシシippアカミミガメ甲羅フィルムを加工し、
形状変化させたもの。
A：ロール状 B：ドーム状

通常、亀甲羅フィルムは平坦な形状をしているが、現在、我々は鋳型を用いることによってドーム状やロール状に形状を変えることに成功している(図10)。これにより膀胱再建だけではなく、尿管や尿道等の再建や泌尿器科分野に限らず、血管や軟骨組織など様々な部位において置換する材料として使用することが可能であると考えている。現在、我々は亀甲羅を皮膚欠損部位の被覆材として用いる可能性も模索している。

今後、免疫系に対する影響や生体分解の過程などを検討していく必要性はあるが、この亀甲羅フィルムは加工し、形状や機械的強度を変化させることにより様々な生体材料として使用できる可能性があると考えられる。

5. 謝 辞

本研究を行うにあたり、長期にわたり多大なるご指導を頂きました栗倉医院院長大石賢二先生ならびにミシシピアカミミガメの試料をご提供頂きました栗倉医院の大石三千代氏に心から御礼申し上げます。また、外科的技術のご指導を頂きました健和会大手町病院の池田英夫先生、本論文をまとめるにあたりご懇篤なるご指導、ご助言を頂きました東亜大学、東亜大学大学院の中澤淳先生、中澤晶子先生、落合爲一先生、社会医療法人共愛会戸畑共立病院の加藤達治先生、医療法人社団青寿会武久病院の福本哲夫先生に謹んでお礼を申し上げます。

引用文献

- (1) Watanabe Eiko, Yamato Masayuki, Okano Teruo (2008) , Regenerative Medicine of Bladder, 『日本再生医療学会雑誌』, Vol. 7 No. 1 : 61-65
- (2) Atala A (2000) , Tissue Engineering for Bladder Substitution, World Journal Urology, 18 : 364-370
- (3) Yoshiyuki Shiroyanagi, Masayuki Yamato, Teruo Okano, Hiroshi Toma (2004) , Bladder Regeneration using Tissue Engineering, Organ Biology, Vol. 11 No. 3
- (4) Elbahnasy AM, Shalhav A, Hoenig DM et al, (1998) , Bladder Wall Substitution with Synthetic and Nonintestinal Organic Materials, Journal of Urology, 159 : 628-637
- (5) Hensle Tw, Dean GE (1991) , Complications of Urinary Tract Reconstruction. Urologic Clinics of North America, 18 : 755-764
- (6) Bohne, A.W, Osborne, R.W, Hettle P. J (1955) , Regeneration of the Urinary Bladder in the Dog, Following Total Cystectomy Surg, Gynec & Obst, 100 : 259
- (7) Swinney J, Tomlinson B.E, Walder D.N (1961) , Urinary Tract Substitution Brit, Journal of Urology, 33 : 414
- (8) Kudish H.G (1957) , The Use of Polyvinyl Sponge for Experimental Cystopasty, Journal of Urology, 78 : 232
- (9) McDonald J.H, Deniz E (1962) : Ivalon Cystoplasty, Journal of Urology, 88 : 511
- (10) Bohne A.W, Urwiller K.L (1957) , Experience with Urinary Bladder Regeneration, Journal of Urology, 77 : 725
- (11) Elbahnasy AM, Shalhav A, Hoenig DM et al, (1998) , Bladder Wall Substitution with Synthetic and Non-intestinal Organic Materials, Journal of Urology, 159 : 628-637
- (12) Gleeson M.J, Griffith D.P (1992) , The Use of Alloplastic Biomaterials in Bladder Substitution, Journal of Urology, 148 : 1377-1382
- (13) Stanley T.H, Feminella J.G. Jr, Priestley J.B, Lattimer J.K (1972) , Subtotal Cystectomy and Prosthetic Bladder Replacement, Journal of Urology, 107 : 783
- (14) Rigotti E, Randone D, Tizzani A, Frea B, Borgno M (1976) , Total Substitution of the Bladder with a Prosthesis. Experimental Research. Preliminary Results, Mimerva Urologica, Jan-Feb; 28 (1) : 1-5
- (15) Bohne A.W, Osborne R.W, and Hettle P.J (1955) , Regeneration of the Urinary Bladder in the dog, following Total Cystectomy. Surg, Gynec. & Obst., 100 : 259
- (16) Tsulukidze A, Murvanidze D, Dvali R, Ivashchenko, G (1964) , Formation of a "Bladder" by a Plastic Shell after Total Cystectomy, British Journal of Urology, 36 : 102
- (17) Kelami, A, Dustmann.H.O, Ludtke-Handjery A, Carcamo V, and Herold, G (1970) , Experimental Investigations of Bladder Regeneration using Teflon-felt as a Bladder Wall Substitute, Journal of Urology, 104 : 693
- (18) Uhlir K (1963) , Substitution of the Urinary

- Bladder by Means of an Artificial Prosthesis, *Urologia*, 30 : 396
- (19) Dressler D.P, Many M (1969) , A new Concept in Prosthetic Urinary Bladder Material, *A.S.A.I.O. Transactions*, 15 : 25
- (20) Tsuji I, Shiraishi Y, Kassai T, Kunishima K, Orikasa S, Abe N (1967) , Further Experimental Investigations on Bladder Reconstruction without using the Intestine, *Journal of Urology*, 97 : 1021
- (21) Orikasa S, Tsuji I (1967) , Enlargement of Contracted Bladder by use of Gelatin Sponge Bladder Patch, *Journal of Urology*, 98 : 679
- (22) Ashkar L, Heller E (1967) , The Silastic Bladder Patch, *Journal of Urology*, 98 : 679
- (23) Stanley T.H, Feminella J.G.Jr, Priestley J.B, Lattimer J.K (1972) , Subtotal Cystectomy and Prosthetic Bladder Replacement, *Journal of Urology*, 107 : 783
- (24) Rigotti E, Randonne D.F, Tizzani A, Frea B, Borgno M (1976) , Total Substitution of the Bladder with a Prosthesis. Experimental Research. Preliminary Result, *Minerava Urologica*, Jan-Feb; 28 (1) : 1-5
- (25) Taguchi H, Ishizuka E, Saito K (1977) , Cystoplasty by Regeneration of the Bladder, *Journal of Urology*, 118 : 752
- (26) Goya.N (1986) , E-PTFE Graft as a Urinary Tract Prosthesis. First report : the Change of the E-PTFE Graft and Bladder Wall after Partial Replacement of the Bladder Wall, *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*, May; 77 (5) : 813-821
- (27) Youssef M, Chopin D, Leandri J, Auvert J, Loisanse D, Abbou C (1988) , Cystoplastie Utilisant une Rothese Resorbable Depolyglactine Doublee dun Lambeau Libre Peritoneal. *Ann.d'Urology*, 22 : 263
- (28) Neuhof H (1917) , Fascia Transplantation into Visceral Defects, an Experimental and Clinical Study, *Surg, Gynec. & Obst.*, 3 (5) : 647
- (29) Draper JW, Stark RB (1956) , End Results in the Replacement of Mucous Membrane of the Urinary Bladder with Thick-split Grafts of Skin, *Surgery*, 39 (3) : 434-440
- (30) Tsuji I, Ishida H, Fujieda J (1961) , Experimental Cystoplasty using Preserved Bladder Graft, *Journal of Urology*, 85 : 42-44
- (31) Goldstein MB, Dearden LC, Gualtieri V (1967) , Regeneration of Subtotally Cystectomized Bladder Patched with Omentum : an Experimental Study in Rabbits, *Journal of Urology*, 97 (4) : 664-668
- (32) Kelami A (1971) , Lyophilized Human Dura as a Bladder Wall Substitute : Experimental and Clinical Results, *Journal of Urology*, 105 (4) : 518-522
- (33) Leong CH, Ong GB (1972) , Gastrocystoplasty in Dogs, *Australian and New Zealand Journal of Surgery*, 41 (3) : 272-279
- (34) Hutschenreiter G, Rumpelt HJ, Klippel KF, Hohenfellner R (1978) , the Free Peritoneal Transplant as Substitute for the Urinary Bladder Wall, *Investigative Urology*, 15 (5) : 375-379
- (35) Kambic H, Kay R, Chen JF, Matsushita M, Harasaki H, Zilber S (1992) , Biodegradable Pericardial Implants for Bladder Augmentation : a 2.5-year study in dogs, *Journal of Urology*, 148 (2 pt) 2 : 539-543
- (36) 富澤康子 (2004) 「人工血管 この1年の動き」『人工臓器』日本人工臓器学会, Vol. 33 No. 3 : 191-197

Bladder Reconstruction using the Shell of the Red-Eared Slider

Masakatsu SUZUKI

Department of Medical Engineering, Faculty of Allied Health Sciences, University of East Asia, 2-1 Ichinomiya-gakuen-cho, Shimonoseki, Yamaguchi, Japan

Abstract

Today about 400 million people have bladder diseases. Among these patients, those with abnormal bladder function require bladder augmentation in order to prevent functional compromise. The patient's own gastrointestinal tract is frequently used as a material for bladder-augmenting reconstruction. However, this procedure is complicated by the problems associated with the gastrointestinal origin of the mucosa that is used. Accordingly, various artificial materials have been studied to replace the patient's own gastrointestinal tract, but no satisfactory results have yet been achieved. In this study, we used a film obtained from the shed shell of the red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*, a semi-aquatic turtle) as a new bladder-reconstruction material. The main ingredient of the turtle shell is keratin. Keratin extracted from wool has recently been investigated as a potential medical material. In our experiment, we processed the shed shell of the red-eared slider for use as a bladder graft and implanted it in 35 female Sprague-Dawley rats. Twenty-two implanted rats survived without visible inflammatory reactions, urine leakage, or infection. In these rats, the implant was not recognized or eliminated as a foreign body. After a month of the implantation, the rat bladders were stained with hematoxylin and eosin and histologically examined, revealing that the animal's own bladder tissue had infiltrated the turtle shell film and multiplied. At 6 months, histological observations confirmed reconstruction of the animal bladder. The implantation site was surrounded by granulation tissue except a part of the implantation material, and the surface of the bladder lumen was covered with regenerated urothelial cells.

With future modifications of its shape and mechanical strength through processing, the shed shell of the turtle should be useful as a new material in regenerative medicine.