The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Biodegradable Polymer with Collagen-Microsponge Serves as a New Bioengineered Cardiovascular Prosthesis |
| Author(s) | 盤井, 成光 |
| Citation | 大阪大学, 2004, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/45519 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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

【15】

| | |
|---|---|
| 氏　　名 | 盤井成光（いわい しげみつ） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博　士（医　学） |
| 学位記番号 | 第　18972　号 |
| 学位授与年月日 | 平成16年7月14日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当<br>医学系研究科臓器制御医学専攻 |
| 学位論文名 | Biodegradable Polymer with Collagen-Microsponge Serves as a New Bioengineered Cardiovascular Prosthesis<br>（生体分解性ポリマーとコラーゲンマイクロスポンジよりなる、組織工学を応用した心血管修復用パッチの検討） |
| 論文審査委員 | （主査）<br>教　授　松田　暉<br>（副査）<br>教　授　白倉　良太　　教　授　妙中　義之 |

## 論文内容の要旨

〔目的〕

従来、心血管修復用パッチとしてはグルタールアルデヒド処理した自己心膜や異種心膜、人工血管等を用いているが、石灰化・shrinkage・耐久性等の問題がある。これらの問題を解決するために組織工学を応用して、より生体適合性の高い“tissue engineered patch”が開発されつつある。

現在報告されている tissue engineered patch は生体分解性ポリマーを加工し、生体外で自己細胞を培養・播種してから使用するものであるが、それらには作成の過程において感染や侵襲の危険性を伴うことがある。そこで本研究においては、生体分解性ポリマーおよびコラーゲンマイクロスポンジを scaffold とし、術前の細胞播種なしに in-situ で自己の血管壁細胞を導入し自己組織化しうる人工パッチを作成し、動物実験モデルにおける組織化学的・力学的評価を行った。

〔方法〕

生体分解性ポリマー（poly-lactic-co-glycolic acid ; PLGA）メッシュにコラーゲンマイクロスポンジ（ポアサイズ50～150μm）を架橋処理した PLGA-コラーゲンパッチを作成した。

i）In-vitro 実験

PLGA メッシュのみ（n=5）、PLGA にコラーゲンを単純にコーティングしたもの（n=5）、PLGA にコラーゲンマイクロスポンジを架橋処理した PLGA-コラーゲンパッチ（n=5）の3群に血管内皮細胞を播種し3日間培養し、その細胞生着性を MTT assay にて比較した。

ii）In-vivo 実験

術前に自己の血管壁細胞を培養・播種した群（n=5）と細胞播種しない群（n=10）に分け、PLGA-コラーゲンパッチ（20×15 mm）をビーグル成犬の肺動脈主幹部に移植して、2および6カ月後に摘出し、①組織学的評価、②生化学的定量、③機械的強度の検討を行った。

〔成績〕

i）In-vitro 実験

血管内皮細胞生着試験では、培養３日目のMTT assayでPLGA：0.27±0.13、PLGA-コラーゲンコート：0.43±0.19、PLGA-コラーゲンマイクロスポンジ：0.65±0.08とPLGA-コラーゲンマイクロスポンジが有意に高い細胞生着性を認めた。

ii）In-vivo実験

移植２カ月後に摘出したパッチは、全例内腔面には肉眼的に血栓付着はなく、サイズの変化も認めなかった。

①両群とも組織学的にポリマーはほぼ完全に吸収されており、免疫染色にてFactor Ⅷ陽性の単層均一の内皮細胞による被覆およびα-actin陽性の配向性をもった平滑筋細胞を認めた。またelastica van Gieson染色にて弾性線維の新生を認め、蛍光抗体によるコラーゲン免疫染色で全層性にtype Ⅰコラーゲンを、基底膜部にtype Ⅳコラーゲンをnativeの肺動脈組織と良く似た構造で認めた。さらにvon-Kossa染色にて６カ月後も石灰沈着は認めなかった。

②定量的には、摘出したパッチの細胞性成分（DNA量）は細胞播種（＋）２カ月：113±23%、細胞播種（－）２カ月：95±22%、細胞播種（＋）６カ月：101±25%、細胞播種（－）６カ月：87±26%で、コラーゲン量は細胞播種（＋）２カ月：127±26%、細胞播種（－）２カ月：110±15%、細胞播種（＋）６カ月：135±35%、細胞播種（－）６カ月：117±30%、エラスチン量は細胞播種（＋）２カ月：51±42%、細胞播種（－）２カ月：54±29%、細胞播種（＋）６カ月：91±18%、細胞播種（－）６カ月：90±31%（いずれもnativeの肺動脈に対する%）であり、両群ともnativeに近い細胞数・コラーゲン・エラスチンの含有を認めた。

③力学的にも移植後２および６カ月の引張り強度はnativeの肺動脈より有意に高値であった（細胞播種（＋）２カ月：14.8±2.6 N、細胞播種（－）２カ月：14.2±4.4 N、細胞播種（＋）６カ月：26.8±7.0 N、細胞播種（－）６カ月：28.7±8.1 N）。

〔総括〕

生体分解性ポリマーおよびコラーゲンマイクロスポンジをscaffoldとしたPLGA-コラーゲンパッチは細胞生着性が高く、術前細胞播種なしでも、移植後２カ月で血管壁構造の再構築が見られ、６カ月後も石灰化を認めず、In-situでの自己細胞導入により自己組織化をめざした心血管修復用パッチとしての有用性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

従来、心血管修復用パッチとしてはグルタールアルデヒド処理した自己心膜や異種心膜、人工血管等を用いているが、石灰化・耐久性等の問題がある。

これらの問題を解決するために、本研究においては、生体分解性ポリマー（PLGA）およびコラーゲンマイクロスポンジをscaffoldとし、術前の細胞播種なしに生体内で自己の血管壁細胞を導入し、自己組織化をめざした人工パッチ（PLGA-コラーゲンパッチ）を作成し、動物実験モデルにおける組織化学的・力学的評価を行った。

生体外での血管内皮細胞生着試験では、PLGA-コラーゲンパッチは高い細胞生着性を示した。動物実験では、術前細胞播種の有無に関わらず、肺動脈主幹部へのパッチ移植後２カ月で血管壁構造の再構築が見られ、６カ月後も石灰化を認めず、力学的にも十分な強度を有した。

生体内での自己細胞導入により、自己組織化をめざした心血管修復用ティシュエンジニアリングパッチとしての有用性が示唆されたという点で意義深く、学位に値するものと考える。