

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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名 いわ 盤 井 成 光

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 8 9 7 2 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 6 年 7 月 1 4 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

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
(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)

教 授 松 田 暉

(副査)

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す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 50~150 μ m) 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 : $113 \pm 23\%$ 、細胞播種 (-) 2カ月 : $95 \pm 22\%$ 、細胞播種 (+) 6カ月 : $101 \pm 25\%$ 、細胞播種 (-) 6カ月 : $87 \pm 26\%$ で、コラーゲン量は細胞播種 (+) 2カ月 : $127 \pm 26\%$ 、細胞播種 (-) 2カ月 : $110 \pm 15\%$ 、細胞播種 (+) 6カ月 : $135 \pm 35\%$ 、細胞播種 (-) 6カ月 : $117 \pm 30\%$ 、エラスチン量は細胞播種 (+) 2カ月 : $51 \pm 42\%$ 、細胞播種 (-) 2カ月 : $54 \pm 29\%$ 、細胞播種 (+) 6カ月 : $91 \pm 18\%$ 、細胞播種 (-) 6カ月 : $90 \pm 31\%$ (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ッ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する。