



Title	A self-renewing, tissue-engineered vascular graft for arterial reconstruction
Author(s)	鳥飼, 慶
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54172
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	とり かい けい 鳥 飼 慶
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 6 9 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 22 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科未来医療開発専攻
学 位 論 文 名	A self-renewing, tissue-engineered vascular graft for arterial reconstruction (ティッシュエンジニアリングを応用した自己組織化する動脈再建用人工血管の開発)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 澤 芳樹 (副査) 教 授 奥村明之進 教 授 伊藤 壽記

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

心臓血管外科領域で臨床使用される人工血管の欠点を克服する、より理想的な人工血管を作成するため、生体適合性のある生分解性素材や脱細胞化処理した生体組織を応用した様々な tissue-engineered vascular graft が研究・開発されている。一部は臨床応用まですすんでいるものの、多くは機能向上のために術前の細胞操作や bioreactor による育成を必要とする上、耐久性の問題から低圧系での使用に限られている。本研究では、当科 Iwai らが報告した血管修復用素材のコンセプトを発展させ、*in situ* で自己組織化する動脈用人工血管を新規にデザインし、その *in vivo* での有用性を主に大動物実験モデルを用いて検討した。

[方 法]

Collagen microsphere を付加した knitted poly-glycolic acid (PGA) を内層に、また外層には woven poly-L-lactic acid (PLLA) を配し、これらを poly- ϵ -caprolactone が接着する PGA/PLLA patch を作成。いずれも生分解性材料で、PGA 層は porous な形状を呈し、collagen とともに足場構造としての細胞親和性向上に寄与する。PLLA 層は patch の強度を担う。細胞培養試験を行い PGA/PLLA patch の細胞親和性を定量的に評価した。また、PGA/PLLA patch を管状にして作成した内径 10mm、全長 30mm の PGA/PLLA graft をミニブタの胸部下行大動脈に移植。移植後 1 (n=2), 2 (n=4), 4 (n=5), 6 (n=4), 12 (n=4) ヶ月で graft を摘出し、形態学的、免疫組織学的、生化学的、力学的、生理学的検討を行った。Control として同サイズの ePTFE graft を移植 (n=5)。

[成 績]

細胞培養試験では、PGA・PLLA 層とも 2 系統の cell line (HUVEC, murine fibroblasts) において ePTFE より有意に細胞親和性が高かった ($p < 0.05$)。観察期間中破裂などによる突然死は認めず。肉眼的に内腔面は乳白色、平滑で、native と同様の外観を呈した。1 ヶ月の時点で PGA 成分はほぼ分解されていたのに対し、PLLA 層は移植後 12 ヶ月でも残存していた。電子顕微鏡による観察では、移植部内腔面は血流方向に一致した配向を示す confluent な内皮細胞で覆われていた。PLLA 層の内腔側を占める再生組織壁厚は、部位・移植期間による差異を認めず、平均 1.5mm であった。組織学的には、内腔面は vWF-positive の一層の扁平細胞で覆われ、その下層で α -SMA-positive な細胞の重層配列を認めた。PGA 成分は移植後 2 ヶ月で吸収されるが、残存する PLLA 層周囲には一部炎症細胞の浸潤を認めた。内皮下層で Victoria blue-positive の間質成分を認めるも明らかな線維構造は確認できず。Collagen type IV は内皮直下に一致して陽性であった。Collagen は移植後時間経過とともに増加傾向にあり、6 ヶ月の時点で native と同等のレベルに達するのに対し、elastin は 4 ヶ月以降横ばいで 12 ヶ月の時点でも native の 1/3 程度であった。残存 PLLA 層をサンプリングした引っ張り強度試験では、maximal tensile strength は時間経過とともに減少するものの 12 ヶ月の時点でも native 組織より高かった。移植後 2 ヶ月の再生組織において norepinephrine (NE), sodium nitroprusside (SNP) の血管平滑筋作動性薬剤に対する response を認めた。Isometric study による定量的検査では 2, 12 ヶ月モデルとも NE, SNP に対してそれぞれ用量依存性の収縮、弛緩を示した。

[総 括]

PGA/PLLA graft は *in situ* での自己組織化を可能とし、移植後 12 ヶ月においても動脈圧に耐えうる強度と、再生組織における血管運動性の獲得が示された。以上より本 graft の動脈手術での使用の可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究はティッシュエンジニアリングを応用した自己組織化する動脈再建用人工血管に関するものである。既存人工血管の問題を解決するため、足場構造のみで *in situ* での自己組織化を可能とするグラフトを開発、その有用性を検討した。グラフトは生体適合性を有する生体分解性ポリマーで構成され、内層は細胞親和性の、外層は強度向上に寄与している。グラフトをブタ大動脈に移植(最長 12 ヶ月)、摘出標本を用いて形態学的、生化学的検討にくわえ物理的強度、血管運動性を評価した。動物モデルは全例生存。グラフトは全て開存し、拡大・瘤化認めず。内腔面は血栓の付着なく、native と同様の外観であった。組織学的には内腔面は一層の内皮細胞で覆われ、その下層に平滑筋細胞の重層配列を認めた。細胞外マトリックスは移植期間に伴い増加傾向を示した。グラフト強度は移植後 12 ヶ月の時点でも native tissue より高く、血管運動性試験では再生組織の収縮弛緩反応を認めた。本グラフトは、*in situ* cellularization により native 血管と同等の形態を有する他に、動脈に使用可能な耐久性及び血管運動性を示した。小口径人工血管を含め、多方面への応用が期待され、今後の人工血管の開発・研究の一つの方向性を示したと言える。

以上より、この論文は学位に値するものと認める。