

令和 5 年 5 月 15 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2022

課題番号：17K10739

研究課題名（和文）生体吸収性素材のみによる肺静脈の再生 - 肺静脈狭窄に対する新たな治療法の開発 -

研究課題名（英文）Tissue-engineered pulmonary vein using biodegradable scaffold

研究代表者

松村 剛毅 (Matsumura, Goki)

東京女子医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20297469

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：生体吸収性ポリマーによる肺静脈の再生の可能性について検証した。血管再生用の生体吸収性ポリマーを実験動物に埋植することにより肺静脈が再生されるか、を動物実験にて行った。全身麻酔下にて実験動物の肺静脈に生体吸収性ポリマーを逢着し、術後最長1年にわたり経過観察をした。カテーテル検査にて経時的に経過観察を行ったところ、肺静脈も再生させることが可能であることを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺静脈に狭窄や閉塞を来す病態は重篤であり、治療にも難渋することがある。外科的に治療可能としても遠隔期にしばしば合併症を来し、依然改善の余地を残す。現存する医材での治療は再狭窄などのリスクが極めて高く、現状は可能な限り自己組織による修復が行われている。このような病態に対して再生医療が適するものと考え、治療のオプションとして生体吸収性ポリマーにより肺静脈の解剖学的狭窄に対する外科的治療が可能であるかを動物実験にて検証した。

今回の実験にて組織学的再生が肺静脈でも可能であることが造影カテーテル検査や組織学的検証により証明され、生体吸収性ポリマーによる肺静脈の解剖学的治療の可能性を示すことができた。

研究成果の概要（英文）：Our study aimed to explore the potential of using biodegradable polymers to regenerate pulmonary veins. To determine this issue, we implanted an oval-shaped biodegradable polymer onto the left pulmonary vein of the experimental animals. Our objective was to see if the biodegradable polymers, designed for vascular regeneration, could repair narrowed or stenotic pulmonary vein lesions without the need for any kind of medicine or cell sources. Postoperative catheterization studies were conducted to study the patency of the tissue-engineered pulmonary vein. Follow-up examinations using catheterization studies and histological examinations of the explanted tissue-engineered pulmonary veins demonstrated the possibility of regenerating pulmonary veins using a biodegradable scaffold.

研究分野：再生医療

キーワード：再生血管 肺静脈 外科的治療 生体吸収性素材 小児心臓血管外科

## 1. 研究開始当初の背景

小児慢性特定疾病の一つに肺静脈が狭くないし閉鎖している肺静脈狭窄症という疾患がある。先天性の場合と総肺静脈還流異常症(すべての肺静脈が左心房との交通を失い、直接右心房または体静脈と交通を有する疾患;先天性心疾患の0.3~2.0%に発生し外科治療を行わなかった場合、30%は3カ月以内に、80%は1歳までに死亡する。約10%に術後肺静脈狭窄が生じると予後不良となる。)および総肺静脈還流異常症の術後に合併症として認められる場合がある。肺静脈狭窄が生後早期から出現する場合には、肺うっ血に伴う重度のチアノーゼと多呼吸を認め、生後早期に死亡することが多い難治性で病因が不明の非常に予後不良の疾患である。治療は、カテーテル治療か手術であるが、肺静脈の再狭窄の頻度が依然高いのが現状である。

先天性心疾患の欠損した血管の修復手術には、自己心膜のような自己組織、代用補填物(人工血管)異種動物組織が使用されている。いずれの素材も埋植時は安定した医療材料だが、組織学的・機能的には自己血管にはなり得ない。特に異物は遠隔期に生体適合性がないために内膜肥厚、動脈硬化様変化、石灰化、血栓形成などを来す。小児へのこれらの医材の使用は、成長能がないことにより遠隔期において修復部の血管が相対的に狭小化するという現象も発生する。急性期においても、反応性に急速に退縮し、狭窄・閉塞を来すこともあり、再手術の原因となる。これらの欠点を補う医材が求められる一方、国内外に許認可された臨床に使用しやすいものは依然として存在しないのが現状である。

## 2. 研究の目的

肺静脈狭窄症のような場合によっては医材を必要とするが、上記のような欠点を補う医療材料の開発を行うことが目的である。将来使用しうる医療材料の候補として生体吸収性素材に着目した。また将来の臨床応用を鑑み汎用性と簡便性を追求し、生体吸収性素材のみを移植することにより吻合部周囲の血管細胞の自己修復能により肺静脈の再生血管が作成できることを動物実験にて証明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

生体吸収性素材: 再生血管用生体吸収性素材は、組織が形成される際の土台となる表層部は、ポリ乳酸およびε-カプロラクトン共重合体(50:50)(P(LA/CL))のスポンジを凍結乾燥法にて作製する。同スポンジを補強するための筒編み、また、求心性および長軸方向への抗耐圧性のためのスパイラルをP(LA/CL)などのモノフィラメント系にて作成する。実験犬の肺静脈径に準じて径4~5mmのものを試作する。肺静脈に最適な条件を模索するためにスパイラルのモノフィラメント系は2-0ないし3-0、筒編み部分は7-0とする。導管での動物実験の成否により必要に応じてパッチ形成用の素材として使用する。埋植する部位により生体吸収性素材の条件を模索しなくてはならないために、素材の改良・改変のための研究も併せて行う。

埋植実験: 体重約9kgのビーグル犬を使用する。麻酔および鎮痛・鎮静薬としては、ペントバルビタール、ベトルファール(酒石酸ブトルファノール)、ドルベネ(塩酸メドミジン)、プロポフォールを使用する。また、局所麻酔として2%キシロカインを併用する。左第5肋間開胸にて、左下肺静脈を剖出した上で抗凝固としてヘパリンを約100U/kgを静注する。同部位と左心房側を単純遮断し、生体吸収性素材を逢着する。導管での埋植であればグラフト長は約0.5~1cm、径は4~5mm、パッチ逢着であれば約10×7mmとする。

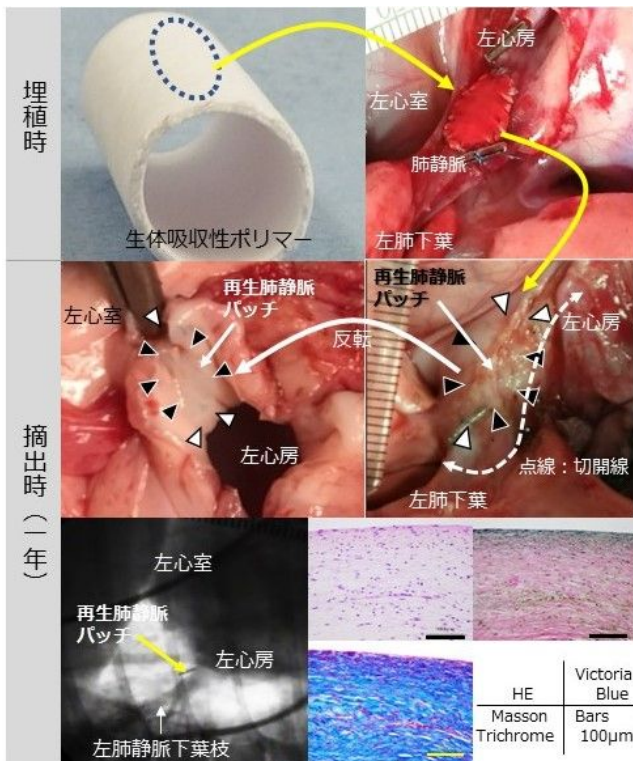
術後の経過観察と評価: 開存性を確認する手段としてはカテーテル検査を行う。埋植後、1,3,6,(12)か月後に検査を行った。鼠径部より7.5Frのシースを麻酔下に挿入し、バーマンのカテーテルを左肺動脈の下葉枝まで挿入する。左下葉枝にカテーテルを進めたのちに、生体吸収性素材を逢着した部位が描出できるように体位をとる。造影剤は手動的に注入し、再生肺静脈を描出する。必要に応じて計測ができるよう透視下に使用可能なルーラーを使用する。電子媒体に透視画像を記録・保存し、血管径・長を計測する。12か月のカテーテルをおこなった後に鎮静・鎮痛が効いている状態で実験動物を犠牲死せしめ再生肺静脈を剖出する。摘出した検体は、4%パラフォルムアルデヒドに浸透し、免疫組織化学染色を行ったうえで病理学的評価を行う。

#### 4. 研究成果

撮像した動画により再生肺静脈の開存性、形態を確認した。

まず、導管状の生体吸収性素材を埋植した。左右3葉の実験動物の1/6以下の低圧・血流での開存性は術後の抗凝固がないプロトコールでは難しいと判断するに至った。それは、6頭のうち6か月以上の開存が得られたのは1頭であり、1か月以上が2頭であった。生体吸収性素材の開発を行いつつ、そこで、本プロトコールに従って、まずは肺静脈部位でも生体吸収性素材によりパッチ形成が可能であることを証明することとした。その後、4頭にパッチ形成を行い、6か月以上（～12か月）の開存性と組織形成を得るに至った。

埋植後1年の剖出時の再生肺静脈内腔は内皮細胞に被覆され（図中段）、同部位の組織像も検証したところ血管平滑筋やエラスチン・コラーゲンの増生も認められた（図下段右：組織像）。血管平滑筋細胞も一部で増生を認めていたが、元来2年近くかけて再生することはこれまでの実験により判明しており、本研究においてはその経過観察期間より組織学的完成度（血管平滑筋細胞の増生）まで提示することはできない。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 松村 剛毅、新岡 俊治	4. 巻 62
2. 論文標題 ミニ特集 小児循環器疾患に対する再生医療 2.Tissue-Engineered Graftを用いた治療	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 小児科	6. 最初と最後の頁 620～625
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18888/sh.0000001760	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松村剛毅、諫山紀子	4. 巻 48
2. 論文標題 生体吸収性素材による再生肺静脈	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 378-379
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松村剛毅	4. 巻 38
2. 論文標題 生体吸収性ポリマーによる肺静脈の再生	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 431-433
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Goki Matsumura, Noriko Isayama, Hideki Sato	4. 巻 17
2. 論文標題 Evaluation method for cell-free in situ tissue-engineered vasculature monitoring: Proof of growth and development in a canine IVC model.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PloS one	6. 最初と最後の頁 e0267274
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.02672	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	諫山 紀子  (Isayama Noriko)  (50747706)	東京女子医科大学・医学部・研究生    (32653)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------