

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K16600

研究課題名(和文)慢性心筋虚血に対するシルクフィブロイン-高分子配合シートを足場材料とした再生医療

研究課題名(英文) Regenerative medicine using silk fibroin-polymer combine sheet for chronic myocardium ischemia

研究代表者

島田 亮 (SHIMADA, RYO)

大阪医科薬科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：60795079

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：シルクフィブロイン(SF)を基盤材料とし、虚血性心疾患等の虚血領域で、血管新生による血行再建と心機能回復を期待する血管新生シートを提案し、新たな治療法としての可能性を検証することを目的とした。

既報で用いたシルクフィブロイン(SF)シートを基盤として、物性を改良しペプチドの結合が可能な工夫を加えることに成功した(OSFフィルム)。OSFフィルムのヒト臍帯静脈内皮細胞の接着は良好で、優位な細胞増殖が得られ、細胞増殖性も増加した。

このOSFフィルムを血管新生フィルムへと応用するため、フィルム内部への機能性物質を担持させた徐放フィルム作製の検討を進めたが、機能性を維持させることができなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は虚血性心疾患などの慢性虚血病変に対して、新生血管形成を促す再生医療に着目している。再生医療はあらゆる分野で注目を浴びており、その内の一つとして心血管領域でも研究が盛んに行われている。これらの研究内容が成果を挙げることにより、現状では治療困難な病態に対しても、新たな治療法の一つになり得るため、非常に有益なものである。

シルクフィブロイン(SF)に関しては、優れた生体親和性また適度な強度を有する天然由来高分子材料として知られており、組織再生に必要な足場材料として注目されている。既知の材料を基盤とし、さらなる物性の改良や機能性物質の付与を行うことで、良い結果につながる可能性があると考えている。

研究成果の概要(英文)：This study's goal is verification of possibility of new therapy that product the vascularization sheet what expected revascularization and recovery of cardiac function for cardiac ischemia area using silk fibroin (SF).

We succeeded to improve property of SF sheet and we could add combination of peptide to the sheet (OSF film). The adhesion of OSF film to human umbilical vein endothelial cell was good and had dominant cell growth.

We considered creating the controlled release film which has functional materials inside that film for applying this OSF film to vascularization film, however we couldn't maintain the function.

研究分野：心臓血管疾患

キーワード：シルクフィブロイン 血管新生 機能性タンパク

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年心臓血管外科領域において、その医療水準は飛躍的に上昇し、各疾患に対して様々な治療方法を用いて成績向上が図られてきた。しかし、いまだ臨床現場では治療方法の改良を見出す余地がある場面に遭遇する。

一般的に冠動脈病変に対し冠動脈バイパス術、冠動脈形成術、バルーン拡大術、およびステント留置術による直達治療が確立されており、その成績は安定している。しかしながらびまん性病変では直達血行再建が不可能な場合も多く、虚血性心筋症と呼ばれる重症心不全に至る。小児領域においても先天性心疾患に冠状動脈の起始、走行、分布の異常を合併している場合には、冠状動脈の血行再建を必要とすることがあるが、治療対象の冠状動脈の血管径が微小であることが多く手術操作が困難なこと、血行再建に使用できるバイパスグラフトに制限があること、身体の成長に伴うサイズミスマッチによって再治療が必要になること等を理由として成人で行われているような治療法を施行することが不可能な場合が多い。特に乳児の冠動脈バイパス術等の直達治療のレジストリーでは、死亡率が 18.8%で生存者の 9.2%が再手術を受けていると報告されており治療成績は不良である (Ann Thorac Surg 2013, 96:898-903)。この問題点に対する直達手術の代替、または付加的な治療法として虚血心筋領域への再生医療研究が試みられている。

本研究では古来より手術縫合糸として使用されてきた生体適合性を有する“シルクフィブロイン”と血管新生因子を組み合わせ血管新生の促進と足場として活用する。近年、シルクフィブロインは吸収-再生-成長可能な素材として再生医療材料への応用研究が活発に行われ、歯・骨・軟骨再生の足場材料として成果を挙げている (Int J Mol Sci 2009, 10(4):1514-1524)。この技術に更に工夫を加えることで本研究に応用する。しかしながらシルクフィブロイン単独では弾力性に欠けるため手術材料として使いづらい。合成高分子を配合し良好な物性を付与することで、手術操作性を向上させると共に塩基性線維芽細胞増殖因子等の機能性蛋白を結合させ、“治療のためのシート材”としての可能性を追求する

2. 研究の目的

本研究の目的は、上記のような直達治療不可能な冠動脈病変に対して冠状動脈直達血行再建の代替治療法を研究開発することである。古来より手術縫合糸として応用されてきた生体適合性を有する“シルクフィブロイン”を応用し合成高分子の配合による良好な物性の付与、機能蛋白質の包含を行い、局所治療用シートを作成する。これを実験動物に作成した虚血心筋に貼付し、血管新生による血行再建と心機能回復を期待する新たな治療法としての可能性を検証する。

2. 研究の方法

この研究期間内ではシルクフィブロインに合成高分子を配合した基盤シートに血管新生増殖因子を結合させ、生体内環境で血管新生を促進するシートの最適化をまず行い、さらに実験動物(ビーグル犬)を使用した慢性虚血心筋モデルを作成した上で、虚血心筋領域での本シートによる血流改善の評価、治療後の心機能回復の評価を行う。得られたデータを随時フィードバックし、最終的なプロトタイプ作成までを本研究では実施予定である。研究の結果は関連学会および論文で発表する。

本研究は大きく3つの段階で構成されている。

“第1段階”: 血管再生シルクフィブロイン・高分子配合シートの作成。

本研究では古来より医療で用いられてきた良好な生体適合性と生体吸収性を有するシルクフィブロインを採用した。手術操作の可能な物性を有するシルクフィブロイン・高分子配合シートをエレクトロスピンニング法で作成する。安定したシートの作成が可能となった段階で塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)をシートに結合させ、血管再生シートを作成する。bFGFのシートへの結合状態の測定とラット皮下埋植試験により血管新生能を確認する。

“第2段階”: 慢性虚血心筋モデルの作成とシートの埋植実施。

実験動物(ビーグル犬)の用いた慢性虚血心筋生存モデルを作成する。第1段階で作成したシルクフィブロインシートを実験動物の虚血領域心筋に埋植する。外科的操作性と埋植部の心機能の評価(心臓超音波検査など)を行う。

“第3段階”: 埋植後の組織学的評価及び心機能評価。

シート埋植後1、3、6、12ヶ月後に実験動物を犠牲死させ、埋植部位の採取を行い組織学的評価を行う。犠牲死までには定期的に心臓超音波検査を用い心機能の評価を継続する。

4. 研究成果

上記第1段階である、血管再生シルクフィブロイン・高分子配合シートの作成を行った。既報で用いたシルクフィブロイン(SF)シートは臓器貼付には不適切な物性であったが、これを基盤として物性を改良しペプチドの結合が可能な工夫を加えることに成功した(OSFフィルム)。OSFフィルムについては、架橋構造形成により親水性と柔軟性が付与され、物性の改質を認めたことから、酵素濃度依存的なフィルムの物性制御を概ね確立することに成功した。これらは架橋による網目構造形成と二次構造割合の変化が寄与したことが示唆されている。上記 OSF フィルムへのヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)の接着は良好であり、優位な細胞増殖が得られ、細胞増殖性も増加した。細胞接着性と細胞増殖性の向上は物性改質に依存した変化が示唆された。

2018年度から、得られた OSF フィルムを血管新生フィルムへと応用するため、フィルム内部への機能性物質(線維芽細胞増殖因子(FGF)受容体と特異的に結合する機能性タンパク質)を OSF フィルムに担持させた徐放フィルム作製の検討を進めた。しかしながら、機能性物質を OSF フィルム内へ含浸させ、徐放実験を実施したところ、徐放開始後短期間での初期バーストが著しく、OSF フィルムに機能性を担持させることが困難であることが判明したため、その後は機能性を維持させるための検討を継続したが成果を得ることができなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1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 0件）

1. 著者名 Shimada Ryo, Konishi Hayato, Ozawa Hideki, Katsumata Takahiro, Tanaka Ryou, Nakazawa Yasumoto, Nemoto Shintaro	4. 巻 48
2. 論文標題 Development of a new surgical sheet containing both silk fibroin and thermoplastic polyurethane for cardiovascular surgery	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 486 ~ 494
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00595-017-1615-6	査読の有無 有
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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 島田 和寿美、村上智亮、田中 綾、本多惟克、中澤靖元、根本慎太郎、島田 亮
2. 発表標題 血管新生ペプチドを修飾したシルクフィブロイン基盤メディカルシートのラット生体内への応用
3. 学会等名 2019年繊維学会年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中澤靖元, 市田雄也, 服部夏衣, 島田香寿美, CHANTAWONG Pinkarn, 村上智亮, 田中綾, 島田亮, 根本慎太郎
2. 発表標題 心血管系組織工学材料を指向したシルクフィブロインシートの作製と評価
3. 学会等名 第47回 医用高分子シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中澤靖元, 市田雄也, 中澤千香子, 浅野敦志, 島田亮, 根本慎太郎
2. 発表標題 組織工学材料を指向したシルクフィブロイン分子間架橋形成フィルムの創製
3. 学会等名 平成30年度 繊維学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 市田雄也, 中澤千香子, 浅野敦志, 島田亮, 根本慎太郎, 中澤靖元
2. 発表標題 Tyr架橋シルクフィブロインによる新規軟組織工学材料の創製
3. 学会等名 第67回 高分子学会年次大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>大阪医科大学外科学講座胸部外科学教室研究室 小児心臓血管外科 https://www.osaka-med.ac.jp/deps/tho/guide/kenkyu/index.html 国立大学法人 東京農工大学 工学部 生命工学科 中澤研究室 http://web.tuat.ac.jp/~nakazawa/index.html 大阪医科大学外科学講座胸部外科学教室研究室 小児心臓血管外科 https://www.osaka-med.ac.jp/deps/tho/guide/kenkyu/index.html 国立大学法人 東京農工大学 工学部 生命工学科 中澤研究室 http://web.tuat.ac.jp/~nakazawa/index.html</p>

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
研究協力者	中澤 靖元 (Nakazawa Yasumoto)	東京農工大学 (12605)	
研究協力者	根本 慎太郎 (Nemoto Shintaro)	大阪医科薬科大学 (34401)	
研究協力者	岸 幹太 (Kishi Kanta)	大阪医科薬科大学 (34401)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	小西 隼人 (Konishi Hayato)	大阪医科薬科大学 (34401)	

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