

平成21年5月30日現在

研究種目：基盤研究（A）
研究期間：平成18年度～平成21年度
課題番号：18209042
研究課題名（和文） 循環器系人工組織のプレインプランテーションによる体内自己組織化

研究課題名（英文） Regenerative medicine for cardiovascular tissues based on the pre-implantation treatment

研究代表者

中谷武嗣（NAKATANI TAKESHI）
国立循環器病センター研究所・臓器移植部・部長
研究者番号：60155752

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：人工臓器類

1. 研究計画の概要

脱細胞心臓弁や血管、および、生体吸収性材料を用いた再生医療に於いて、移植後の血管内皮細胞や平滑筋細胞、線維芽細胞の浸潤が確認されているが、埋入初期段階における免疫反応や異物反応など問題は多い。移植組織が完全に自己化されるまでには6ヶ月以上の期間を有することも明らかとなり、特に、循環器系材料の場合、内膜肥厚化による塞栓や、石灰化、あるいは血液漏洩などは、患者生命に直結する問題であり、何としても回避しなくてはならない。本研究では、これらの生体組織由来人工血管および合成材料製人工血管を「プレート」とし、生体にプレインプラント（前埋入）することで、*in vivo* 自己組織化を促し、続いて適応部位に本移植するというストラテジーによって、確実かつ早期で、危険性の少ない再生型移植組織を開発し、次世代再生治療に応用することを目的とする。

2. 研究の進捗状況

(1) 超高静水圧印加処理法によって脱細胞スキャホールドを作製することで、従来の界面活性剤による脱細胞法とは異なり、力学特性を保持した脱細胞組織が構築できた。しかしながら、超高圧処理に続いて行う約2週間の洗浄処理は、抗原性の源となる微量成分の除去には不可欠であった。本プロジェクトでは、ドナー体内へのプレインプランテーション操作により極めて短時間かつ効率よく細胞成分を除去できることが明らかとなった。そこで、新鮮血清と非動化血清との比較から、この細胞成分除去メカニズムを検討したところ、補体成分の働きによるものであること

が示された。また、超高圧脱細胞法で処理した小口径血管組織は、その構造を十分に保持できないが、本プレインプランテーション法はきわめて高次構造を保持できるシステムである。また、内径約1.2mmのラット腹部下行大動脈を脱細胞処理したグラフトの移植に成功し、優れた内皮かも確認できた。このことより、小口径血管に関しては、特に優れた手法であることが明らかとなり、冠動脈等に対する小口径人工血管開発に有望なシステムであると考えている。

(2) また、血管様の中空構造を有する多孔質スキャホールドの作成方法として、ポリ乳酸誘導体のジオキサン溶液を鋳型に流し込んだ後に所定の温度と減圧度にて凍結乾燥するシステムを利用してきたが、その強度は満足できる物ではなかった。本年度は、電界紡糸システムによるナノファイバーからなる再生型人工血管スキャホールドを作成することに成功した。プレインプランテーションの結果、周囲組織の浸潤は凍結乾燥法による物よりもきわめて顕著であり、生体内人工血管のラプチャーの危険性を大きく軽減できると考えられた。この組織浸潤と内膜肥厚とをコントロールするためのファイバー径の最適化を進めている。

3. 現在までの達成度

自己点検：②おおむね順調に進行している
理由：生体吸収性スキャホールドのナノ繊維化により、自己組織加速度を飛躍的に向上させることが可能となった。一方で、それに基づいて生じた新たな問題である内膜肥厚に関しても、緻密なナノ繊維化という新たに

見いだした戦略で解決できることを明らかにした。また、プレインプランテーション法による脱細胞再生型血管の作成は、計画以上の高い効果が得られている。以上の状況より、戦略や手法の変化は認められるが、目的に対しておおむね順調に遂行していると判断する。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 超高静水圧印加処理法は、不純物の残存が無く、さらに、ウイルスでさえもほぼ完全に不活化できる安全な手法である。従来法では、超高圧処理に続いて約2週間の洗浄処理が必要であり、この洗浄工程により除去できる微量成分の効率が、移植後の石灰化に与える影響を検討し、効果的な石灰化抑制プロトコルを見いだしてきた。一方、本プロジェクトでは、ドナー体内へのプレインプランテーション操作により極めて短時間かつ効率よく細胞成分を除去できること、さらに、この細胞成分除去には、細胞免疫成分は関与しておらず、補体成分と思われる可溶性因子が関与していることが明らかとなった。本年度は、これらの、第2段階移植を進めることで、微量分析除去が、移植組織の石灰化や、自己組織化に及ぼす影響を与えるかを詳細に検討する。

(2) 血管用の中空構造を有する多孔質スキャフォールドは、対象となるポリ乳酸誘導体の所定濃度ジオキサン溶液を鋳型に流し込んだ後に所定の温度と減圧度にて凍結乾燥することで作製してきた。これら自己組織化型ポリ乳酸性人工血管をイヌ頸動脈置換実験では、その強度の低さが問題となった。これを解決するために、電解防止システムによりポリ乳酸誘導体製人工血管を作成した。これを、皮下へとプレインプラントすることで、効率よい自己組織化が起こり、その強度が飛躍的に向上することが明らかとなった。しかしながら、この早急な組織形成は、内膜肥厚にもつながる例も確認され、解決策が必要となった。そこで、組織浸潤がおこらない、比較的緻密な構造の不織布体との重層構造を構築することで、人工血管外層が自己組織化体、また、内層が血液接触面となる構造について検討する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計12件)

- ① 小林奈歩、津田悦子、小野安生、塚野真也、矢崎 論、山田 修、越後茂之、中谷武嗣、八木原俊克、心臓移植適応について検討した患者の予後 -院内臓器移

植医学的適応症例検討会に小児科から提示した症例-、日本小児循環器学会雑誌、24、628-635、2008、有

- ② Mano A, Nakatani T, Oda N, Kato T, Niwaya K, Tagusari O, Nakajima H, Funatsu T, Hashimoto S, Komamura K, Hanatani A, Ueda I.H, Kitakaze M, Kobayashi J, Yagihara T, Kitamura S, Which factors predict the recovery of natural heart function after insertion of a left ventricular assist system?, Journal of Heart and Lung Transplantation, 27, 869-874, 2008、有

[学会発表] (計20件)

- ① 中谷武嗣、加藤倫子、築瀬正伸、山本 賢、瀬口 周、船津俊宏、小林順二郎、植田初江、佐田正晴、心移植：既存抗体、産生抗体のモニタリングと移植後の管理、第44回日本移植学会総会、2008.9.19-21、大阪
- ② 山岡哲二、佐々木愛、内田 翔、村上 章、森反俊幸、ポリ乳酸ナノファイバー表面特性の機能化と組織再生、第37回医用高分子シンポジウム、2008.7.28、東京
- ③ Tetsuji YAMAOKA, Sho UCHIDA, Hiroyuki Tanaka, Ko Temporin, Tsuyoshi Murase Surface Modification of Poly(lactic acid)-based Nerve Conduit with Oligo(lactic acid)-Oligo peptide Amphiphilic Conjugates, Society For Biomaterials 2008, 2008.9.12、Atlanta

[図書] (計2件)

- ① 中谷武嗣、心臓移植医療 ビジュアル版「3大疾病の教科書 がん・心臓病・脳卒中をストップ!」、三省堂、126、2008
- ② 中谷武嗣、人工心臓 ビジュアル版「3大疾病の教科書 がん・心臓病・脳卒中をストップ!」、三省堂、126、2008

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

[その他]

特になし