

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03819

研究課題名(和文) 生体内組織形成術による大血管用分岐弯曲バイオチューブの開発

研究課題名(英文) Development of bifurcated curved bio-tube for the aorta with in-body tissue architecture

研究代表者

首藤 敬史 (Shuto, Takashi)

大分大学・医学部・講師

研究者番号：60649763

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：「生体内組織形成術」を基盤として、それによって作成された複雑な形状の自己生体材料(分枝管)が高圧下で乱流が生じる環境で耐久性を有し臨床応用できる可能性を証明するため「再生型自己代用分枝付き大動脈(バイオチューブ)」の安全な臨床応用へと繋げる目的で研究を行った。分枝付きバイオチューブを得るための鋳型の作成は改良を複数回行いながら完全な形を得るに至った。ヤギでの弓部置換は手技的に非常にハードルが高く生存例を得るのに時間がかかった。最終的に5頭で弓部置換が成功したが、いずれも一カ月以内にバイオチューブが破綻し遠隔成績を得ることができなかった。破裂部位はいずれも左側前面で枝の分岐部ではなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の再生医療によって移植用の組織体を作製するには、特別な大学病院など高度専門医療機関の特殊滅菌施設内において、膨大な手間と費用と時間をかけて行われている。しかし高い血圧やshear stressのかかる大動脈への応用は破裂や瘤化のため困難とされる。本生体内組織形成術は皮下で容易に高圧に耐え得る強固な組織体を作成できるという利点がある。今回皮下に埋没した器材により、分岐型のコラーゲンからなる管状体を得られたということは将来の頭頸部の大血管手術において自己組織による血行再建を行える可能性が示された。ただし、長期安定性、成長性までは確認できておらず、さらなる基材の改良が必要と考えられる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to demonstrate the durability of complex-shaped autologous biomaterials (bio-tubes) in a turbulent environment under high pressure and to demonstrate their potential for clinical applications. The mold for the biotube with branches was modified several times to obtain a perfect shape. The technique of arch replacement in goats was very difficult and it took a long time to obtain survivors. Finally, five goats underwent successful bow replacement, but all failed to achieve remote results due to rupture of the biotube within one month. The rupture sites were all on the left anterior aspect and not at the branching point.

研究分野：心臓血管外科学

キーワード：生体内組織形成術 大動脈手術 再生医療 生体材料 自己組織

## 1. 研究開始当初の背景

生体の皮下に光造形で作成した高分子製の鋳型を1ヵ月程度埋入させるだけで、完全に自己組織のみからなる自分用の移植用組織体が自動的に得られる画期的な再生医療技術「生体内組織形成術」(体内造形)を基盤として、それによって作成された複雑な形状の自己生体材料(分枝管)が高圧下で乱流が生じる環境で耐久性を有し臨床応用できる可能性を証明する。我々は既に大動脈弁再建術における再建材料としてこの方法で得られた自己生体膜が有用であること、さらに上行大動脈に移植した短い管が瘤化することなく生着するのを証明しているが今回は実際の臨床応用を想定し分岐管状の材料を得る鋳型の最適設計を行い、移植実験によって自己組織化し生着する再生能力、耐久性を調べ、待望の成長可能な「再生型自己代用分枝付き大動脈(バイオチューブ)」の安全な臨床応用へと繋げる。

我々は患者自身の組織のみで自己の移植用組織体を作製できる、全くこれまでの概念を覆す新しい再生医療技術として、「生体内組織形成術」の開発を15年以上前から世界に先駆けて行っている。従来の常識であった培養操作や滅菌施設を一切必要とせず、単に鋳型を皮下に入れておくだけで、ほぼ自動的に自家移植用組織体が得られる。ある種魔法の様な医療が実現可能となっている。生体内組織形成術は、生体内に異物が侵入した際に異物周囲をコラーゲンのカプセルが覆う生体反応を利用している。マウスからヤギまでの背部皮下に鋳型の埋入を行ったが、いずれでも約4週後には組織体を形成した。結合組織体の細胞成分は主に線維芽細胞であり、炎症性細胞はほとんど認めない。本技術を応用して、バイオチューブ人工血管、バイオバルブ心臓弁、バイオカバードステントグラフトなど主に循環器系組織体の開発を行ってきた。例えばバイオチューブを移植すると、移植約2週で血管内皮化され、約12週で壁内は血管平滑筋細胞に置き換わり、生体血管と肉眼的に見分けがつかない程に成熟した。バイオチューブは、作製時が完成ではなく、移植によって徐々に血管組織へと置き換わる。最長6年の経過観察では瘤化や狭窄、石灰化は認められておらず、移植期間が長くなる程自己化され、完成度が高まる。すでに犬において頸部血管に移植したバイオチューブの拡大成長も確認している。また2010年に鋳型形成に3Dプリンターを導入(光造形)飛躍的に開発速度が増した。さらに2019年には渦巻状の鋳型により細径ではあるが彎曲したグラフトが生成できることも証明した。

しかし、大動脈への応用となると条件は異なってくる。末梢動脈の存在する皮下組織内と異なり胸腔、心嚢内に存在する大動脈は皮下の移植片のような周囲組織からの細胞浸潤は望めない。我々は上行大動脈位に移植した短く直線型(2cm)バイオチューブが瘤化せず自己組織化することを確認したが、短いがゆえに両断端からの細胞浸潤が早期に全体に及び自己組織化が短期間に達成できてしまっている可能性が否定できない。また人工血管はギャザーをつけ蛇腹にすることで移植時に彎曲を持たせることが可能であるがバイオチューブではギャザーを付けることは困難で彎曲部に用いるバイオチューブはあらかじめ彎曲させておく必要がある。彎曲していたり枝による分流が存在したりする場合乱流が生じそれによるshear stressに大動脈は晒されており単純な内圧だけではなくこのストレスにバイオチューブが耐えられるかまたshear stressがバイオチューブの自己組織化にながしかの変化を与えるかが明らかにされていない。そもそも均等な厚みを持つ彎曲し分岐したバイオチューブが生成できるかどうかの証明がなされていない。

## 2. 研究の目的

小児心臓外科手術では小児期に人工物で組織を補填・再建した場合成長するにつけてサイズミスマッチが起こり、多くの場合狭窄病変となり再手術が必要となる。それは自己心膜を用いた場合でも同様でむしろ自己心膜は石灰化・硬化が進むという点でやっかいである。自己組織と同化し、成長に伴い成長する(大きくなる)移植片(補填物)が熱望されている。

また一方、人工血管が感染した場合や感染性大動脈瘤の場合に人工血管を用いた場合の再感染が問題であった。特に抵抗力の弱い高齢者に感染が生じやすい。ホモグラフトがこのような場合用いられることが多いが海外ではその遠隔期成績がよくないことから徐々に用いられなくなってきており、日本では法的に使用が可能になっているものの現実的には購入・使用法が煩雑で普及するに至っていない。人工物ではない自己もしくは異種であっても自己組織化する生体材料でできた人工血管を安定して供給できるようにすることは大変有用である。実臨床では単なる管では応用範囲が狭く、分岐し彎曲したグラフトが有用性に富む。

本研究はこれまでいくつかの進化(革新)を遂げ完成に近づきつつある生体内組織形成術を上記のような臨床ニーズに対して応用することを前提とした大動物による検証を行うtranslational studyであり、長期生存モデルで分岐屈曲したバイオチューブの大動脈血管位での自己組織化、成長性を証明すると同時に瘤化変形の有無などの安全性を検証することを目的とする。生体内組織形成術を安定して形状規定できるまで精錬発達できているのは我々しかなく、分岐型バイオチューブが大動脈血管として自己組織化し、かつ成長することが証明されれば世界初の知見であり、臨床応用への道が一気に短縮される。

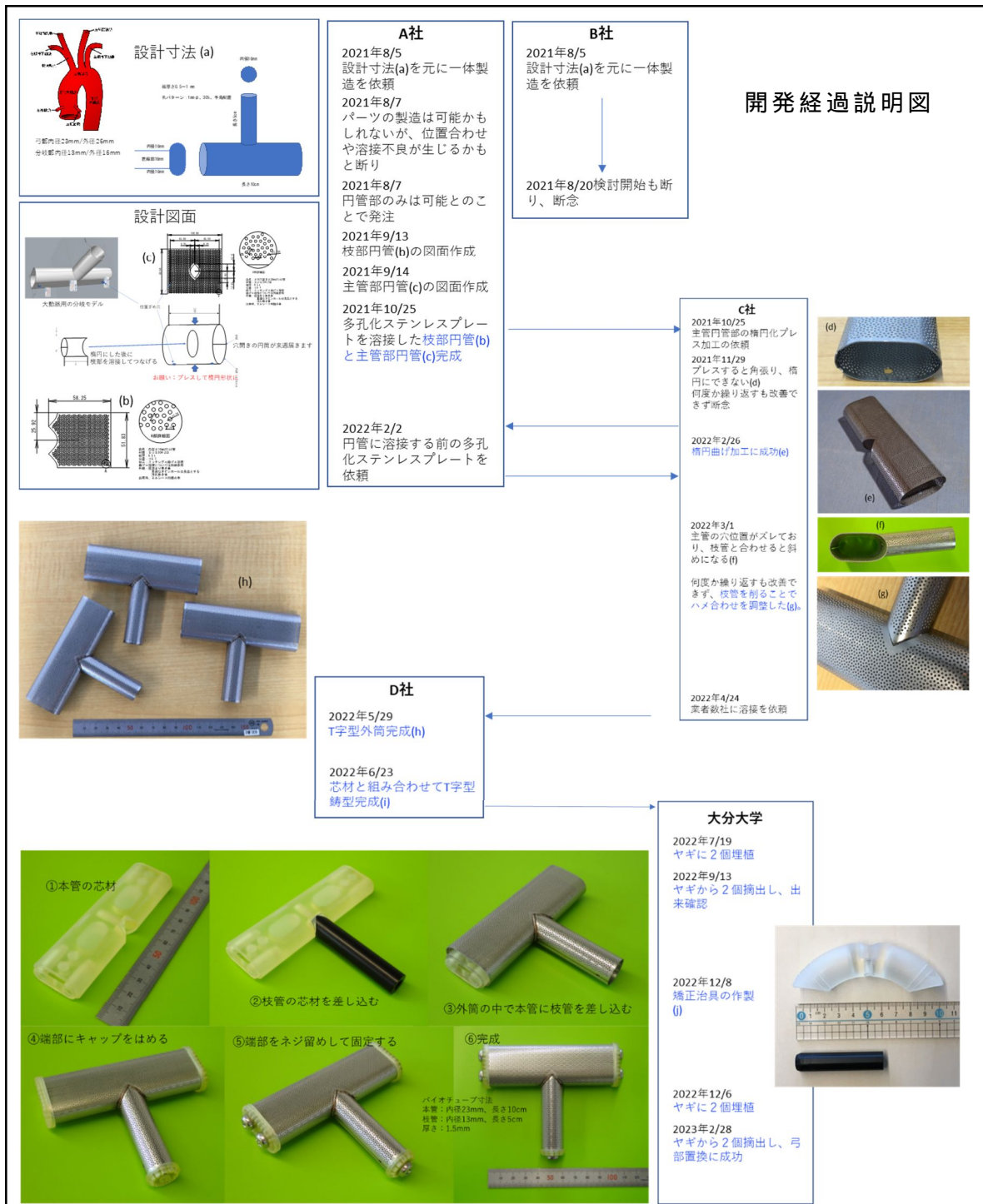
### 3. 研究の方法

T字型バイオチューブ専用鋳型の開発：ツープースの鋳型を組み合わせることでT字型鋳型を開発する。パーツの接合、皮膚面との密着のためのデザイン、また鋳型作成時の金属の可塑性を考慮した設計を行い、変形、偏芯しにくい鋳型を開発する。

T字型バイオチューブの強度耐久性試験：成ヤギの皮下にT字型弯曲鋳型を植込み、2か月後取出し分岐弯曲バイオチューブを得る。その後、それぞれを別個体の成ヤギに同種移植する（脳分離体外循環下、心停止下に上行弓部大動脈置換）。その際弓部に移植されたグラフト内の血流量を実測する。移植後1週間、3か月後に造影CTで形状評価し、6か月後造影CTをしたのちに安楽死させ形状変化とともに組織学的分析を行う。また一週間後のCTを用いて血流解析（4D flow）を行いshear stressの分布を計算し、その分布と6か月後の形態及び組織変化の関連性をみる。

### 4. 研究成果

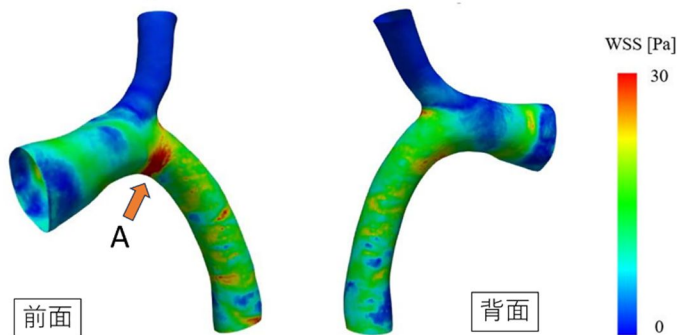
T字型鋳型の開発は難攻を極めた。



一体製造は技術的に不可能とわかり、二つのパーツに分けることにした。プレスすると角張り、断面が楕円にならないので、折り曲げることで楕円形にすることに成功した。枝管の接続は溶接ではなく管を削り、はめ込むことで溶接がなくなった。その後矯正器具の作成にも成功した。(上開発説明図)

図 1

コンピューターシミュレーションによるWall Stress



弓部置換モデルの作成も困難を極めた。脳分離体外循環を行いながらの複雑な手術となり、出血、心不全等で人工心肺から離脱できなかつたり、術後数日で原因不明で死亡する例が続いた。その間弓部切除前に大動脈、頸部側枝の血流を計測し、同時測定した血圧データさらにそれに造影 CT データを加えて 4 Dflow シミュレーション解析を行うと図 1 ( A) のように弓部中央枝の対側前面寄り ( 左側) に極端に Wall Stress の高い部位

が存在することがわかった。これは人体で最も多く弓部嚢状瘤が発生する場所と同様であった。

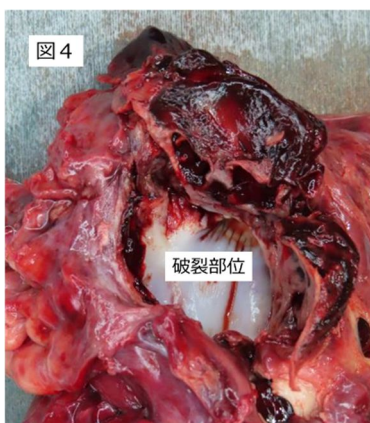
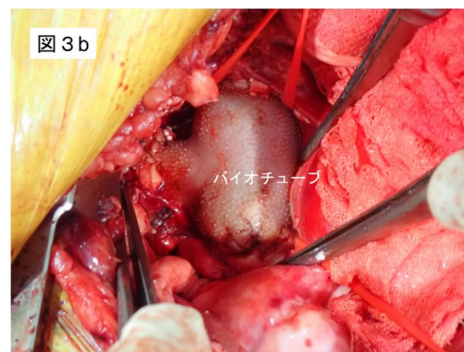
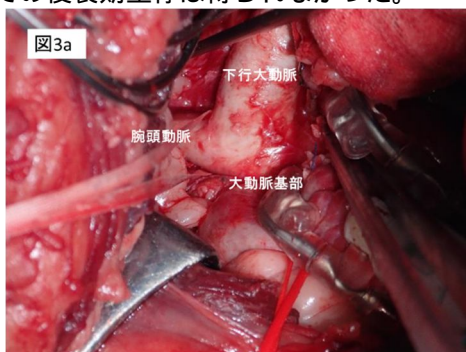
図 2 a. 弓状固定芯挿入後



図 2 b. 固定後枝付きバイオチューブ



弓部置換急性期生存が得られるようになった ( 図 3a 置換前, b 置換後) が残念ながらバイオチューブでの後長期生存は得られなかった。



原因はバイオチューブの破裂で 5 例が ( 2 週間 2 例、3 週間 2 例、一か月 1 例) 破裂した。部位はシミュレーションで指摘された部位に近い、左側前面であった ( 図 4 )。枝連結部分には問題はなかった。一か月経過して肉眼的にはバイオチューブの菲薄化しているようであったが実際に組織標本を見ると自己血管と同等の厚みがあった。( 図 5 ) 顕微鏡的所見では中間部まで両側吻合部から平滑筋前細胞が伸びており、その外側にはコラーゲンリッチな組織が形成されていた。( 図 6 )

図5

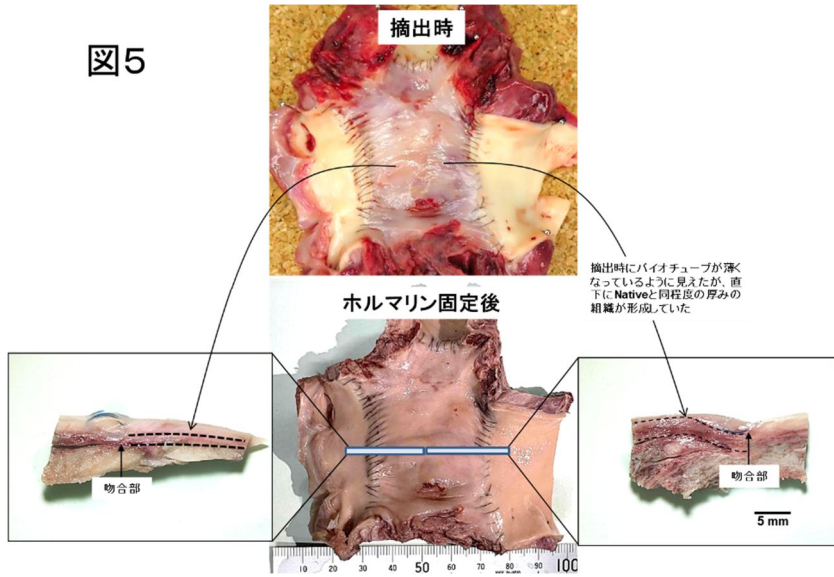
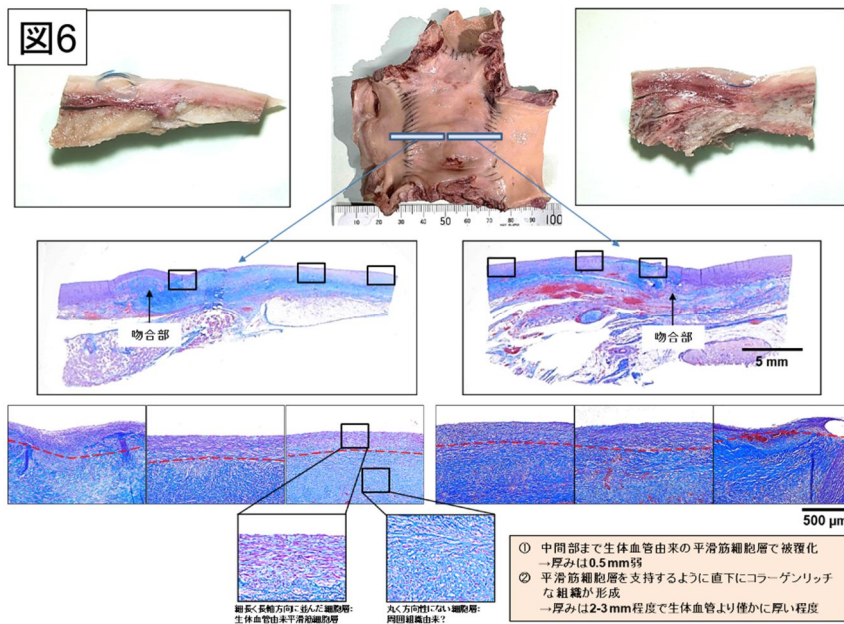


図6



分枝型バイオチューブを作成する工業的な技術は確立できた。接合部位のバイオチューブ形成も問題ない。鑄型開発としては一定のレベルに達した。しかしながら弓部大動脈は複雑な血流を有しており、ストレスのかかる部分が局在しているためその部位でのバイオチューブの強度がより求められるため、これに耐えうるバイオチューブを得るための鑄型設計が必要であることが分かった。これは我々が上行置換(この部位の大動脈は弓部より大きい)ではこのような破裂例がなかったことから弓部という部位の特徴と思われる。大動脈は壁厚に関しては手術操作に影響をもたらさないため、より厚みを厚くした鑄型で厚いバイオチューブを作成し、ストレス負荷部分に十分な強度をもたらすことが改善策となり得る。残念ながら長期モデル作成ができなかったため、バイオチューブの成長に関する知見は今回得られなかった。だが、ヤギにおける脳分離体外循環下での置換術のモデルが確立した意義は大きく、今後開発される再生医療を応用した移植臓器、デバイスで弓部という過酷な環境下でそのデバイスが安全に機能するかを確認するプラットフォームを得たと考える。

## 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 1件）

1. 著者名 Tsutomu Tajikawa, Yota Sekido, Kazuki Mori, Takayuki Kawashima, Yumiko Nakashima, Shinji Miyamoto, Yasuhide Nakayama	4. 巻 11
2. 論文標題 Diverse Shape Design and Physical Property Evaluation of In-Body Tissue Architecture-Induced Tissues	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Bioengineering 2024, 11, x.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/xxxxx	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	穴井 博文  (Anai Hirofumi)  (20291544)	大分大学・医学部・教授   (17501)	
研究 分担者	中山 泰秀  (Nakayama Yasuhide)  (50250262)	大分大学・医学部・客員研究員   (17501)	
研究 分担者	和田 朋之  (Wada Tomoyuki)  (60325701)	大分大学・医学部・准教授   (17501)	
研究 分担者	岩井 良輔  (Iwai Ryosuke)  (60611481)	岡山理科大学・フロンティア理工学研究所・講師   (35302)	

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 分 担 者	宮本 伸二  (Miyamoto Shinji)  (70253797)	大分大学・医学部・教授     (17501)	

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