

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591398

研究課題名（和文）絹フィブロイン被覆人工血管の開発

研究課題名（英文）Experimental evaluation of a silk fibroin-coated vascular prosthesis

研究代表者

重松 邦広（SHIGEMATSU KUNIHIRO）

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20215966

研究成果の概要（和文）：6mm 径人工血管をイヌ腹部大動脈に、3.5mm 径人工血管を総頸動脈に移植し病理学的検討を行った。ゼラチン被覆人工血管は内腔に厚い線維組織と平滑筋層が侵入し内皮化されているのに対し、絹フィブロイン被覆人工血管は内腔には線維組織の厚みがなく内皮化されており、その代わり外側に厚い平滑筋層を有した。特に小口径人工血管では内腔の狭小化を防ぐ意味で有利な特性であり、高い開存性につながると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Polyester vascular grafts coated with silk fibroin or gelatin were implanted in the abdominal aorta and common carotid arteries of dogs. In contrast to gelatin-coated grafts, silk fibroin-coated grafts had less collagenous intimal layer with endothelial-like cells. These findings suggest that silk fibroin-coated graft might provide excellent patency of small-diameter vascular graft.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：血管外科学・人工血管

1. 研究開始当初の背景

現在血管外科領域で用いられる代用血管は、様々な素材の出現、淘汰を経て、柔軟性、耐久性、生体適合性に優れたポリエステル（ダクロン）および ePTFE（ゴアテックス）が広く普及している。特にダクロン製人工血管は、口径 6mm 以上ではその耐久性、安全性、開存性が実証されており、広く臨床の現場で使用されている。生体に移植された人工血管は組織治癒の観点から、細胞やタンパク質が入り込む隙間すなわち穴が開いていること

が必要である。しかしそれは同時に人工血管壁からの出血の原因となり、それを防ぐために従来移植直前に血糊で人工血管をねづまりさせるプレクロッティングが必要であった。しかしこの操作は緊急時やヘパリン使用時には行いがたい欠点があり、現在使用されている人工血管は、手術時の血液漏出を抑えるために牛由来のアルブミン、コラーゲン、ゼラチンなどで被覆したものが主流となっている。しかしながらこれらの被覆人工血管の普及にともない、いくつかの危惧が指摘さ

れるようになった。一つは狂牛病に端を発する生体材料由来の感染症の危険であり、もう一つは異種タンパクに起因する術後の発熱、人工血管周囲の漿膜貯留に代表される反応性炎症である。そこでこれらの欠点を克服するために我々が注目したのは絹である。絹は長年にわたり縫合糸として外科手術時に体内に埋め込まれて使用されてきた歴史から、長期的な安全性が実証されており、再生医療材料の研究開発分野では注目を集めている素材である。絹の繊維の基本タンパク質である絹フィブロインは、繊維以外にもフィルムやスポンジ、不織布等様々な形状に加工することが可能である。従来外科領域で組織反応が強いと言われていた絹糸も、精製加工段階の改良でほとんど組織反応を無くすることができることがわかってきた。また最近、絹 100%による小口径人工血管の動物実験では、高い開存性と良好な組織置換性が示されている。しかし絹がタンパク質である以上、生体内では加水分解を受け変性吸収を余儀なくされ、人工血管という長期の耐久性が要求される材料としては不安が残る。そこで我々は、現在普及しているダクロン製人工血管を絹フィブロインで被覆することにより、牛由来タンパク質を被覆材として使う欠点を克服し、長期的な耐久性と優れた組織治癒性を併せ持つ人工血管の開発を目的とすることにした。

2. 研究の目的

現在市販されている被覆人工血管と絹フィブロインで被覆した人工血管をイヌの大動脈や総頸動脈領域に移植し、手術操作性、血液漏出性、炎症反応、器質化、開存性などを比較検討する。臨床試験にむけた基礎データとして、現在臨床で使用されている人工血管に比べて、絹フィブロイン被覆人工血管が炎症および組織治癒の面で優れていることを動物埋め込み実験において証明する。

3. 研究の方法

人工血管の調達

絹フィブロイン被覆人工血管は、連携研究者である朝倉哲郎教授の研究室にてその作製を行う。比較検討用の市販の被覆人工血管は、国内数社より研究用として無償で提供してもらう。

動物実験

腹部大動脈埋め込み実験としてビーグルのオス成犬（体重 8-12kg）を使用する。全身麻酔をかけ、単純遮断下に腹部大動脈を絹フィブロイン被覆人工血管（口径 6mm）で約 8cm 長にわたり置換する。また総頸動脈には口径 3.5mm、5cm 長の人工血管を置換する。吻合は 6-0、7-0 のモノフィラメント非吸収

糸による連続縫合で行う。術後は全身状態の観察を行い、炎症所見を評価する。埋め込み期間は1ヵ月、6ヵ月、最長2年で、ヘパリン化後屠殺し人工血管を摘出する。中枢、末梢吻合部および人工血管中央部の標本を作製し、被覆材の吸収、炎症反応、器質化などを検討する。内皮細胞や平滑筋細胞の有無を免疫染色で確認する。手術時の操作性、易出血性、開存性などに問題があれば、朝倉研究室と連携し被覆材の条件を変更し改良をはかる。

4. 研究成果

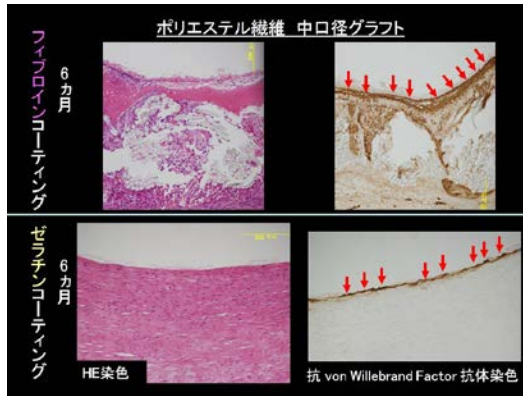
6mm 径人工血管のイヌ腹部大動脈置換モデルにおいて、ポリエステル基盤の人工血管をゼラチンおよび絹フィブロインで被覆したものを中央でつなぎ合わせハイブリッド人工血管として移植した。移植6ヵ月後人工血管を摘出し病理学的検討を行った。ゼラチン被覆部は内腔に厚い線維組織と平滑筋層が侵入し内皮化されているのに対し、絹フィブロイン被覆部は内腔には線維組織の厚みがなく内皮化されており、その代わり外側に厚い平滑筋層を有した。これらの所見については、市販のポリエステル人工血管や新たに作製した絹フィブロイン基盤の人工血管を単独で移植した場合でも同様の結果が得られており、絹という素材を人工血管に利用した場合の共通の特徴と考えられた。特に小口径人工血管では内腔の狭小化を防ぐ意味で有利な特性であると判断した。



移植後6カ月の摘出人工血管のEVG染色。

上段：ゼラチン被覆人工血管。

下段：フィブリン被覆人工血管。



人工血管の内皮化。

一方、3.5mm 径のイヌ頸動脈置換モデルにおいては、開存性に与える影響を調べる目的で比較実験を行った。ポリエステル基盤の人工血管はゼラチン、絹フィブリン被覆に関わらず7本がすべて1-2週間で早期閉塞した。一方絹フィブリン基盤の人工血管は、基盤の構造や被覆方法にもよるが概ね3-4カ月の開存が得られ、6カ月の開存例もあった。これらの結果より絹の人工血管材料としての有用性が示唆されたが、その方法については基盤、被覆方法も含め改善の余地があると考えられた。以上の結果をもとに今後も絹の人工血管への利用について研究を進めたい。

現在日本を含め世界で使用される人工血管のシェアは数社の欧米企業にほぼ独占されており、牛由来タンパク質を使用した被覆人工血管が主流となっている。一方、絹タンパクの研究分野では日本は世界をリードしており、絹を人工血管の被覆材として使用する研究はこれまで欧米では皆無であった⁴⁾。ダクロンと絹はそれぞれ長年の使用経験から安全については医療上問題が無く、本研究において明らかにされた絹タンパクに関する特性から、被覆材として牛由来タンパクに劣る部分は見当たらない。今後さらに動物実験においてその有効性が証明されれば従来の人工血管にかわり、日本発の人工血管として世界シェアを狙える可能性がある。また現

在トランスジェニックカイコによる高機能絹フィブリンの開発も進んでおり、抗血栓性や細胞接着性など新たな機能を人工血管に付加できる可能性も広がっている。こうして将来絹フィブリン被覆人工血管の臨床使用のデータが蓄積されれば、100%絹製の人工血管の開発にも役立ち、本当の意味での血管再生型の人工血管の実現につながる。

5. 主な発表論文等

(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0件)

[学会発表] (計1件)

①岡本宏之、絹タンパク(フィブリン)の人工血管材料としての使用経験、第53回日本脈管学会総会、2012年10月11日、東京

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

重松 邦広 (SHIGEMATSU KUNIHIRO)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：20215966

(2) 研究分担者

宮田 哲郎 (MIYATA TETSUROU)

東京大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：70190791

小山 博之 (KOYAMA HIROYUKI)
東京大学・医学部附属病院・特任准教授
研究者番号：10241994

岡本 宏之 (OKAMOTO HIROYUKI)
東京大学・医学部附属病院・特任講師
研究者番号：60348266

(3) 連携研究者

朝倉 哲郎 (ASAKURA TETSUO)
東京農工大学・共生科学技術研究科・教授
研究者番号：30139208