

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：24303

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659786

研究課題名(和文)患者の体内で自家組織から形成する『微小脈管再建用無吻合バイオチューブ』の開発

研究課題名(英文)Development of In vivo tissue engineered autologous tube grafts "Biotubes" for sutureless microvascular reconstruction

研究代表者

渡辺 太治 (Watanabe, Taiji)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20448723

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、自家細胞とマトリックス成分を用いて患者自身の体内において、自らの体内に移植するための代用臓器を自在に設計・誘導・再生するという、全く新しい着想に基づくD.I.Y.再生医療『生体内組織形成技術』の応用により、開発を進めている完全自家結合組織小口径代用血管バイオチューブの発展型として、吻合を行うことなく、動脈・静脈・リンパ管などのあらゆる微小脈管を再建するための“無吻合バイオチューブの開発を行うことを目的とした。そして我々は研究期間内において、我々の開発した『生体内組織形成技術』の応用により、自己血管とバイオチューブを吻合することなく一体化させることに成功した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aim to develop the sutureless biotube as application of the complete autologous connective tissue small diameter vascular graft" biotube" which are constructed by "in body tissue architecture" technology under the novel concept of the D.I.Y. regenerative medicine. By using this sutureless biotube, we can reconstruct any small caliber vessels such as artery, vein, lymphatics without anastomosing. In this study period, we succeeded to integrate biotubes and native vessels without anastomosing.

研究分野：血管外科

キーワード：biotube 生体内組織形成技術 小口径代用血管

1. 研究開始当初の背景

形成外科領域における再建外科の進歩と微小脈管再建

近年形成外科では再建外科領域として、有茎組織移植や血管再建を伴う遊離組織片移植、さらにリンパ管再建等が目覚ましく発展し、微小脈管再建の必要性が増している。複雑種手術・再手術・多段階手術も増加しており、使用に耐える代用血管の開発が急務である。

自家組織よりなる迅速な治癒の必要性

小口径脈管再建に用いる代用血管では、人工材料開発や人工的な表面加工技術では、長期に渡る抗血栓性の獲得が困難であるばかりでなく、吻合部内膜肥厚・パンヌス形成等を回避することが出来ず、吻合部狭窄が晩期閉塞の主たる原因となっている。自家血管壁細胞による迅速かつ良好な組織化が長期の抗血栓性を獲得し吻合部狭窄を回避するための唯一の手段である。

宿主の皮下組織内で自動的に形成される自家組織代用血管『バイオチューブ』の開発

体内に異物を埋入すると、生体防衛機構によって買うセル上の組織体で被膜化されることは古くから知られている。この現象を最新の材料工学技術で制御した D.I.Y 再生医療 - 『生体内組織形成技術』 - により、管状結合組織小口径代用血管“バイオチューブ”を開発し、動物実験の自家動脈への移植で、高い耐久性と良好な開存性、迅速な内皮化・階層状の動脈構造の再構築が体内で誘導されることを確認した (*J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 92(1):236-242, 2010, *J Artif Organs* 10(1):10-5, 2007, *Cell Trans* 13:439-449, 2004)。

これにより患者自身の体内で安全かつ安価に作製でき、特殊な作成施設を必要としない、自家組織代用血管の実用化の可能性が明らかとなってきた。本研究では、自家細胞とマトリックス成分を用いて自己の体内にお

いて自らの移植臓器を自在に設計・誘導・再生すると言う、再生医療工学的に全く新しい着想に基づく移植医療技術 D.I.Y 再生医療 - 『生体内組織形成技術』 - を形成外科・再建外科領域に応用し、小口径動脈・静脈・リンパ管等の脈管再建を吻合手技なしに行うことを可能にする無吻合バイオチューブを開発する。

2. 研究の目的

本研究では、自家細胞とマトリックス成分を用いて患者自身の体内において、自らの体内に移植するための代用臓器を自在に設計・誘導・再生するという、全く新しい着想に基づく D.I.Y. 再生医療『生体内組織形成技術』の応用により、開発を進めている完全自家結合組織小口径代用血管バイオチューブの発展型として、吻合を行うことなく、動脈・静脈・リンパ管などのあらゆる微小脈管を再建するための“無吻合バイオチューブの開発を行うことを目的とした。今回開発予定の無吻合バイオチューブは、基材(鋳型)を特殊形状とする事により、(1)吻合予定の脈管内に鋳型を挿入し、(2)周囲からの自家結合組織形成誘導-カプセル化を行い、(3)最終的に基材を除去し、(4)吻合手技無しに 2 つの脈管を自家結合組織で接続する。分岐形状などについても実験を計画しており、複数の脈管に対する複雑な同時血行再建に対応できる、分岐バイオチューブの作成 についても検証している。吻合することなく自己血管と一体化した代用血管が作成できれば、吻合による術中出血の心配なく、確実な血管同士の接続が可能となり、吻合部仮性動脈瘤や吻合部狭窄などの合併症を回避できる可能性が高く、非常に有意義であると考えられる。また、分岐形状の無吻合バイオチューブの作成はあらかじめ分岐を持ったバイオチューブが作成可能になるということであり、多枝バイパスを要する症例に対して、複数の分岐を吻合して作成する手間が省くことが可能となることを意

味する。これにより、上述の利点に加え、大幅な手術時間の短縮につながる可能性があり、患者への手術侵襲を軽減につながれば多に意義深いことであると考えている。

3. 研究の方法

・無吻合バイオチューブの作成：まずは、従来より使用していた、円柱状シリコン棒で無吻合バイオチューブの作成を試みた。ビーグル犬頸動脈、頸静脈に6-0 polypropylene系で2重に巾着縫合をおき、その中心を切開し、それぞれ3mm、5mmの基材を挿入し、挿入部を結紮し、基材を固定した。実験は3頭のビーグル犬で行った。1頭は左頸静脈に5mmの基材、1頭は左頸動脈に3mmの、左頸静脈に5mmの基材を、また、1頭には左右頸静脈に5mmの基材を1本ずつ挿入した。この方法により、基材挿入部からの著明な出血は認めなかった。基材埋入後8週目に、開創し観察するとカプセル化され、刺入した動静脈と一体化した基材が確認できた。基材を取り出し、一体化された部位と反対側のバイオチューブを静脈、動脈に吻合し静脈-静脈、動脈-動脈、動脈-静脈の接続を行った。

・分岐バイオチューブの作成：シリコン素材によるY型、枝付きの基材の作成を行った。分岐型バイオチューブ作成用基材の作成は可能であった。動脈、静脈共に基材周囲にカプセル化組織が形成され、血管壁とスムーズに一体化していた。

4. 研究成果

無吻合バイオチューブ作成のために自己血管に出血や脱落をおこさず基材を刺入することは技術的には可能であることが証明された。約8週間の埋入で基材周囲にコラーゲンと線維芽細胞を主とするバイオチューブが形成され、基材を刺入した自己血管とスムーズに一体化していた。基材を除去しても、自己血管と形成されたバイオチューブの接合部からの出血や、瘤化、破裂などは認めなかった。

一体化された部位と反対側のバイオチューブは通常の血管吻合手技で静脈-静脈、動脈-動脈、動脈-静脈との接続が可能であった。

今後、移植実験を継続し、長期にわたる耐久性、機能性の評価が必要である。

また、分岐した基材を従来通りのバイオチューブ作成方法と同様に実験動物の皮下に埋入することにより、分岐型バイオチューブが容易に作成可能であった。分岐型についても、移植実験により長期にわたる耐久性、機能性の評価を行っていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1件)

Yamanami M, Ishibashi-Ueda H, Yamamoto A, Iida H, Watanabe T, Kanda K, Yaku H, Nakayama Y. Implantation study of small-caliber "biotube" vascular grafts in a rat model. J Artif Organs 2013;16(1):59-65. (査読有)

〔学会発表〕(計 12件)

渡辺太治 , 神田圭一 , 山南将志 , 水野壮司 , 中山泰秀 , 夜久均
Biosheetの生体補填材料としての応用
第52回日本人工臓器学会大会、平成26年10月17日～19日、札幌市

Taiji Watanabe, Hidetake Kawajiri, Masashi Yamanami, Keiichi Kanda, Hitoshi Yaku, Yasuhide Nakayama
Autologous Connective Tissue Membrane (Bio-Sheet) As A Substitute For Self-pericardium
XLI Annual ESAO(European Society for Artificial Organs) Congress
2014年9月17-20日、ローマ(イタリア)

T Watanabe , K Kanda , M Yamanami , T Mizuno , H Yaku , Y Nakayama
Follow-up Report on the BIOTUBE of 5-year Implantation -Angiographic and

Sonographic Evaluations-

XXXX ESAO(European Society for Artificial Organs) Congress、2013年9月11-14日、グラスゴー(スコットランド)

Taiji Watanabe , Keiichi Kanda , Masashi Yamanami , Osamu Sakai , Hitoshi Yaku , Yasuhide Nakayama ,

Long term patency and durability of in vivo tissue engineered autologous tube grafts „Biotubes “

The 62nd ESCVS (the European Society for Cardiovascular and Endovascular Surgery)、2013年4月11-13日、レーゲンスブルグ(ドイツ)。

渡辺太治、山南将志、水野壮司、神田圭一、夜久均、中山泰秀

バイオチューブ人工血管移植後6年目の超音波による開存性、形態的变化の評価。

第51回 日本人工臓器学会大会(JSA02013) / 第5回 国際人工臓器学術大会(IFA02013)、平成25年9月27日~29日、横浜市

渡辺太治、山南将志、神田圭一、夜久均、中山泰秀

ビーグル犬の頸動脈へ移植後5年経過したBiotube人工血管の超音波検査による血流評価。第12回日本再生医療学会、平成25年3月21日~23日、横浜市

T. Watanabe, K. Kanda, M. Yamanami, H. Yaku, Y. Nakayama

First Report of Application of Biotube Vascular Grafts to Off-pump CABG in an Acute Porcine Model

XXXIX. ESAO(European Society for Artificial Organs) Congress、2012年9月26-29日、ロストック(ドイツ)

T.Watanabe, T.Tsujinaka, M. Yamanami, K. Kanda, H. Yaku, Y. Nakayama

Rapid preparation of biotube vascular grafts by using eosin-eluting molds

XXXIX. ESAO(European Society for

Artificial Organs) Congress、2012年9月26-29日、ロストック(ドイツ)

渡辺太治、神田圭一、山南将志、坂井修、夜久均、中山泰秀

バイオチューブを用いた冠動脈バイパス術 - ブタでの予備的異種移植実験 - .第50回日本人工臓器学会大会、平成24年11月22-24日、福岡

渡辺太治、辻中貴大、山南将志、神田圭一、夜久均、中山泰秀

バイオチューブ短期作成のための工夫。第11回日本再生医療学会総会、2012年6月12-14日、横浜市。

山南将志、渡辺太治、神田圭一、夜久均、上地正実、武輪能明、中山泰秀。生体内組織形成技術による循環器系生成医療デバイスの開発。第11回日本再生医療学会総会、2012年6月12-14日、横浜市。

Yamanami M, Watanabe T, Kanda K, Ishibashi-Ueda H, Yaku H, Nakayama Y. By rapid arterialization, completely autologous vascular grafts without synthetic support materials “BIOTUBEs” showed no degenerative changes under systemic blood pressure. The 61st ESCVS (the European Society for Cardiovascular and Endovascular Surgery)、2012年4月25-28日、ドブロブニク(クロアチア)。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡辺 太治 (WATANABE TAIJI)

所属機関名：京都府立医科大学

部局名：医学研究科

職名：助教

研究者番号：20448723

(2) 研究分担者

大場 謙吉 (OHBA KENKICHI)

所属機関名：関西大学

部局名：付属研究所

職名：研究員

研究者番号：30029186

(削除：平成25年7月24日)

中山 泰秀 (NAKAYAMA YASUhide)

所属機関名：独立行政法人国立循環器病研究センター

部局名：生体医工学部

職名：室長

研究者番号：50250262

神田 圭一 (KANDA KEIICHI)

所属機関名：京都府立医科大学

部局名：医学(系)研究科(研究院)

職名：講師

研究者番号：60295649

田地川 勉 (TAJIKAWA TSUTOMU)

所属機関名：関西大学

部局名：工学部

職名：准教授

研究者番号：80351500