

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：84404

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2016

課題番号：25670603

研究課題名(和文) 生体内組織形成術により作製したバイオバルブの全人工心臓への応用

研究課題名(英文) Application of in-body tissue-engineered heart valve (biovalve) to total artificial heart

研究代表者

住倉 博仁 (Sumikura, Hirohito)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・特任研究員

研究者番号：20433998

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、皮下などの体内を組織構築の場(バイオリアクター)にして自己組織からなる移植片を作製する生体内組織形成術を応用し、全人工心臓用バイオバルブの開発を行った。バイオバルブ作製の鋳型を設計、試作し、大動物の皮下でバイオバルブを作製した。全人工心臓への応用を目的とし、ステント付バイオバルブ、ステント付バイオバルブ、導管付バイオバルブの計3種類を試作した。作製したバイオバルブを拍動流模擬循環回路に接続し生体外評価試験を行った結果、全人工心臓に適用可能な性能を示した。3種類のバイオバルブの評価結果を基に、全人工心臓の血液ポンプに組み込むための血液ポンプ用バイオバルブを作製した。

研究成果の概要(英文)：In this study, a biovalve for total artificial heart was developed using the "in-body tissue architecture" technology. A specially designed acrylic mold was placed in dorsal subcutaneous pouches of goats for 1-2 months. After extraction, the cylindrical mold was removed to obtain the biovalve. We fabricated three different forms of biovalves and evaluated their function in vitro using a mock circulation circuit to determine the optimal biovalve form for total artificial heart. The developed biovalves demonstrated good function in in vitro study. Based on the evaluation results of three kinds of biovalves, the biovalve for total artificial heart was developed.

研究分野：医用生体工学

キーワード：バイオバルブ 全人工心臓 人工弁 自己組織 模擬循環回路

1. 研究開始当初の背景

全人工心臓の開発において、血液ポンプ内の血液を一方向へ循環するために流入流出口にそれぞれ人工弁が設置されるが、この人工弁に関しては、臨床に使用されている機械弁を応用することが多い。しかし、人工心臓用に開発されたものではないため、特別に設計された弁座を用いて機械弁を固定することとなる。本手法は人工心臓のポンプ機能の面からは充分にその役割を担っているが、抗血栓性の面からみると機械弁の固定部に生じる不連続面により、血栓を誘発する可能性を有する。そのため、より抗血栓性に優れた全人工心臓を開発するためには全人工心臓用人工弁が必要と考えられる。

我々は、人工物を体内に留置した際に起こる結合組織によるカプセル化反応を組織工学に応用し、皮下などの体内を組織構築の場(バイオリクター)にして自己組織からなる移植片を作成する新しい生体内組織形成術(In body tissue architecture technology)を開発している⁽¹⁾。現在までに、汎用性高分子の一種であるシリコーンの人工弁作製基材を鋳型として大動物(成ヤギ)皮下に埋入することで、循環系組織体としてバイオバルブと名付けた心臓弁の研究開発を推進してきた。成ヤギを用いた大動物系自家移植実験における性能評価の結果、バイオバルブは優れた弁機能と共に高い耐久性を有することが確認された。

2. 研究の目的

本研究では、生体内組織形成術により作製したバイオバルブを全人工心臓に応用し、優れた抗血栓性を有する全人工心臓の開発を進めることを目的とした。本研究では、以下に示す項目を実施した。

- 1) 全人工心臓に組み込むために、バイオバルブ作製の鋳型を設計、試作し、大動物の皮下でバイオバルブを作製した。全人工心臓への応用を目的とし、①ステンレスリング付バイオバルブ、②ステント付バイオバルブ、③完全に自己組織からなる導管付バイオバルブの計3種類のバイオバルブを作製した。
- 2) 作製したバイオバルブについて、拍動流模擬循環回路を用いた生体外評価試験を行った。
- 3) 上記検討を基に、全人工心臓の血液ポンプに組み込むための血液ポンプ用バイオバルブを作製した。

3. 研究の方法

(1) ステンレスリング付バイオバルブの開発

全人工心臓用血液ポンプに組み込むことを確かめる目的でバイオバルブの試作を行った。3DCADにてバイオバルブ作製用基材の設計を行い、3Dプリンタを用いて円柱型アクリル基材を作製した。この基材と同様に3DCADで設計した王冠状のステンレスリングと

を組み合わせた鋳型を成ヤギの皮下に埋込した。約一カ月後に摘出し、アクリル基材を除去することでステンレスリング内部に結合組織からなるバイオバルブが一体化したステンレスリング付バイオバルブ(内径20mm)を作製した(図1)。

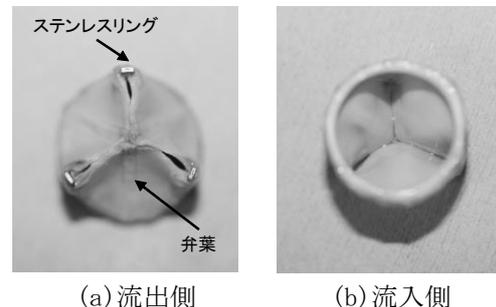
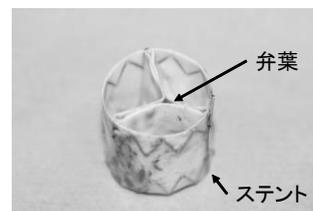


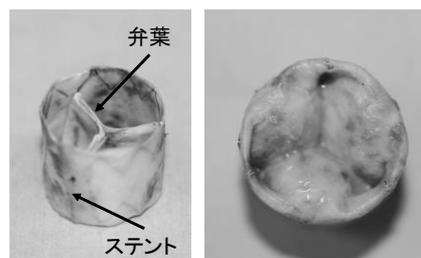
図1 ステンレスリング付バイオバルブ

(2) ステント付バイオバルブの開発

全人工心臓用血液ポンプに組み込むための肺動脈弁用バイオバルブを試作した。3DCADにてバイオバルブの基材の設計を行い、3Dプリンタを用いて円柱型アクリル基材を作製した。この基材と同様に3DCADで設計したステントとを組み合わせた鋳型を成ヤギの皮下に埋込した。約一カ月後に摘出し、アクリル基材を除去することでステントと結合組織からなるステント付バイオバルブ(内径25mm)を作製した(図2(a))。更に、ステント付バイオバルブの弁葉形状は開放位であり、弁葉が閉じる際の逆流が多いことから改良の必要性が示唆された。そこで、アクリル基材のデザインを変更することで閉鎖位型ステント付バイオバルブの試作を試みた。アクリル製基材のみデザインを変更し、ステントと組み合わせた鋳型を成ヤギの皮下に埋込した。約一カ月後に摘出し、アクリル基材を除去することでステントと結合組織からなる閉鎖位型ステント付バイオバルブ(内径25mm)を作製した(図2(b))。



(a) 開放位型ステント付バイオバルブ



(b) 閉鎖位型ステント付バイオバルブ
(左図：流出側、右図：流入側)

図2 ステント付バイオバルブ

(3)完全に自己組織からなる導管付バイオバルブの開発

ステント付バイオバルブと比較し耐久性の向上が期待可能な完全に自己組織のみからなる導管付バイオバルブの試作を行った。3D CADにて導管付バイオバルブ基材の設計を行い、3Dプリンタを用いてアクリル製の鋳型を作製し成ヤギの皮下に埋込した。約一カ月後に摘出し、アクリル基材を除去することで完全に自己組織のみからなる導管付バイオバルブを作製した(図3)。

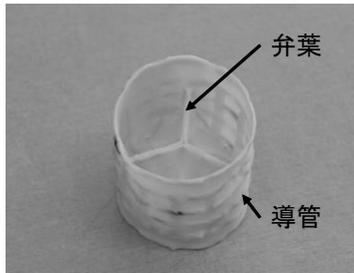


図3 導管付バイオバルブ

(4)生体外機能評価試験

作製したバイオバルブについて、拍動流回路を用いた生体外評価を行った。評価に用いた拍動流回路は、心室を模擬する拍動ポンプ、動脈用コンプライアンスチャンバ、心房用リザーバ、および末梢抵抗を模擬する電磁弁から構成した(図4)。各バイオバルブを拍動流回路の大動脈弁位、もしくは肺動脈弁位に接続した。拍動流模擬循環回路の作動流体は37°Cの生理食塩水を用いた。実験は、体循環系、および肺循環系の圧力負荷に対するバイオバルブの特性に関し検討を行った。

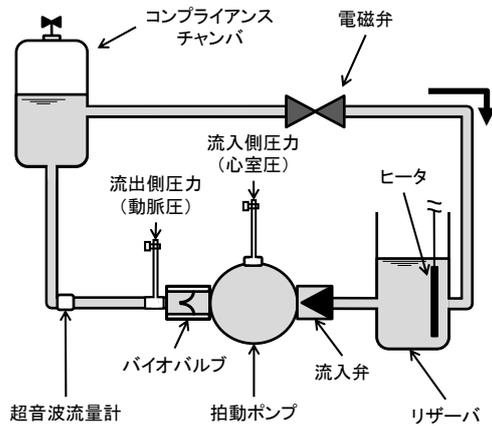


図4 拍動流模擬循環回路

4. 研究成果

(1)ステンレスリング付バイオバルブの評価結果

ステンレスリング付バイオバルブを大動脈弁位に接続して、拍動流模擬循環回路を用いた機能評価試験を行った。体循環系の圧力負荷に対するバイオバルブの弁機能に関して予備的な検討を行うと、拍動数70-120 bpm、平均大動脈圧約100 mmHgにおける拍出量は4.8-5.9 L/minとなり、平均逆流率は約11%

であった(図5)。バイオバルブは試作段階ではあったが、全人工心臓用として適用可能であることが示唆され、今後の改良によって十分な弁機能が得られると期待された。

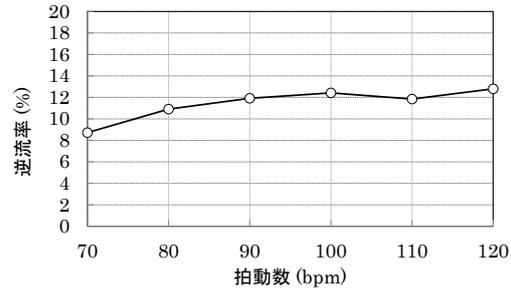


図5 ステンレスリング付バイオバルブの評価結果(逆流率)

(2)ステント付バイオバルブの評価結果

ステント付バイオバルブを肺動脈弁位に接続して、拍動流模擬循環回路を用いた機能評価試験を行った。肺循環系の圧力負荷に対するバイオバルブの弁機能に関して検討を行った結果、拍動数70-120 bpm、平均肺動脈圧約18 mmHgにおける拍出量は6.2-7.6 L/minとなり、平均逆流率は約10%であった。更に、閉鎖型ステント付バイオバルブを同様に検討を行った結果、閉鎖型型の逆流率は約7%であった(図6)。弁葉形状を閉鎖型型にすることでステント付バイオバルブの性能の向上が確認された。肺動脈弁用バイオバルブは試作段階ではあったが、全人工心臓用として適用可能であることが示唆され、今後の改良によって十分な弁機能が得られると期待された。

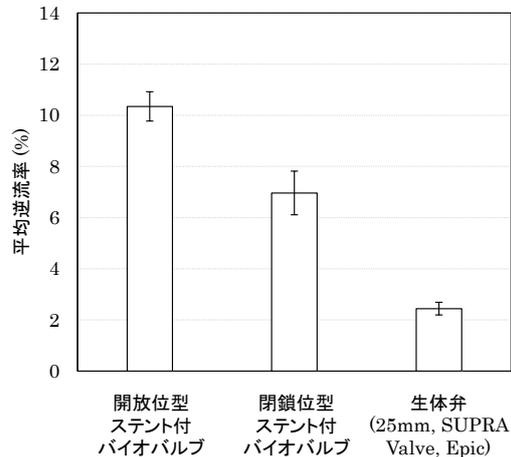


図6 ステント付バイオバルブの評価結果(逆流率)

(3)導管付バイオバルブの評価結果

完全に自己組織のみからなる導管付バイオバルブの生体外機能評価を行った。導管付バイオバルブ(内径20mm)を肺動脈弁位に接続して、拍動流模擬循環回路を用いた機能評価試験を行った。肺循環系の圧力負荷に対するバイオバルブの弁機能に関して検討を行った結果、導管付バイオバルブの平均逆流率は約11%

は約5%であった(図7)。ステント付バイオバルブの平均逆流率は約7%であり、同等の性能が得られることが確認された。

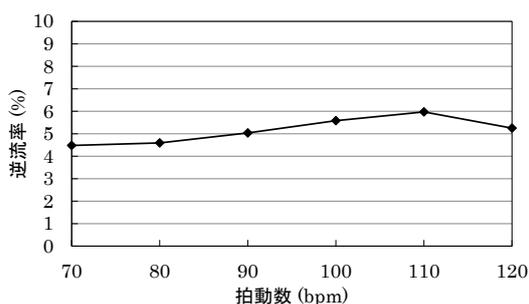
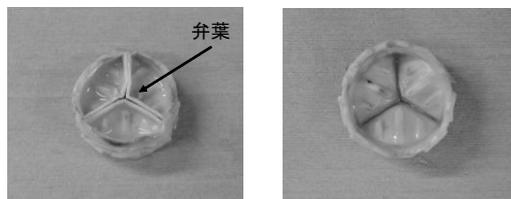


図7 導管付バイオバルブの評価結果(逆流率)

(4) 完全自己組織のみからなる血液ポンプ用バイオバルブの開発

3種類のバイオバルブの評価結果をもとに、血液ポンプ用バイオバルブを試作した。バイオバルブを血液ポンプに組み込むことを考慮し、導管付バイオバルブを基に改良を行い、完全に自己組織のみからなる血液ポンプ用バイオバルブを試作した。3D CADにて血液ポンプ用バイオバルブ基材の設計を行い、3Dプリンタを用いてアクリル製の鋳型を作製し成ヤギの皮下に埋込した。約二カ月に摘出し、アクリル基材を除去することで完全に自己組織のみからなる血液ポンプ用バイオバルブ(内径23mm)を作製した(図8)。



(a) 流出側 (b) 流入側
図8 血液ポンプ用バイオバルブ

バイオバルブを全人工心臓の血液ポンプに組み込むまでには至らなかったが、全人工心臓に適用するためのバイオバルブの設計開発に関する基盤技術の確立に繋がる成果を得た。今後の展望として、バイオバルブと同様に血液ポンプのダイアフラムやハウジング内面等の血液接触面をすべて自己組織で作製した完全自己組織からなる血液ポンプの開発等、本技術の応用・発展が期待できる。

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 8件)

- ① Sumikura H, Nakayama Y, Ohnuma K, Takewa Y, Tatsumi E, Development of a stent-biovalve with round-shaped leaflets: in vitro hydrodynamic

evaluation for transcatheter pulmonary valve implantation (TPVI), J Artif Organs, 査読有, Dec:19(4), 357-363, 2016

DOI: 10.1007/s10047-016-0909-6

- ② Sumikura H, Nakayama Y, Ohnuma K, Kishimoto S, Takewa Y, Tatsumi E, In vitro hydrodynamic evaluation of a biovalve with stent (tubular leaflet type) for transcatheter pulmonary valve implantation, J Artif Organs, 査読有, Dec:18(4):307-14, 2015

DOI: 10.1007/s10047-015-0851-z

- ③ Funayama M, Sumikura H, Takewa Y, Tatsumi E, Nakayama Y, Development of self-expanding valved stents with autologous tubular leaflet tissues for transcatheter valve implantation, J Artif Organs, 査読有, Sep:18(3):228-35, 2015

DOI: 10.1007/s10047-015-0820-6

- ④ Kishimoto S, Takewa Y, Nakayama Y, Date K, Sumikura H, Moriwaki T, Nishimura M, Tatsumi E, Sutureless aortic valve replacement using a novel autologous tissue heart valve with stent (stent biovalve): proof of concept, J Artif Organs, 査読有, Jun:18(2):185-90, 2015

DOI: 10.1007/s10047-015-0817-1

- ⑤ Nakayama Y, Takewa Y, Sumikura H, Yamanami M, Matsui Y, Oie T, Kishimoto Y, Arakawa M, Ohnuma K, Tajikawa T, Kanda K, Tatsumi E, In-body tissue-engineered aortic valve (Biovalve type VII) architecture based on 3D printer molding, J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 査読有, Jan:103(1):1-11, 2015

DOI: 10.1002/jbm.b.33186

- ⑥ 住倉博仁, 本間 章彦, 大沼 健太郎, 妙中 義之, 武輪 能明, 梅木 昭秀, 水野 敏秀, 築谷 朋典, 片桐 伸将, 藤井 豊, 角田 幸秀, 向林 宏, 片野 一夫, 福井 康裕, 巽 英介, ウェアラブル式空気圧駆動装置の全置換型人工心臓システムへの応用の基礎的検討, 電気学会論文誌C (電子・情報・システム部門誌), 査読有, Vol. 134, No. 6, 839-847, 2014

DOI: 10.1541/ieejeiss.134.839

- ⑦ Sumikura H, Nakayama Y, Ohnuma K, Takewa Y, Tatsumi E, In vitro evaluation of a novel autologous aortic valve (biovalve) with a pulsatile circulation circuit, Artif Organs, 査読有, Apr:38(4):282-9, 2014

DOI: 10.1111/aor.12173

- ⑧ Mizuno T, Takewa Y, Sumikura H, Ohnuma

K, Moriwaki T, Yamanami M, Oie T, Tatsumi E, Uechi M, Nakayama Y, Preparation of an Autologous Heart Valve with a Stent (Stent-Biovalve) Using the Stent Eversion Method, J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 査読有, Jul;102(5):1038-45, 2014
DOI: 10.1002/jbm.b.33086

with the sinus of Valsalva using in-body tissue architecture technology: a pilot study in pulmonary valve replacement in a beagle model, Circulation, Sep 14;122(11 Suppl), S100-6, 2010

[学会発表] (計 44件)

- ① Sumikura H, Nakayama Y, Ohnuma K, Takewa Y, Tatsumi E, Improvement and evaluation of biovalve with stent for transcatheter pulmonary valve implantation, Annual European Society for Artificial Organs Congress (42), Leuven, 2015.9.2-5
- ② 住倉博仁, 中山泰秀, 大沼健太郎, 武輪能明, 巽英介, チューブ型ステントバイオバルブの形状改良による機能向上, 日本再生医療学会総会 (14), 横浜市, 2015.3.19-21
- ③ 住倉博仁, 中山泰秀, 大沼健太郎, 武輪能明, 巽英介, チューブ型ステントバイオバルブにおける弁葉寸法の最適化, 日本人工臓器学会大会 (52), 札幌市, 2014.10.17-19
- ④ Sumikura H, Nakayama Y, Ohnuma K, Takewa Y, Tatsumi E, In vitro evaluation of a novel autologous biovalve with a stent for pulmonary valve, Annual European Society for Artificial Organs Congress (41), Rome, 2014.9.17-20
- ⑤ 住倉博仁, 中山泰秀, 大沼健太郎, 武輪能明, 巽英介, 肺動脈弁用ステントバイオバルブの IN VITRO 機能評価, 日本バイオレオロジー学会年会 (37), さいたま市, 2014.6.5-6
- ⑥ 住倉博仁, 中山泰秀, 大沼健太郎, 武輪能明, 巽英介, 自己組織心臓代用弁 (バイオバルブ) の生体外機能評価, 日本バイオレオロジー学会年会 (36), 福岡市, 2013.6.6-8

6. 研究組織

(1) 研究代表者

住倉 博仁 (SUMIKURA Hirohito)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・特任研究員

研究者番号: 20433998

参考文献

- (1) Yamanami M, Yahata Y, Uechi M, Fujiwara M, Ishibashi-Ueda H, Kanda K, Watanabe T, Tajikawa T, Ohba K, Yaku H, Nakayama Y, Development of a completely autologous valved conduit