

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 29 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462094

研究課題名(和文) 小児心臓血管外科領域における「吸収-再生-成長」可能なパッチ材料の開発

研究課題名(英文) Development of a new expandable sheet for surgical correction of pediatric cardiac disorders by biodegradation and inducing tissue restoration.

研究代表者

小澤 英樹 (OZAWA, HIDEKI)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：20277156

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：既存心臓修復シート材の問題点解決を目的に、天然高分子ポリマーであるシルクフィブロインと合成高分子のブレンドを材料としたエレクトロスピンニング不織布を作成し、物性と生体内反応性(動物埋植試験)を評価した。セグメント化ポリウレタンから開始し、ポリカーボネート、そして熱可塑性ポリウレタンとブレンドを変化させた。上記評価ではフィブロインブレンド熱可塑性ポリウレタンシートが最も優れていた。長期埋植結果を待たなければならない。

研究成果の概要(英文)：The existing sheets widely used in pediatric cardiac surgery often need to be replaced as in reoperation because of degradation, calcification, and infection of the sheets. A new synthetic sheet was developed to solve the problems by optimizing mechanical property and biocompatibility. The sheet was made by electrospinning method using a mixture of silk fibroin (SF) and a synthetic polymer, thermoplastic polyurethane (TPU). Flexibility, water permeability, and suture retention strength of the SF/TPU sheet were excellent and equivalent to the existing sheets. When the SF/TPU sheet was implanted in the canine aorta, the intraluminal surface of the sheet was covered with restored tissue with no calcium deposition and modest inflammatory reaction. There was no sign of patch degradation in short time after the implantation. These favorable features and possible biodegradability of the SF portion warrant a long-term follow-up study.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：心臓修復材料 fibroin 高分子ポリマー エレクトロスピンニング法

### 1. 研究開始当初の背景

心臓組織修復シートは、心室中隔欠損孔閉鎖や狭窄血管の拡大形成にパッチとして縫着される医療材料である。現在市販されている心臓組織修復シートの材料は、ePTFE（延伸多孔質ポリテトラフルオロエチレン）や、ウシ心膜が使用されている。これらは埋植後にパッチへの感染や変性・石灰化に由来する耐久性についての懸念が解消されていない。加えて成長著しい小児患者に埋植される場合には、シート材のサイズは不変なため成長する心臓との間にサイズミスマッチが生じる。これらの理由から既製品では再手術が余儀なくされる場合が多く、患者への身体的かつ経済的負担を強いる。

### 2. 研究の目的

(1) 既製シートの問題点を克服するために、緩やかに生分解され自己組織への置換により生体適合性と耐久性を有する心臓組織修復シートを新規に開発すること。

(2) 各種合成高分子ポリマーと天然高分子ポリマーであるシルクフィブロインをブレンドし、双方の有利な物性を利用してシート材を作成し、物性と動物埋植による生体反応を評価し、最適なブレンド条件を抽出すること。

### 3. 研究の方法

(1) 各種合成高分子ポリマーと天然高分子ポリマーであるシルクフィブロインをブレンドしたシートの作成：カイコ繭より精練したシルクフィブロインと合成高分子ポリマー溶液（1：1ブレンド）からエレクトロスピニング法（装置：フューエンス社製 ES-2000S2A）を用いてナノファイバーの交絡した不織布シートを作成した（図1）。合成高分子ポリマーとして平成26年度はセグメント化ポリウレタン、平成27年度はポリカーボネート、そして平成28年度は熱可塑性ポリウレタンを選択した。

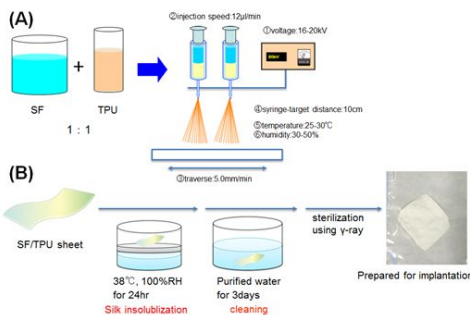


図1 合成高分子ポリマーと天然高分子ポリマーであるシルクフィブロインをブレンドしたシートの作成 (A:エレクトロスピニング法、B:固定安定化、図は熱可塑性ポリウレタンの例)

(2) 合成高分子ポリマーと天然高分子ポリマーであるシルクフィブロインをブレンドしたシートの物性評価：引っ張り試験による

stress-strain curveからの弾性力の評価(図2)、透水性試験、縫合系針穴からの漏血試験(図3)など。

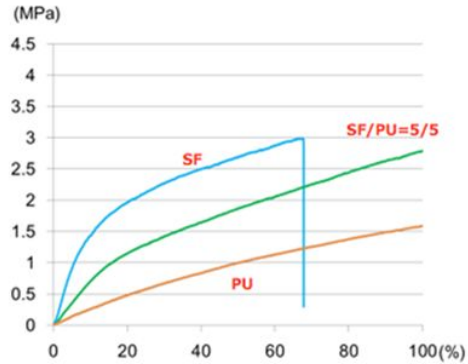


図2 stress-strain curve (フィブロインブレンド熱可塑性ポリウレタンシートの例)

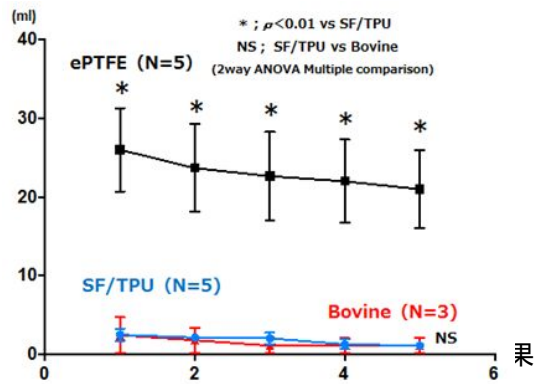


図3 縫合系針穴からの漏血量の測定 既製品との比較(フィブロインブレンド熱可塑性ポリウレタンシートの例)

(3) ビーグル犬大血管への各種シートの埋植試験(図4)：

平成26、27年度：ビーグル成犬を全身麻酔下に右側開胸で下大静脈に到達し、一時的に血行を遮断し、下大静脈壁の一部を切除し、シートをトリミングしてパッチとして欠損部を補填した。

平成28年度：実臨床でのニーズを考慮した高圧系の大動脈へとパッチ埋植モデルを変更した。全身麻酔下に左側開胸で下行大動脈に到達し、吻合時に必要となる大動脈遮断によって生じる合併症である下肢対麻痺を予防するための一時的バイパス回路を設置した。大動脈壁の一部を切除し、シートをトリミングしてパッチとして欠損部を補填した。

上記、共に、埋植手術時の操作性、自己血管壁とのフィッティング、縫合系による組織切れや漏血状況を観察し、一定期間の生存後に犠牲死させパッチ移植部を採取し組織学的評価を行った。血管内膜新生、血管平滑筋細胞(中膜)及び外膜コラーゲン線維を観察し、組織再生の程度を評価した。



図4 胸部下行大動脈に埋植したフィブロインブレンド熱可塑性ポリウレタンシートの例

#### 4. 研究成果

(1) エレクトロスピンニング法によるフィブロインブレンド高分子ポリマーシートの作成：均一な径のナノファイバーによる厚さ0.2~0.4 $\mu\text{m}$ の不織布を作成することが可能であった(図5)。

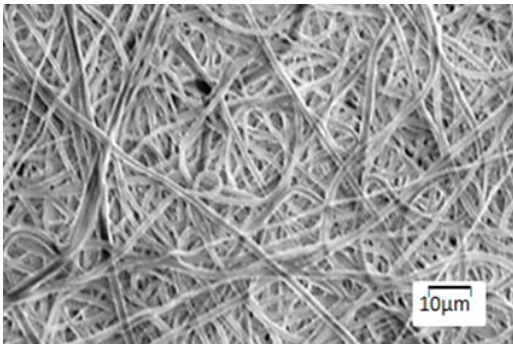


図5 フィブロインブレンド熱可塑性ポリウレタンシートの例

(2) 各種フィブロインブレンド高分子ポリマーシートの物性および埋植手術時の操作性

フィブロインブレンドセグメント化ポリウレタンシート：引っ張り試験(パッチへの張力を漸増させ、繊維の歪をパーセントで評価)では、フィブロインのみからなるパッチは容易に破断するが、セグメント化ポリウレタンの配合によって良好な柔軟性が得られた。透水性テスト(水圧を漸増させパッチの漏水を計測)では、現在臨床で汎用されているePTFE製パッチと同等の耐透水性が得られた。下大静脈への埋植では、縫合糸保持強度が脆弱であり“パッチの糸切れ”を生じた。その一方で針穴の止血性は良好であった。

フィブロインブレンドポリエチレンカーボネートシート：上記セグメント化ポリウレタンシートに比較し、下大静脈への埋植手術時の出血の減少とフィッティングなどの操作性が向上した。

フィブロインブレンド熱可塑性ポリウレタンシート：破断強度と粘弾性は既存製品(ePTFE製品) グルタルアルデヒド心臓膜と同等であり、特筆すべきはePTFE製品で

問題となる縫合糸による針穴出血は高圧である下大動脈壁への埋植にもかかわらず殆ど無かった。

(4) 各種 fibroin ブレンド高分子ポリマーシートの大型動物大血管への埋植試験と生体内反応

フィブロインブレンドセグメント化ポリウレタンシート(図6)：経過中で下大静脈狭窄・閉塞は生じなかった。埋植6~10ヵ月後に犠牲死させて摘出したパッチに瘤化や退縮は無く、内膜新生は良好なものの、癒着収縮によるパッチの変形が生じていた。組織学的観察ではパッチ周囲を単核細胞の浸潤と繊維化層が取り囲む慢性炎症像、エレクトロスピンニング薄層の離解が生じ間隙に線維芽細胞を先導するように浸潤するマクロファージと毛細血管の新生像が見られた。von Willebrand factor 免疫染色(血管内皮の存在)ではパッチの血液接触面では陰性で、新生毛細血管で陽性であった。パッチ自体の分解吸収と自己組織への置換の所見は乏しかった。

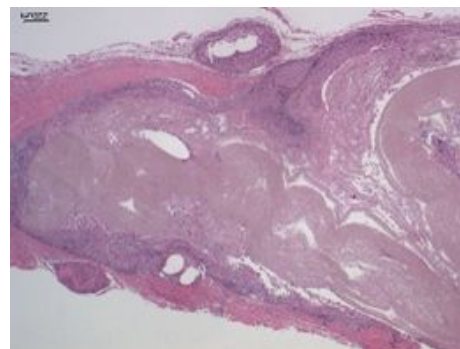
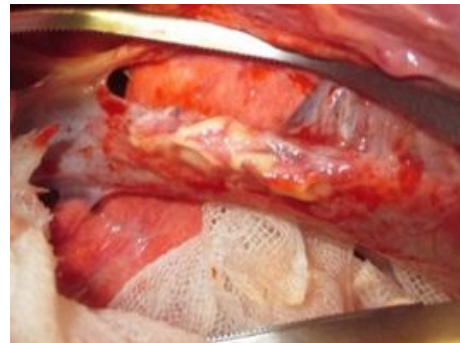


図6 フィブロインブレンドセグメント化ポリウレタンシート(摘出時外観、血管内腔面、組織学的所見)

ファイブロインブレンドポリエチレンカーボネートシート(図6): セグメント化ポリウレタンシートと同様に内膜新生は良好なもの、癒痕収縮によるパッチの変形が生じていた。シートが島状に残存しながら崩壊し下大静脈壁の自己組織再生像を認めたが、異物反応による高度の炎症反応の遷延する像を認めた。

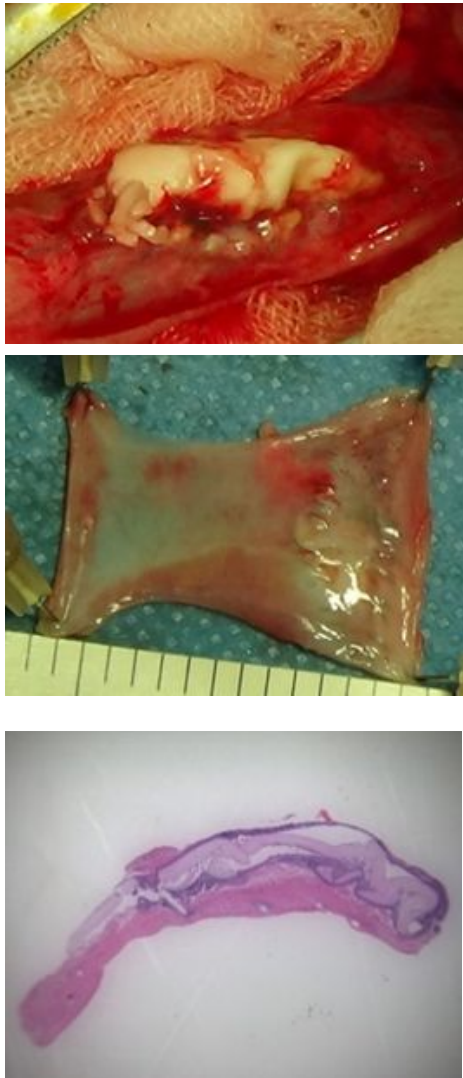


図6 ファイブロインブレンドポリカーボネート(摘出時外観、血管内腔面、組織学的所見)

ファイブロインブレンド熱可塑性ポリウレタンシート(図7): 埋植3~6か月後のパッチ埋植部位の観察(摘出標本)では、肉眼的に狭窄や瘤化はなく血管内腔面には自己大動脈壁と連続する平滑な内膜組織が形成されていた。組織学的には、パッチ内外側に平滑筋細胞と膠原繊維が層状に配列し、内膜は内皮細胞で被覆されるという組織修復所見が得られた。またパッチ周囲の炎症性細胞集積はごく軽度にとどまり良好な生体適合性を示した。またパッチを構成する線維は構造を維持しており、石灰化もなく安定していた。一方で生分解性を示唆する崩壊や吸収像を

認めなかった。

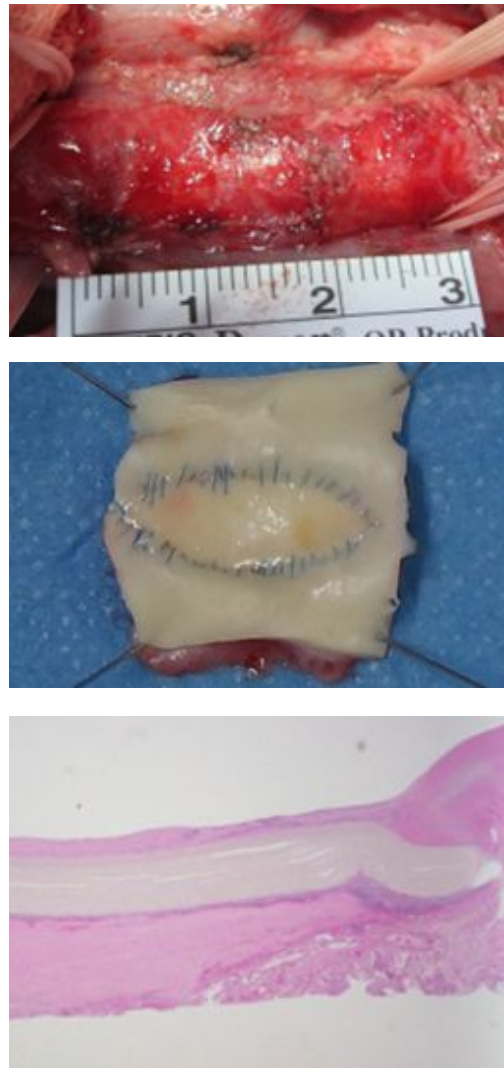


図7 ファイブロインブレンド熱可塑性ポリウレタン(摘出時外観、血管内腔面、組織学的所見)

本研究の研究期間内では、シルクファイブロイン・ペレセン配合パッチの生体内埋植後長期における観察が終了できなかった。このため「パッチ線維の吸収と自己組織への置換」そして「組織再生を通じた成長(周囲組織の成長を妨げない)」の性能を証明する課題については今後のフォローアップ研究に託したい。

##### 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9件)

島田 亮、中澤 靖元、根本 慎太郎、シルクファイブロインを基盤とした生分解性を有する心臓血管修復用パッチ材の開発(第3報)、第52回日本小児循環器学会総会・学術集会、平成28年7月8日、東京

島田 亮、根本 慎太郎、中澤 靖元、シルクフィブロインを基盤とした生分解性を有する心臓血管修復用パッチ材の開発（第2報）第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、平成27年7月17日

島田 亮、根本 慎太郎、小澤 英樹、中澤 靖元、シルクフィブロイン/ポリウレタン混合系による生体適合性を有する心臓修復用パッチ材の開発、第115回日本外科学会定期学術集会、平成27年4月18日

中澤 靖元、根本 慎太郎、絹フィブロインを基盤とした外科手術用心臓組織修復パッチの開発、平成26年度繊維学会年次大会、平成26年6月12日

中澤 靖元、根本 慎太郎、絹フィブロインを基盤とした機能性シート材料の開発と手術用死蔵修復パッチへの応用、第63回高分子学会年次大会、平成26年5月29日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称：組成物、医療用組成物及び組成物の製造方法

番号：2015-181130

出願年月日：2015.9.14

国内外の別：国内

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.osaka-med.ac.jp/deps/tho/intro/shinzo/senten.html>

<http://www.osaka-med.ac.jp/deps/tho/guide/kenkyu/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小澤 英樹 (OZAWA Hideki)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：20277156

### (2) 研究分担者

根本 慎太郎 (NEMOTO Shintaro)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：20237811

中澤 靖元 (NAKAZAWA Yasumoto)

東京農工大学・工学研究科・准教授

研究者番号：20456255

星賀 正明 (HOSHIGA Masaaki)

大阪医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90309154

### (3) 連携研究者

田中 稜 (TANAKA Ryo)

東京農工大学・農学部・准教授

研究者番号：70334480