

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08582

研究課題名(和文) 脱細胞心臓マトリックスへの心筋細胞再細胞化による移植グラフトの作成

研究課題名(英文) Creation of transplant grafts by cardiomyocyte recellularization into decellularized cardiac matrix

研究代表者

稲葉 佑 (INABA, Yu)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任助教

研究者番号：70815589

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、組織脱細胞化技術にて作成される心臓組織Scaffold内での、再細胞化に関する手法、再細胞化された組織の有用性を検討する研究である。生体内での再細胞化の手法として、1心筋部分移植、2僧帽弁複合体移植、3冠動脈バイパス用小口径グラフト開発を行った。移植された脱細胞化心筋組織は組織学的に心筋細胞の遊走、血管内皮細胞、血流の再開、繊維芽細胞浸潤を認め、in vivoでの再細胞化を確認した。また弁移植、血管移植に関しては、生理的な弁機能、血管機能も果たした。いずれの実験でも、脱細胞化組織は、生体適合性が良好であり、心筋組織再生に有用な細胞足場骨格である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、心臓再生医療における脱細胞化骨格の有用性に関する研究である。近年高齢化に伴い、重症心不全、弁膜症、虚血性心疾患の増加が認められている。いずれも薬物治療が困難な症例は、外科的治療が必要となる。その際、補助人工心臓、人工弁、バイパスグラフトなど他家または異所性臓器の移植、置換を要するが、生体適合性が低いことが大きな問題であり、臨床的課題となっている。今回、臓器脱細胞化技術を用いて、心臓組織が作成され、生体適合性が高い組織による再生医療の有用性が示された。外科的心臓再生医療における新たな可能性を示すことが出来た研究である。

研究成果の概要(英文)：This study examines the technique for recellularization and the usefulness of recellularized tissue in the cardiac tissue Scaffold created by tissue decellularization technology. As a method of recellularization in vivo, 1 partial myocardial transplantation, 2 mitral valve complex transplantation, and 3 small-diameter grafts for coronary artery bypass grafting were developed. The transplanted decellularized myocardial tissue histologically showed myocardial cell migration, vascular endothelial cells, resumption of blood flow, and fibroblast infiltration, confirming in vivo recellularization. In addition, regarding valve transplantation and vascular transplantation, it also fulfilled physiological valve function and vascular function. In both experiments, it was suggested that the decellularized tissue has good biocompatibility and may be a cell scaffold skeleton useful for myocardial tissue regeneration.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：脱細胞化骨格 組織工学 弁膜症 虚血性心疾患 重症心不全

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

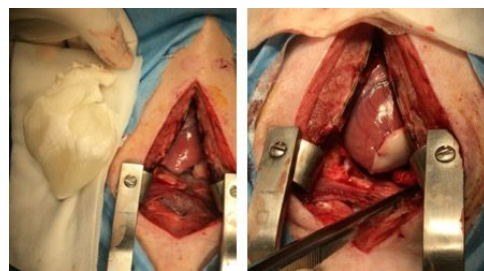
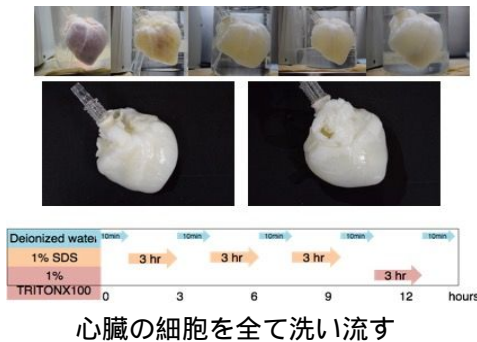
本研究は、心筋組織再生医療の臨床応用に向け、脱細胞化 Scaffold 内での心筋細胞再細胞化に焦点を当てたものとなる。再細胞化の方法論や、機能し得る心筋組織の作成法に関する報告は少ないのが現状である。今回、我々は生体組織由来の心筋組織作成のため心臓脱細胞化 Scaffold 内での心筋細胞、血管内皮細胞、繊維芽細胞の再細胞化の方法の確立とその評価を行う。

2. 研究の目的

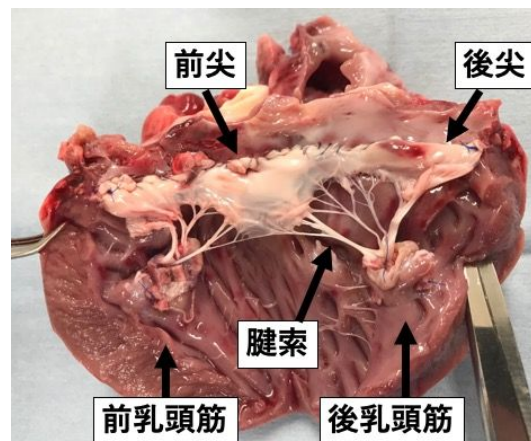
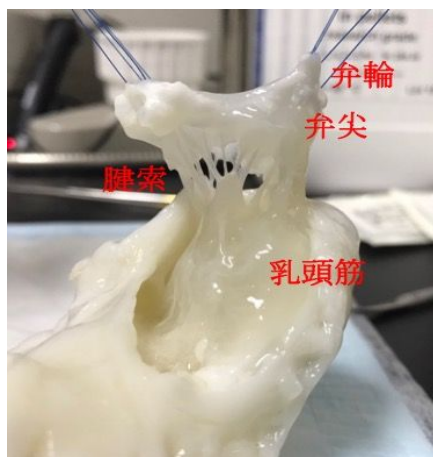
本研究は、組織脱細胞化技術にて作成される Scaffold 内での、再細胞化に関する手法、再細胞化された組織の有用性を検討する研究である。当初、新生児ラットの単離心筋細胞を Scaffold 内で in vitro 培養し、その効果を観察する計画であったが、Scaffold 内での無菌状態での細胞培養は非常に困難を極め、in vivo での Scaffold 内への細胞生着の程度を観察するという研究へ移行している。生体内での再細胞化の手法として、1 心筋部分移植、2 僧帽弁複合体移植、3 冠動脈バイパス用小口径グラフト開発を行った。

3. 研究の方法

(1) 事前に別のブタ心臓を採取し、我々の研究プロトコルに則って臓器脱細胞化を行った。心拍動下で心尖部の心筋を部分切除。心筋切除部分に脱細胞化心筋組織が補填される形で移植を行った。1ヶ月生存後、Sacrifice を行い、組織検査を行い再細胞化の程度を確認した。



(2) 事前に別のブタ心臓を採取し、臓器脱細胞化を行い脱細胞化僧帽弁複合体グラフトを作成した。人工心肺下に同グラフトを僧帽弁位に移植し、弁機能、再細胞化の程度を確認した。



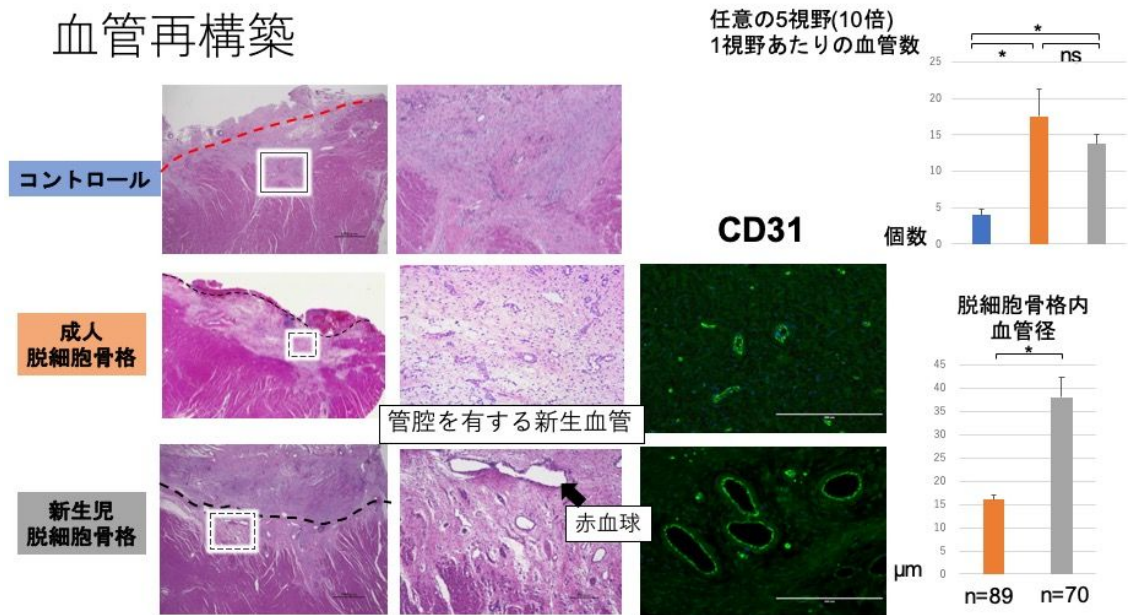
(3) 事前に別のブタ心臓を採取し、頸動脈脱細胞化を行った。小口径グラフトの最大の課題は、グラフト血栓化、長期開存性である。その課題を克服するため、抗血栓性コーティングを施したのち、血管内皮細胞還流培養を行い移植実験を行った。心拍動下に左前下行枝にバイパス手術を行い、グラフトとしての有用性を確認した。



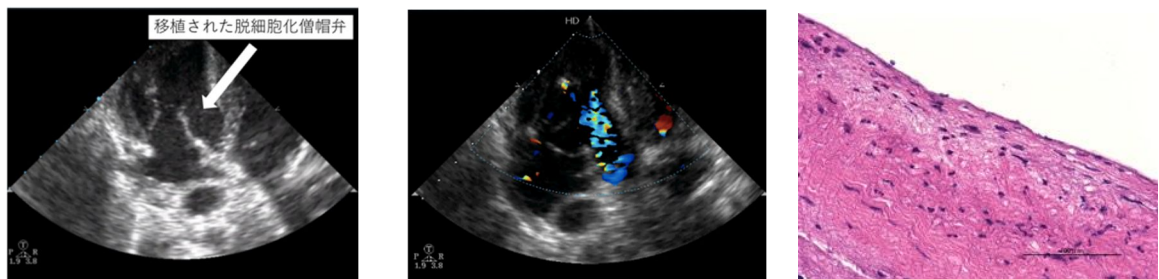
4. 研究成果

(1) 移植された実験動物(ブタ)は、1ヶ月生存し、心不全症状や免疫拒絶症状を認めなかった。移植された脱細胞化心筋組織を組織学的に観察すると、組織内へ、心筋細胞の遊走、血管内皮細胞、血流の再開を認め、in vivoでの再細胞化を確認した。

血管再構築



(2) 脱細胞化組織の力学的有用性についても検討するため、他ブタの僧帽弁位に僧帽弁複合体の移植を行った。移植された脱細胞組織は、僧帽弁機能を有し、心機能は維持された。また移植された僧帽弁組織を観察すると3週間で血管内皮に被覆され、脱細胞化組織内には血管内皮細胞、繊維芽細胞の浸潤を認めた。いずれの実験でも、脱細胞化組織は、生体適合性が良好であり、in vivoにおける良好な再細胞化を認めることが分かった。

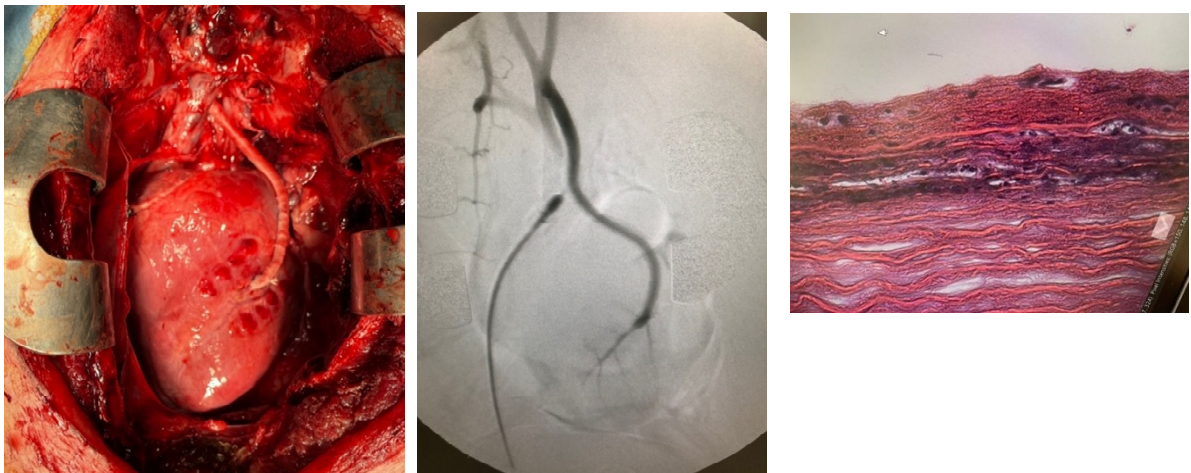


グラフト移植後、弁の可動性は良好

弁逆流なし

脱細胞化組織内に細胞浸潤あり

(3) 術後短期的にグラフトの開存を認め、グラフトとしての有用性を確認した。



上記研究結果は、第 56 回日本人工臓器学会(2018.11.3)、第 18 回心臓血管外科再生医療研究会(2019.2.11)、第 18 回日本再生医療学会総会(2019.3.21)、第 119 回日本外科学会定期学術集会(2019.4.20)、第 72 回日本胸部外科学会定期学術集会(2019.11.2)で発表した。また Surg Today. 2020 Mar;50(3):298-306. に研究内容は掲載され、研究内容が第 119 回日本外科学会定期学術集会のプレナリー演題として表彰、2020 年度日本外科学会研究奨励賞を受賞した。

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 0件）

1. 著者名 Yu Inaba	4. 巻 50
2. 論文標題 Transplantation of a decellularized mitral valve complex in pigs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 298-306
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00595-019-01869-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 稲葉 佑
2. 発表標題 脱細胞化技術を用いた僧帽弁複合体人工弁の開発
3. 学会等名 第18回心臓血管外科再生医療研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲葉 佑
2. 発表標題 脱細胞化技術により作成される僧帽弁複合体人工弁の開発
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲葉 佑
2. 発表標題 心臓再生における脱細胞化骨格の有用性の検討
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲葉 佑
2. 発表標題 脱細胞化技術を用いた僧帽弁位人工弁の開発(プレナリー演題)
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲葉 佑
2. 発表標題 脱細胞化組織工学により作成される僧帽弁複合体グラフト移植手術
3. 学会等名 第72回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲葉佑
2. 発表標題 心臓再生における脱細胞化骨格の有用性の検討
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲葉佑
2. 発表標題 脱細胞化技術により作成される僧帽弁複合体人工弁の開発
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲葉佑
2. 発表標題 脱細胞化技術を用いた僧帽弁位人工弁の開発
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲葉佑
2. 発表標題 心臓再生における脱細胞化心臓骨格の有用性の検討
3. 学会等名 第56回日本人工臓器学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

第119回日本外科学会定期学術集会プレナリー演題 2020年度(令和2年度)日本外科学会研究奨励賞
--

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	志水 秀行 (SHIMIZU Hideyuki) (50226247)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・教授 (32612)	

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	伊藤 努 (ITO Tsutomu) (00232455)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・准教授 (32612)	

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