

令和 4 年 5 月 28 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08759

研究課題名(和文) 腸管スキャフォールドとコラーゲン結合型成長因子を用いた拍動性グラフトの創成

研究課題名(英文) Development of a novel biomimetic vascular graft using original collagen anchoring domain with growth factor

研究代表者

笠原 真悟 (Kasahara, Shingo)

岡山大学・医歯薬学域・教授

研究者番号：90233692

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本課題は、組織工学的手法を用いた拍動性人工血管開発であり、先天性心疾患領域における機能的単心室症への臨床応用を目指した。研究期間において、本人工血管の基材(骨格)となる動物由来組織(ラット腸管)の脱細胞化に成功した。しかし、肝となる基材の細胞化においては、心筋細胞の生着が十分ではなく、さらにcollagen anchoring protein(我々のオリジナルrecombinantタンパク)による生着率の向上も達成できなかった。実験条件の工夫やanchoring proteinに付与するgrowth factorの変更等、いくつかの課題は明確になったものの十分な結果は得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題の目標は、先天性心疾患の予後改善に資する新たな人工血管を開発することである。つまり、現行の人工血管では得られない動的(拍動)機能を付与するため、生細胞の人工血管への再播種・生着が最大のハードルである。本研究期間では、生体組織の基材作成(動物組織の脱細胞化)についてはクリア出来たものの、基材への細胞生着率の向上に関しては十分な成果が得られなかった。しかし、細胞生着に必要な知見は日々更新されており、我々のオリジナルアンカリングタンパクに用いる成長因子に関しても多く選択肢があるため、今後も細胞生着率向上に向けて研究を継続したい。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on the development of a novel biomimetic vascular graft purposing application for congenital heart disease. For this research period, we had made the reasonable vascular scaffold, followed by decellularization of rat-derived intestinal tissue. However, although most critical issue in this project was to achieve the improved recellularization, we could not have a successful cell attachment to the scaffold. In addition, we tried to increasing cell number in the scaffold by use of collagen-anchoring original technology, unfortunately, resulted in unchanged cell engraftment. In conclusion, we could not reach an initial goal, however, some technical issues regarding improved cell engraftment such as adopting other growth factor were clarified. Therefore, we might continue the investigation for creating a new device, to improve the prognosis of the patients with congenital heart disease.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：組織工学 先天性心疾患 拍動性グラフト 再生医療 人工血管 脱細胞化 細胞生着

### 1. 研究開始当初の背景

組織工学を用いた臓器再生研究の分野では、脱細胞化した心臓に心筋細胞を移植し拍動が得られることが報告された。また、脱細胞化した腸管を組織工学の鋳型として利用可能であることも報告された。これまで、我々はラット心臓の脱細胞し、一定の細胞数を生着させることに成功している(図1)。さらに、我々は血管内皮増殖因子などの成長因子をコラーゲン膜にアンカーリングする技術を新たに開発し、骨再生で有効性を報告した(図2)。

### 2. 研究の目的

本研究では、腸間膜動静脈を含めて脱細胞化したラット小腸に血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor: VEGF)をアンカーリングし、ラット新生児の心筋細胞を移植することで、栄養血管を備えた拍動する心筋の筒を作製する。血管内皮増殖因子により毛細血管網の発達を促し、厚い心筋の構築を目指す。腸間膜動静脈を含めて構築した臓器を移植することで生体内でも安定した血流が維持され、長期の生着が見込まれる。小児単心室症に対するフォンタン手術の導管として使用することを最終的な目標とする。

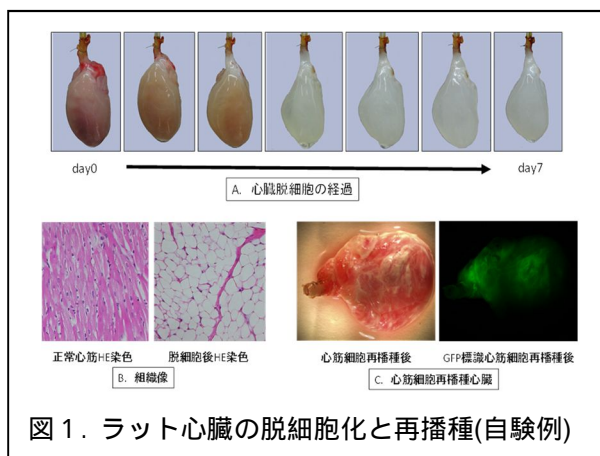


図1. ラット心臓の脱細胞化と再播種(自験例)

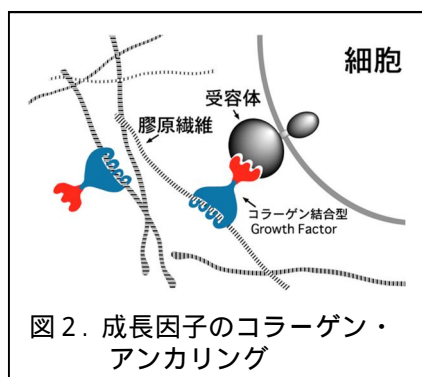


図2. 成長因子のコラーゲン・アンカーリング

### 3. 研究の方法

脱細胞化したラット腸管への心筋細胞の生着性の評価

血管の開存性を維持したまま腸管を脱細胞化し、ここにラット新生児の心筋細胞を播種し、還流培養する(図3)。1、3、5、7日後に細胞の細胞生着性を評価する。

血管内皮成長因子アンカーリングが毛細血管発達に及ぼす影響の検討

VEGFのアンカーリングの有無による毛細血管の発達の程度の差異を検討する。また、実際のVEGF活性を測定し、毛細血管の発達との相関を評価する。

心筋細胞移植後の層構造の評価

心筋細胞を再播種し、1週間後の導管断面の組織学的検討により、心筋の層構造と毛細血管の発達の程度を評価する。

生着した心筋の機能評価

心筋細胞が生着した臓器の拍動電位を測定する。また拍動する導管の内圧を測定し、心筋構造との相関を評価する。

## 心筋導管の生着性の評価

ラットの腹部大動脈、下大静脈に腸間膜動静脈を吻合し、心筋導管の生着性を評価する。移植後何日間拍動が持続するか、腹部超音波検査による *in vivo* での生着性を追跡する。



図3 .循環システム(自験例)

## 4 . 研究成果

本課題は、組織工学的手法を用いた拍動性人工血管開発であり、先天性心疾患領域における機能的単心室症への臨床応用を目指した。研究期間において、本人工血管の基材(骨格)となる動物由来組織(ラット腸管)の脱細胞化に成功した(図4)。しかし、肝となる基材の細胞化(図5)においては、心筋細胞の生着が十分ではなく、さらに collagen anchoring protein (我々のオリジナル recombinant タンパク)による生着率の向上も達成できなかった。実験条件の工夫や anchoring protein に付与する growth factor の変更等、いくつかの課題は明確になったものの十分な結果は得られなかった。



図4 . ラット腸管脱細胞化  
(自験例)

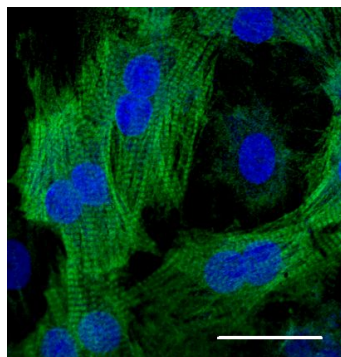


図5 . 細胞化に用いた新生児  
ラット心筋細胞の免疫染色

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	松下 治  (Matushita Osamu)  (00209537)	岡山大学・医歯薬学域・教授    (15301)	
研究分担者	王 英正  (Oh Hidemasa)  (50372579)	岡山大学・大学病院・教授    (15301)	
研究分担者	美間 健彦  (Mima Takehiko)  (80596437)	愛媛県立医療技術大学・保健科学部・教授    (26301)	

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