

平成 29 年 6 月 18 日現在

機関番号：84404

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15590

研究課題名(和文) 生体内組織形成術を基盤とする自己再生型透析シャント用代用血管の開発

研究課題名(英文) Development of Shunt for blood dialysis based on in-body tissue architecture technology

研究代表者

中山 泰秀 (Nakayama, Yasuhide)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号：50250262

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)：患者の体内において移植用組織体を作製できる再生医療技術「生体内組織形成術」を用いて、本研究シーズのバイオチューブを開発してきた。従来の細胞が必須の再生医療技術では常識であった培養操作や滅菌施設を一切必要とせず、単に鋳型を皮下に一時期入れておくだけで、ほぼ自動的に確実に自家移植体が簡単にできる。本研究では、ビーグル犬にてシャントモデルを作製し、バイオチューブの移植評価を行った。倫理委員会の承認を得て、ヒト体内でバイオチューブが作製できることを確かめ、狭窄シャント血管のバイパス術に応用した。

研究成果の概要(英文)：This study presents the first-in-human results after a minimum of 3 months of follow-up for the first two patients implanted with Biotube. Biotubes were prepared with wall thickness of ca. 1mm by embedding of molds into patients abdominal subcutaneous pouches for 2 months. Two female patients had end-stage renal disease and had been receiving hemodialysis with a high probability of failure. The biotubes after stored for 1 day in a 70% alcohol solution were bypassed by end-to side anastomoses over venous stenosis region of an AV shunt. Palpable thrill and typical turbulent flow pattern by pulsed-wave Doppler were observed. Monthly angiography showed little change in the implanted grafts with no signs of dilation or stenosis with time points up to 3 months. Repeated puncture could be performed without grafts damage. This first human study successfully supported the concept of creating dialysis access from autologous connective tissue Biotube grown in patients subcutaneous pouches.

研究分野：再生医療工学、医療機器開発

キーワード：人工血管 再生医療 透析 シャント バスキュラーアクセス

1. 研究開始当初の背景

現在の透析患者数は約 30 万人であるが、年々増加傾向にあり、年間その半数近くがシャントトラブルを経験している。透析自体に加えて、トラブルによって患者に与える精神的、肉体的、経済的負担は大きい。シャントトラブルの約 8 割が狭窄(血管が狭くなる)や閉塞(血管が詰まる)などの血管病変であり、自己血管、人工血管ともに起こり、血流が不足すると透析できなくなる。修復治療として一般によく行われているのが経皮的血管形成術(PTA)であるが、保険で治療できるのは 3 ヶ月に 1 度に制限されている。また、完全に血管閉塞すれば新たな内シャントを作る必要があるが、その数には限りがある。人工血管は感染に不利である。従って、少なくとも自己血管と同等な性能を有する代用血管の開発が臨床現場で強く望まれており、再生医療での解決に大きな期待が寄せられる。

近年、自分自身の細胞を使って、失われた臓器や組織を修復・再生する再生医療が新たな治療の可能性を広げるものとして注目されている。従来の再生医療によって移植用の組織体を作製するには、右図内上段の「従来型の再生医療」に示す通り、特別な大学病院など高度専門医療機関の特殊滅菌施設内において、膨大な手間と費用と期間をかけて行われている。それでも血管の再生の実用化は国内では未だなされていない。

申請者は、特別な施設でごく一部の患者だけでなく、誰もが平等に受けられる先端医療技術の実現をめざし、もう一つの再生医療への取り組みとして、生体が有する治療能力を最大限に引き出して利用しようとする、「生体内組織形成術」(前ページ図を参照)を世界に先駆けて提唱している。本研究は、第 2 回再生医療学会において優秀演題を受賞した、「生体内組織形成術を用いた自己組織人工血管の開発」を起源とする。

生体内組織形成術は、通常の再生医療のように細胞培養施設を用いるのではなく、患者自身の体内をバイオリアクターとして活用して、患者本人に移植するための臓器を作製するという点で、極めてユニークで斬新である。本技術に対して、2005 年に日本人工臓器学会からオリジナル賞が授与され、独創的研究であると学会からお墨付きを得ていることから明らかである。この方法が実現すれば、安全性の確保に厳密な基準をクリアしなければならぬ特殊施設を用いる必要がないため、国内はもとより、発展途上国を含めた全世界的な幅広い治療施設で可能となる。

「生体内組織形成術」とは、患者の体内に単に鋳型を埋入して、約 1 ヶ月後に取り出すだけで移植用の組織体が勝手にできあがるという魔法のような画期的な組織作製方法である。その原理は、ペースメーカーなどを埋め込んだ時にも起こるごく当たり前の生

体反応であるカプセル化現象に基づいている。人間の体には本来様々な治療能力が備わっており、皮下に毒性のない人工物が埋め込まれると、その周囲にコラーゲンが覆うカプセル化が起こる。皮膚を切開した時にコラーゲンが産生されて傷を埋めるのとほぼ同じ原理である。生体内組織形成術を用いると鋳型の形によって、様々な形の組織体を作れる。

2. 研究の目的

患者の体内において移植用組織体を作製できる「生体内組織形成術」による新発想の再生医療技術を用いて、本研究のシーズとなるバイオチューブを開発してきた。従来の細胞が必須の再生医療技術では常識であった培養操作や滅菌施設を一切必要とせず、単に鋳型を皮下に一時期入れておくだけで、ほぼ自動的に確実に、自分の体に元々あった成分のみからなる正に究極の移植体が簡単にできる。ある種魔法の様な医療が実現可能な段階に進んでいる。本研究では、人工透析用シャント血管の実用化を最終目標とする。動物モデルでの検証実験と臨床評価での顕在化を行い、シャントトラブルの解消をめざす。研究期間内に、シャント狭窄動物実験モデルを作製し、バイオチューブの移植評価にて確証を得た上で、ヒト体内でのバイオチューブの作製能の評価と実臨床評価を実施する。実現によって世界に類を見ない人工血管が開発され、我が国の再生医療のレベルの高さを誇示し、世界的に影響力を与える社会的価値の創出に寄与する。さらに、日本発の技術として海外へ発信できる。

得られた管状組織体をバイオチューブと名付けて、ラットから犬までの移植を進め、3 ヶ月で自己血管が再生することを示し、長期安全性試験に成功して、本研究の準備を整えてきた。現在の透析医療の問題点を克服するためのブレイクスルーとなることが期待できる。

患者自身にとって最も安全な自己の組織が作製できるため、安心して移植を受けることができる。「鋳型」されれば移植が可能となることから経済的に非常に優れ、誰もがどこでも平等に治療を受けられる新しい医療の形として世界に普及させることができ、社会的価値、経済的価値を創出できる。当該医療は国産初の日本独自の技術であるため、我が国が主導権を取る立場にあり国際標準化につながり、国際的な競争力の向上に貢献すると期待される。シャント血管への応用を本技術の普及の突破口と位置づける。現在透析用の人工血管は、数十億円の市場規模であるが、感染などで使用できないケースも多い、自己組織血管ができれば適用が増え、既存に加えて市場の拡大が期待できる。透析用の人工血管も他の医療機器と同様にほぼ 100%が海外製品である。医療機器分野は過度の輸入偏重状態にあり、単なる既存製品の類似化では市場の置き換わりは容易ではない、本技術

の様にこれまで想定されなかった全く新しい治療技術のみがその可能性を有していると言って過言ではない。

3. 研究の方法

1) シャント血管モデルの作製とバイパス機能評価

動静脈シャントにおける静脈側での狭窄症例の動物モデルをビーグル犬の頸部血管で再現し、バイオチューブでバイパスを行い、移植機能を評価した。

- ・ ビーグル犬外頸静脈の直上皮下に直径5mm長さ5cmのシリコン製円柱を埋入した。
- ・ 1ヵ月後にビーグル犬の総頸動脈の末梢側を離断し、外頸静脈と端側吻合することで動静脈内シャントを作製した。
- ・ 続けて、外頸静脈と併行して埋入したシリコン基材の両端部のみを剥離し、両片側面を露出させた。
- ・ 露出面と静脈を2ヶ所側々吻合し、内部のシリコン棒を抜くことで、バイオチューブトンネルとして、静脈をバイパスさせた。
- ・ バイパス間の静脈を結紮、バイオチューブ両端も結紮することで、シャント血管バイパスモデルを作製した。
- ・ バイパス内の血流は超音波エコーで非侵襲的に経過観察を行い、2週後にバイオチューブ部に穿刺、採血後の止血時間を計測し、バイオチューブ血管が透析血管として利用可能かを評価した。3ヵ月を最大観察期間として、血管造影によって血管形状の異常の有無を確認後、摘出を行い、物性評価ならびに組織学的評価によって生着性を調べた。

2) バイオチューブの臨床評価研究1

ヒトの体内でバイオチューブが形成できるかを調べた。

- ・ 倫理委員会で承認を得て提供を受けた腹膜透析患者からのシリコンチューブ周囲に形成された皮下結合組織をヒトバイオチューブのサンプルとした。
- ・ 引っぱり試験によって弾性率、破断強度を測定した。
- ・ インフレーターによる水圧負荷によって耐圧性を測定した。
- ・ バイオチューブの壁厚は組織切片から計測した。
- ・ 透析チューブの埋入期間、患者の年齢、持病とバイオチューブの物性、膜厚との関係を調べた。

併行して、ビーグル犬から生体血管組織を採取し、バイオチューブとの比較を行った。

3) ヒトバイオチューブの異種移植生体内機能評価

ヒトのバイオチューブが移植に耐えうるか動物移植実験で調べる。

- ・ 2)と併行して倫理委員会で承認を得て提供を受けた腹膜透析患者からのシリコンチューブ周囲に形成された皮下結合組

織をヒトバイオチューブのサンプルとした。

- ・ 提供時は冷凍保存され、使用時に室温の生理食塩水に浸漬させて解凍した。
 - ・ ビーグル犬総頸動脈を剥離し、2cmを離断し、提供されたヒトバイオチューブを端々縫合によって吻合した。異種移植であるため免疫拒絶反応に配慮して、移植期間は1週間に制限した。
 - ・ 1日約20万回の生体内での大動脈拍動負荷に耐えうるか、血流を超音波エコーで観察し、血管形状の異常の有無を血管造影によって調べた。1週間後に摘出し、物性ならびに組織学的評価を行った。
- #### 4) 「鑄型」基材の設計と安全性評価
- 動物モデル実験ならびに臨床評価で使用されるバイオチューブ作製用の鑄型の設計と安全性を調べた。
- ・ 鑄型は医療用材料の使用と大前提とし、必要に応じて複数種の組み合わせ、独自の形状設計を行った。
 - ・ 細胞毒性など最低限の生物学的安全性試験を実施した。

5) バイオチューブの臨床評価研究2

ヒト体内でバイオチューブを作製し、透析シャントの狭窄血管のバイパス血管としての応用可能性を調べた。

- ・ 倫理委員会で承認を得て、シャント狭窄を頻回に繰り返す患者に対し経皮的血管形成術を行い、その際にバイオチューブ代用血管による治療の長短所を十分に説明した。
- ・ 同意の得られた患者には後日、シャント狭窄血管に沿って局所麻酔下に基材を埋め込んだ。基材は医療用シリコンを用いた。
- ・ 本来繰り返しの経皮的血管形成術を行うべき時期(1~2ヵ月後)に、皮下に埋め込んだ基材を抜き取り、基材周囲に形成されるトンネルバイオチューブの両端と狭窄部位の中樞および末梢のシャント血管を吻合し側副路を形成した。
- ・ 以後定期的に血管造影あるいは超音波検査を行い、開存の有無を確認した。

4. 研究成果

動静脈シャントにおける静脈側での狭窄症例の動物モデルをビーグル犬の頸部血管で再現することに成功した。ビーグル犬の皮下に円柱状の鑄型を埋入し、2ヵ月後に取り出すと自己組織のみからなる管状の自己組織体(バイオチューブ)を得ることができた。これを先に作製した動静脈シャントモデルの静脈側にバイパスすることができた。移植後の生体内機能を血管造影検査によって確かめることができた。

バイオチューブが代替血管として生体内で機能するかどうかを検証するために、バイオチューブを用いて狭窄を有する透析内シャント血管のバイパス術を行った。本臨床研究は天理よろづ相談所病院ならびに国立循

環器病研究センターの倫理委員会の承認を得た上で実施した。透析内シャント狭窄治療のために頻りに経皮的血管形成術を実施している患者の中で、文章で同意を得た2名を対象にした。腹部皮下に内径5mmまたは6mm、長さ7cmの鋳型を留置し、2ヶ月後にバイオチューブを摘出した。70%エタノール中で保存し、翌日にシャント狭窄部位をまたぐようにバイオチューブを移植し、バイパス術を行った。術後1週間以内に造影検査を行った後、1ヶ月毎に造影検査を行い狭窄の有無を評価した。バイオチューブは既存の人工血管より柔らかく、縫合が容易であった。縫合孔からの出血をほとんど認めなかった。術後一定期間が経過時点で透析時にバイオチューブそのものを穿刺したが止血は容易であった。バイオチューブ移植後3ヶ月経過時点においてバイオチューブ形状にほとんど変化なく、開存していた。ヒトバイオチューブが代替血管として透析用内シャントの修復に有効であることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

- 1) Ishii D, Enmi JI, Moriwaki T, Ishibashi-Ueda H, Kobayashi M, Iwana S, Iida H, Satow T, Takahashi JC, Kurisu K, Nakayama Y.
Development of in vivo tissue-engineered microvascular grafts with an ultra small diameter of 0.6 mm (MicroBiotubes): acute phase evaluation by optical coherence tomography and magnetic resonance angiography. 査読有
J Artif Organs 2016;19(3):262-9.
doi:10.1007/s10047-016-0894-9.
 - 2) Furukoshi M, Moriwaki T, Nakayama Y.
Development of an in vivo tissue-engineered vascular graft with designed wall thickness (biotube type C) based on a novel caged mold. 査読有
J Artif Organs. 2016;19(1):54-61.
doi:10.1007/s10047-015-0859-4.
 - 3) Nakayama Y, Kaneko Y, Takewa Y, Okumura N. Mechanical properties of human autologous tubular connective tissues (human biotubes) obtained from patients undergoing peritoneal dialysis.
J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2016;104(7):1431-7.
doi:10.1002/jbm.b.33495.
 - 4) Takiyama N, Mizuno T, Iwai R, Uechi M, Nakayama Y.
In-body tissue-engineered collagenous connective tissue membranes (BIOSHEETS) for potential corneal stromal substitution. 査読有
J Tissue Eng Regen Med. 2016;10(10):E518-E526.
doi:10.1002/term.1859.
- 5) Yazawa M, Mori T, Nakayama Y, Kishi K.
Basic study of soft tissue augmentation by adipose-inductive biomaterial. 査読有
J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2015;103(1):92-6.
doi:10.1002/jbm.b.33180.
 - 6) Satake R, Komura M, Komura H, Kodaka T, Terawaki K, Ikebukuro K, Komuro H, Yonekawa H, Hoshi K, Takato T, Nakayama Y.
Patch tracheoplasty in body tissue engineering using collagenous connective tissue membranes (biosheets). 査読有
J Pediatr Surg. 2016;51(2):244-8.
doi:10.1016/j.jpedsurg.2015.10.068.

〔学会発表〕(計7件)

- 1) Furukoshi M, Iwai R, Moriwaki T, Nakayama Y.
Animal experimental evaluation of growth adaptation in in vivo tissue-engineered biotube vascular grafts.
European Society of Cardiology, London, 2015.8.29-9.2.
- 2) Furukoshi M, Iwai R, Moriwaki T, Nakayama Y.
Key Factor for High Patency in in vivo tissue-engineered biotube vascular grafts.
European Society for Artificial Organs. Leuven, 2015.9.2-5.
- 3) Nakayama Y.
In body tissue engineering approach for autologous 3D tissue fabrication and their clinical application.
Biofabrication 2016, Winston-Salem, 2016.10.29-31.
- 4) Nakayama Y, Kaneko Y, Okumura N,
First-in-human study of an autologous in-body tissue-engineered vascular graft (biotube type C) for hemodialysis access.
American Heart Association Scientific Session 2016, New Orleans, 2016.11.12-16.
- 5) Nakayama Y, Furukoshi M.
Successful implantation of an allogenic in-body tissue-engineered vascular graft (biotube) for hemodialysis access in a beagle model.
American Heart Association Scientific Session 2016, New Orleans, 2016.11.12-16.
- 6) 金子嘉志、奥村紀子、堤箸隆一郎、中山泰秀.

バイオチューブの世界初臨床応用と透析
医療での生体内組織工学の可能性。
第 54 回日本人工臓器学会大会, 米子,
2016.11.23-25.

- 7) 金子嘉志、奥村紀子、中山泰秀。
「バイオチューブ」の臨床応用：透析内
シャント移植術。
第 16 回日本再生医療学会総会, 仙台
2107.3.7-9.

〔産業財産権〕

取得状況 (計 1 件)

名称：組織体形成装置
発明者：中山泰秀、森脇健司、大家智憲
権利者：国立循環器病研究センター
種類：特許
番号：6 0 3 3 9 7 9
取得年月日：2016 年 11 月 4 日
国内外の別：国内

〔その他〕

[http://www.ncvc.go.jp/about/excellence/
07.html](http://www.ncvc.go.jp/about/excellence/07.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中山泰秀 (YASUhide NAKAYAMA)

国立研究開発法人国立循環器病研究センタ
ー・研究所・室長

研究者番号：5 0 2 5 0 2 6 2