

平成22年 5月21日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17076015

研究課題名（和文） 個人情報に基づく極細径3次元人工血管の創製

研究課題名（英文） Fabrication of 3D Artificial Fine Blood Vessel Model
Based on Personal Data

研究代表者

根来 眞 (NEGORO MAKOTO)

藤田保健衛生大学・医学部・客員教授

研究者番号：90115618

研究成果の概要（和文）：

CT (Computed Tomography)やMRI (Magnetic Resonance Imaging)等の医用断層撮影法により得られる個人情報に基づいて、(1) 患者の個人情報に基づいた3次元形状の血管構築用 scaffold を設計、製作し、(2) 同3次元 scaffold 上に血管内皮細胞を形成することおよび(3) 人工血管を、低侵襲にて埋設するための人工血管デリバリ手法に関する研究を実施し、革新的な医療技術の基盤を築いた。

研究成果の概要（英文）：

Based on the personal data obtained by the medical tomography, such as CT (Computed Tomography) and MRI (Magnetic Resonance Imaging) etc., basis of the innovative medical technologies are researched as follows. (1) Design and fabrication of 3 dimensional blood vessel scaffold based on the personal data of patient. (2) Formation of vascular endothelial cells on the scaffold. (3) Minimally invasive surgical procedure to deriver artificial vessel.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	18,300,000	0	18,300,000
2006年度	24,800,000	0	24,800,000
2007年度	26,600,000	0	26,600,000
2008年度	21,500,000	0	21,500,000
2009年度	11,300,000	0	11,300,000
総計	102,500,000	0	102,500,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・知能機械学・機械システム

キーワード：微細加工，人工血管，3次元造形，生分解性材料，再生医学，脳神経外科，ソルトリーチング，個人情報

1. 研究開始当初の背景

近年、scaffold への細胞培養により臓器ならびに血管の再生を実現する研究が世界的

に活発に行われており、国内では、上田実(名古屋大)、岡野光夫(東京女子医大)、清水慶彦(京大)らによる研究例が報告されているが、

患者の個人情報に基づいて（或いは、患者の疾患形態に応じて）、scaffoldの形状、すなわち人工血管の形状を自由に設計し、生成した研究例は報告されていなかった。

一方、我々は、CTやMRI等により得られる断層撮影画像に基づいて、患者個人の脳血管内腔形状をその物理特性（弾性特性、粘弾性特性、表面摩擦特性）まで含めて正確に薄膜状構造の立体モデルとして再現する造形技術を世界に先駆けて確立していた。

2. 研究の目的

脳血管疾患や冠状動脈疾患等の血管疾患を対象とし、CT (Computed Tomography)やMRI (Magnetic Resonance Imaging)等の医用断層撮影法により得られる個人情報に基づいて、(1) 患者個々人の疾患状態に応じて適切な3次元形状の血管構築用scaffoldを設計、製作し、(2) 同3次元scaffold上に血管内皮細胞を形成することによって極細径人工血管を実現するとともに、(3) 同極細径人工血管を、経血管的アプローチにより低侵襲にて対象疾患領域に埋設するための人工血管デリバリデバイスを実現し、現在の治療法に代わる革新的な医療技術を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

以下の3つの項目にわけて研究を行った。

(1) 患者個々情報に基づく3次元形状の血管モデルの構築

(2) 3次元血管モデル上への血管内皮細胞の形成

(3) 経血管的人工血管デリバリ手法の検討

4. 研究成果

(1) 患者個々情報に基づく3次元形状の血管モデルの構築

① 電界紡糸によるTailor-made 3次元血管scaffoldの製作

ポーラス構造と伸縮性を有する高分子材料からなる3次元scaffoldを電界紡糸によって製作した。まず、インクジェット式3次元積層造形装置を利用してワックスモデルを製作し、このワックスモデルに電界紡糸する際の成膜特性を調査した。また、PVAを犠牲層として利用することでワックスを除去する加工方法を新たに提案し、3次元scaffoldを作製した。膜厚の均一化や造形精度の向上は今後の課題となったが、CTやMRIにより得られ個人情報に基づいて任意の3次元形状を実現できた。

② ソルトリーチング法による血管足場の構築

電界紡糸法の問題点（造形性、造形精度、強度等）を解決するべく、ソルトリーチング法による足場構築について検討を行った。積

層造形により作成した血管形状の鋳型の周囲に順次構造材料を積層コートし、溶解特性の相違を利用して内層から順に除去することで、所望材料により血管足場を構築する新規手法（犠牲層ディップコーティング法）を考案し、ソルトリーチング法の適用を行った。これにより、生分解性材料

Poly(L-lactide-co-ε-caprolactone, PLCL)により、多孔質の血管足場を構築する基礎技術を確立した。そして、患者個人のCT情報に基づいて内頸動脈分岐部分のスキヤホールドを構築し、有効性を確認した。

③ 血管足場の形状/物理特性の評価

ソルトリーチング手法により構築される血管足場の特性（形状/物理特性）評価を実施し、人動脈壁の縦弾性係数と血管壁厚を再現できることを確認した。造形時の加工速度や物性値を変更することで、これらの値を連続的に調整できることを確認した（縦弾性係数を2MPaに設定可能）。また、ソルトリーチングに適用するNaClの粒径を調整することで、任意の多孔度を実現できる知見を得た。

④ Tailor-made 3次元人工血管scaffoldの改良と血管足場の形状/物理特性の評価

人工血管の分岐部などの複雑な形状に対応できるように、生分解性ポリマーを粉砕して微粒子状に加工し、これを犠牲層となる足場にコートし、熱融解によって成形する方法を提案した。この結果、加工精度を向上し、有機溶剤を減らすことに成功した。

製作した人工血管足場の特性（形状/物理特性）を評価し、人動脈壁の縦弾性係数と血管壁厚を再現できることを確認した。また、Jカーブに相当する力学的な特性を評価した。

(2) 3次元血管モデル上への血管内皮細胞の形成

⑤ In vitro 培養による生体適合性評価

作成した血管足場の生体適合性を評価するべく、ポリウレタンもしくはカプロラクトンにより製作したScaffold上で、in vitroでのHUVEC(血管内皮細胞)の培養実験を行った。足場の多孔度を調整するとともに、足場表面に0.4% Type I 中性コラーゲンをコートすることで、HUVECの接着と生存を確認した。また、複雑形状を有する3次元形状の血管足場上に細胞を培養するためには、3次元培養環境を整備する必要があることを確認し、血流下で培養を促進するための培養システムの検討を実施した。

⑥ 血管内皮細胞の行動形態調査のための毛細血管・細動脈モデルの構築

一般に、臨床応用できる6mm以下の人工血管は見当たらず、作製が難しいため毛細血管や細動脈内での細胞行動形態の知見に乏しい。そこで、任意の2次元パターンに限定し、実際の血管のように円形断面を有する毛

細血管・細動脈モデルを作製し、モデル内で血管内皮細胞の行動形態観察を行うこととした。この準備として、フォトマスクとサンプルを soft-contact 状態でオーバー露光する方法と親水化処理を併用した 2 段露光を併用する加工方法を新たに考案し、世界初の 2 次元パターンで円形断面を有する毛細血管・細動脈モデルを作製した。

⑦ 血管内皮細胞の行動形態調査

円形断面を有する毛細血管・細動脈モデルを構築し、生分解性材料により微小な流路を作成した。また、この流路内において、血管内皮細胞がどのような行動形態をとるか、表面状態、空間形状や流速条件を調整して、長時間培養しながら観察・評価するシステムを構築した。構築した流路内にて、培養過程をモニタリングし、ガスの透過性が重要である知見を得た。さらに、生分解性材料を用いた血管モデルを用いて、血管内皮細胞がどのような行動形態をとるか、流速条件などを調整して、長時間培養しながら観察・評価するシステムを構築して評価した。

⑧ 生分解性 3 次元血管 scaffold に対する血管内皮細胞および細胞シートの付着力計測

人工血管としての機能を評価するため、その表面に培養した血管内皮細胞の付着力を計測するためのシステムを構築した。ゲルへの接着の原理を利用し、1 細胞単位で付着力を計測できる見通しがたった。また、血管内皮細胞を 3 次元シート状に培養した後に、所望の細胞シートを取り出す方法を検討した。

(3) 経血管的人工血管デリバリ手法の検討

⑨ 経血管的人工血管デリバリ手法の検討

人工血管シミュレータを利用して、極細径人工血管を、対象疾患領域に留置するための人工血管デリバリデバイスならびに手術法について検討を行った。この目的において評価用の手術環境を整備した。極細径の人工血管を、カテーテルを使用した血管内アプローチにより、対象疾患領域（脳血管疾患領域および冠状動脈疾患領域）に留置するため、PTA バルーン（狭窄血管領域を拡張）、或いはステント（狭窄血管領域に留置し、拡張形状を維持）を用いて、疾患部まで血管内を通じて到達させた後に、疾患部に留置する治療を行うためのデバイスの形態、機構、手技について検討した。

以上の成果により、本研究成果によって得られた技術によれば、血管の薄膜状構造を任意の 3 次元形状、任意の材料により自由に設計し、生成することが可能であり、これによって血管を含む多様な臓器・器官類の scaffold を多様な高分子材料や生分解性材料により自由に設計、生成することが可能であると考えられる。3 次元 scaffold により、世

界に先駆けて実現される患者個別対応型人工血管は、複雑に走行し患者毎に形態の異なる脳血管領域、あるいは冠状動脈領域の諸疾患に対して、将来、革新的な治療手段と提供するとともに、治療の安全性を向上させることができると考えている。今後は、安全性の評価や生体性の適合性を考慮した検討が必要である。

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 33 件）

[1] 中野琢磨, 吉田圭佑, 池田誠一, 大浦裕就, 福田敏男, 松田武久, 根来真, 新井史人, 日本ロボット学会誌, 査読有, Vol.27, No.7, 725-731(2009).

[2] T. Uchida, S. Ikeda, H. Oura, M. Tada, T. Nakano, T. Fukuda, T. Matsuda, M. Negoro, F. Arai, “Development of biodegradable scaffolds based on patient-specific arterial configuration”, Journal of Biotechnology, 査読有, 133, 213-218 (2008).

[3] T. Nakano, K. Yoshida, S. Ikeda, H. Oura, T. Fukuda, T. Matsuda, M. Negoro, F. Arai, “Fabrication of Transparent Arteriole Membrane Models”, Proc. 2008 Int. Symp. Micro-NanoMechatronics and Human Science, 査読有, 457-462 (2008)

[4] T. Itoyama, T. Nakano, H. Maruyama, S. Ikeda, H. Oura, T. Fukuda, T. Matsuda, M. Negoro, F. Arai, “Construction of Biodegradable Polymer Scaffold by Photolithography”, Proc. 2008 Int. Symp. Micro-NanoMechatronics and Human Science, 査読有, 361-366 (2008)

[5] F. Arai, T. Nakano, M. Tada, Yu-Ching Lin, S. Ikeda, T. Uchida, H. Oura, T. Fukuda, T. Matsuda, M. Negoro, “Fabrication of Cell-Adhesion Surface and Arteriole Model by Photolithography”, Journal of Robotics and Mechatronics, 査読有, Vol.19, No.5, 535-543 (2007).

[6] S. Ikeda, F. Arai, T. Fukuda, H. Oura, M. Negoro, “Patient-Specific Blood Vessel Scaffold for Regenerative Medicine”, 2007 IEEE International Conference on Robotics and Automation, 査読有, 1912-1917 (2007).

〔学会発表〕（計 0 件）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.biorobotics.mech.nagoya-u.ac.jp/research/research.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

根来 眞 (NEGORO MAKOTO)

藤田保健衛生大学・医学部・客員教授

研究者番号：90115618

(2) 研究分担者

新井 史人 (ARAI FUMIHITO)

東北大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：90221051

(3) 連携研究者

なし