

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K08736

研究課題名(和文)先天性心臓手術における生体親和性ナノ複合代用心膜による心膜再生素材と治療法の開発

研究課題名(英文) Development of pericardial regeneration materials and treatment using biocompatible nanocomposite pericardial substitutes in congenital heart surgery

研究代表者

打田 俊司(Uchita, Shunji)

愛媛大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：10246556

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：新たな癒着防止材料開発および臨床応用へ向け、代用心膜シート移植で代用心膜と自己心膜の新生や組織増殖などを病理組織学的に評価。

・生体親和性ナノ複合加工PTFEシート 胸骨とシートの癒着は比較的抑制され、容易に剥離可能。移植心膜に心膜組織の増生認めさらに病理組織学的評価中。・MPCコーティングPTFE 補填心膜心臓面に自己心膜組織増生を認め、代用心膜の足場作用が示唆された。心臓面癒着は粗かつ柔らかで剥離も容易。胸骨面剥離も容易で、胸骨切開時心臓損傷も十分回避できた。・iBTA組織 補填心膜では自己心膜組織の遊走を広範囲に認め、優れた代用心膜・自己心膜再生の足場機能が考えられ、さらに詳細な解析中。

研究成果の学術的意義や社会的意義

代用心膜と自己組織再生の融合した機能を持ったbiocompatibleな生体吸収性・生体不活性新規複合シートの開発研究は実臨床で用いられている代用心膜にはない生理学的特性を求めた。本研究では自己心膜組織の再生という最も理想的な機能も含め生体親和性ナノ複合加工処理PTFEシート、MACコーティングPTFEシート、iBTA組織(生体内作成バイオシート)それぞれに予測を上回る良好な結果が示唆された。さらなる詳細解析が現在進行中である。これらの実臨床への還元は複数回胸骨正中切開を必要とする先天性心疾患外科治療において生命リスクの軽減と癒着回避に伴う新機能への影響を軽減できる。

研究成果の概要(英文)：For the development of new anti-adhesion materials and their clinical application, we evaluated the neoformation and tissue proliferation of transplanted substitute pericardial sheets(SPS). Here are the findings based on histopathological evaluation:Biocompatible Nano-Composite Processed PTFE Sheet: Adhesion between the sternum and the sheet was relatively suppressed and easy detachment. We observed increased growth of pericardial tissue in SPS, and further pathological evaluations are underway.MPC-Coated PTFE: On the cardiac surface where the self-pericardial tissue was supplemented, the scaffold function of SPS was suggested. Adhesion to the cardiac surface was coarse yet pliable, facilitating easy detachment. During sternotomy, cardiac injury was effectively avoided.iBTA Tissue: We observed extensive migration of self-pericardial tissue into the iBTA sheets. This suggests excellent scaffold functionality for both SPS and self-pericardial regeneration. Detailed analyses are ongoing.

研究分野：心臓血管外科(先天性心疾患、心不全)

キーワード：自己心膜 ナノ複合 ポリ乳酸 バイオシート PTFE 焼成PTFE iBTA MPCコーティング

### 1. 研究開始当初の背景

小児心臓手術では複数回胸骨正中切開に伴う胸骨と心臓の癒着・心嚢内での心臓癒着が生じ、心臓損傷によるリスクを上げる。また、自己心膜は手術時の有用な補填材料となるが採取後は再生せず、また、採取することで更に強固な癒着原因となる。先天性心疾患外科領域での手術治療と再生療法の融合を行うことで、良好な心機能維持をも考慮した新技術を創出する。最終的には、小児心臓再手術時術部癒着リスク軽減と組織再生誘導を伴う Biocompatible な生体吸収性・生体不活性新規複合シートの開発・発展を目指す。

### 2. 研究の目的

生体親和性素材を導入し癒着防止のみならず漿膜再生を同時に誘導することで医学と材料工学両方の観点から心膜細胞再生環境を整え、新たな複合シートを開発することでこれまでにない革新的な組織再生シートの開発を目指す。その臨床応用への観点から心臓側は自己心膜再生・胸骨側は自己心膜組織類縁もしくは加工 PTFE をベースとした生体適合性複合組織再生シートを作成。医学と材料工学両方の観点から癒着と組織再生を検証し、臨床応用への有効性を立証する。

### 3. 研究の方法

New Zealand white rabbit を用い、全身麻酔下に胸骨正中切開にて手術野を得る。心膜切除後、擦過による手術環境再現を行い、代用心膜を胸骨閉鎖、創閉鎖をおこなう。術後は約3か月以上にわたり通常飼育後胸骨再正中切開を行い、癒着と程度を臨床的に評価、再生心膜の状態を肉眼的に観察評価、心膜補填素材周囲の心膜と心外膜とともに採取し組織学的に評価を行った。

先行してジュライの ePTFE ではなく、焼成加工を施した PTFE woven mesh を用い、有孔性シートでの変化を確認し、実験群のシートを確定した。

Rabbit 25 羽を以下の5群 コントロール群: 5羽、 ePTFE 群: 5羽、 ハイドロキシアパタイト(HAp)ナノ粒子コーティングポリ乳酸+PTFE 複合シート(HApNC)群: 5羽、 MPC 加工 PTFE シート群: 5羽、 in body tissue architecture (iBTA) シート群: 5羽に分け比較検討。

術後約3か月の経過をおいて上記と同様の手法で再胸骨切開。心膜と心臓の癒着をスケール評価し、移植心膜片を周囲自己心膜、心臓とともに摘出しホルマリン固定と凍結保存。

これを HE 染色、Masson trichrome 染色にて心膜細胞の再生、炎症性細胞の浸潤、線維化の状態を評価。

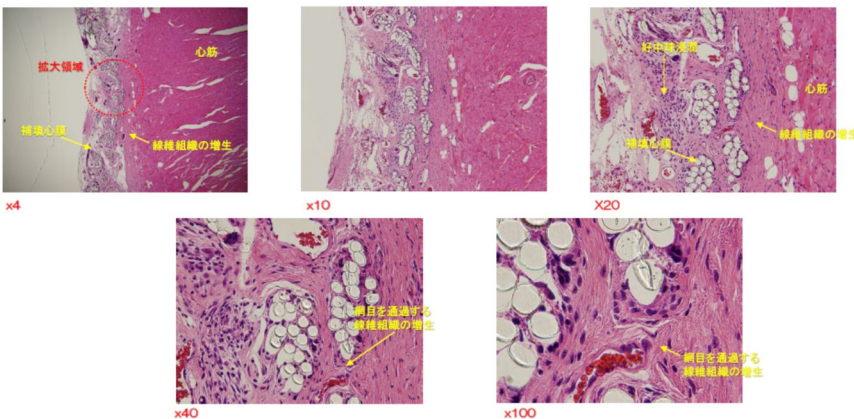
### 4. 研究成果

#### (1) 先行焼成加工 PTFE woven mesh 有孔性シートの特性

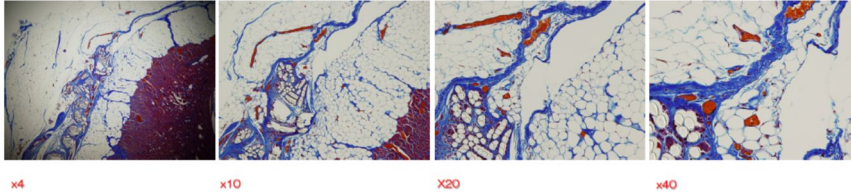
このパッチは心外膜とパッチの間がしっかり癒着。特徴としてはパッチの網目を通して fibrous tissue が心外膜面からパッチ表面に連続し、好中球の浸潤と血管形成も認める。また、心外膜とパッチの間に炎症に伴う脂肪組織の浸潤が生じている。パッチとしては炎症反応が強めには出ているが、網目を通して fibrous tissue が心外膜面からパッチ表面に連続していることから焼成加工により fibrous tissue を誘導し、有孔性にするすることで連続性を持った線維膜を形成できる可能性を見出した。

#### HE 染色

補填心膜中央部の所見



#### Masson trichrome 染色



## (2) 代用心膜と胸骨との癒着

癒着の程度は肉眼的に、また、剥離の程度を合わせて所見をスコア化し評価(0:なし、1:軽度、2:中等度、3:高度、4:剥離困難)した。

コントロール群 (mean ± SD): 1.3 ± 0.5

ePTFE 群: 1.8 ± 0.3

HApNC 群: 1.3 ± 0.3

MPC 加工 PTFE シート群: 1.6 ± 0.8

in body tissue architecture(iBTA) シート群: 1.0 ± 0.0

コントロール群に対する各群の癒着程度の比較では統計学的優位さはないが iBTA シート群のみ癒着程度が低い傾向を示した。

## (3) 代用心膜の病理組織学的結果

作製標本を用いて病理組織学的検査評価を行なった。各群共通の反応として好酸球及びリンパ球の浸潤、マクロファージの増加、異物巨細胞、線維化及び脂肪細胞浸潤が軽微から中程度に認められた。

好中球及び好酸球の浸潤、マクロファージの増加の炎症性変化の程度は ePTFE 群で強く、HApNC 群、MPC 加工 PTFE シート群、in body tissue architecture(iBTA) シート群では軽微から中等度であった。

代用心膜周囲及びシート下(シートと心臓間)では、炎症性反応(好中球、好酸球、リンパ球、マクロファージ、異物巨細胞)及び線維化の所見を認める。特に心膜組織の進展が MPC 加工 PTFE シート群、in body tissue architecture(iBTA) シート群に認められ、足場構造、特に生体足場が存在することでより良好な自己心膜再生が行われることが新たに見出すことができた。

先行するメッシュシートからもわかるように、適切な大きさの有孔性代用心膜であれば代用心膜に連続する fibrous tissue を足場に自己心膜組織が進展し、同種組織代用心膜であるほど効率的な再生が行われることが見いだせた。

## (4) 結果に基づいた今後の研究展開

今回の研究で様々な代用心膜を応用し、病理組織学的結果を確認したところ材質特性が想定しているより多岐にわたり心臓周囲組織に影響を与えていた。

既存の代用心膜は、完全に疎水性の性質が重視され、はがれやすく再手術に際して臓器損傷を生じないことが主体となっていたが代償として心嚢内炎症反応に伴う心臓周囲組織の肥厚が生じその影響で心臓拡張への影響も懸念されている。

今回の研究では単なる代用心膜ではなく、複数回心臓手術を必要とする先天性心疾患に対する外科治療において求められる“心保護としての代用心膜”、“従来の心機能に近い状態を維持する心嚢膜の生理的機能の再現を目指した自己心嚢膜再生の基質”、“再生自己心膜を手術補填材料に再応用しさらに補填することで再生を促すことのできる代用素材”としての特性策定を目的としたが、先行実験結果をもとに当初予定していた素材に加えさらなる新規素材を取り入れて研究し予期していなかった自己心膜再生の可能性や炎症性細胞の浸潤抑制効果などの結果を見出せた。また、臨床応用するには不十分な結果ではあるがこの研究結果をもとにさらに代用心膜の材質や構造特性を変化させることで複数回の手術にも対応できる自己心膜再生と再手術時の切開や剥離時に発生しうる臓器障害回避の機能を持ち得る素材開発への発展が期待できる。

これらの結果は国内外でも報告はなく、本研究の最終的な結果をもとに発表を行いさらなる研究を行い実臨床への応用を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 打田俊司
2. 発表標題 先天性心疾患心臓再手術時のGore-Tex心膜補填シート補填症例における癒着組織の病理組織学的検討
3. 学会等名 日本心臓血管外科学会総会
4. 発表年 2021年

〔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	浪口 謙治  (Namiguchi Kenji)  (10815343)	愛媛大学・医学部附属病院・医員   (16301)	
研究分担者	坂上 倫久  (Sakaue Tomohisa)  (20709266)	愛媛大学・医学系研究科・講師(特定教員)   (16301)	
研究分担者	中岡 裕智  (Nakaoka Hiroto)  (30795464)	愛媛大学・医学部・技術員   (16301)	
研究分担者	檜垣 高史  (Higaki Takashi)  (60253308)	愛媛大学・医学系研究科・寄附講座教授   (16301)	

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
---------	---------