

令和 4 年 5 月 18 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05609

研究課題名（和文）自己再生型の高強度動脈用および高弾性静脈用小口径絹人工血管の開発

研究課題名（英文）Development of Self-regenerating type Silk Vascular Graft for Artery and Vein

研究代表者

朝倉 哲郎（Asakura, Tetsuo）

東京農工大学・工学（系）研究科（研究院）・名誉教授

研究者番号：30139208

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：新たな小口径絹人工血管をダブルラッセル編みと絹をベースに各種コーティングを組み合わせて作製し、ラットの動脈および静脈へ移植、その性能を評価した。特に、各種コーティングの作製は、固体NMRの手法を十分に生かして、最適化を行った。そのようにして得られた絹人工血管を移植後、一定期間を経て自己の血管の一部が再生されることを確認、自己再生型の動脈および静脈用の小口径絹人工血管の開発が進んだ。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会や社会習慣病の増加を受け、需要が高まっているが未だ市販品のない小口径動脈用人工血管や市販品では閉塞しやすい静脈用人工血管について、問題点を克服した絹人工血管を開発した社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：By combination of double-raschel knitting and several sponge coating, silk artificial vascular grafts with small diameter were prepared and implanted the grafts into artery and vein of rat. Especially, preparation of several coating was optimized by monitoring with solid-state NMR methods. After implantation of the silk artificial vascular grafts into artery and vein of rat, it was confirmed that some of blood vessels were regenerated. Thus, development of self-renewal silk artificial vascular grafts with small diameter for artery with high strength and vein with high elasticity has progressed.

研究分野：化学

キーワード：絹人工血管 高機能化絹 絹多孔質コーティング ダブルラッセル編み 動物移植評価実験 動脈・静脈用人工血管

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会や生活習慣病の増加を背景に、治療に用いる動脈および静脈用小口径人工血管の需要は、極めて高い。しかしながら、長年にわたって国内外の研究者が精力的に、その開発に携わってきたが、未だ市販品がない状況である。研究代表者らは、長年にわたり、絹の構造の解明と絹プロセッシング技術の開発を行い、その知見を基盤として、絹小口径人工血管を開発しつつある。

2. 研究の目的

これまでの絹人工血管に関する研究成果を基盤として、絹人工血管の作製技術と動物移植評価実験による臨床研究を組み合わせ、生体に移植後、一定の期間を経て絹が効率よく分解し、かわりに、自己の血管が再生するように設計された自己再生型の動脈および静脈用の小口径絹人工血管を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

1. 新たな小口径絹人工血管をダブルラッセル編みと絹をベースに各種コーティングを組み合わせ、作製する。特に、各種コーティングの作製は、固体 NMR の手法を十分に生かして、最適化を行う。2. 作製した絹人工血管をラットの動脈および動脈に移植する。3. 移植後、経時的に絹人工血管をとり出し、一定期間を経て自己の血管が再生されることを染色実験によって確認する。4. 1から3のプロセスを繰り返し、最終的に自己再生型の動脈および静脈用の小口径絹人工血管の開発を行う。

4. 研究成果

1. 小口径絹人工血管の作製

直径の異なる小口径の絹人工血管基盤（直径は、1mm, 1.5mm, 3mm とした）を、コンピューターで制御されたダブルラッセル編み機によって作製した。編み方は、殆どの場合ダブルバークコード編みとしたが、静脈移植用の基盤の場合のみ、2目編みも試みた。作製方法を図1からにまとめた。特に、の段階で、絹水溶液とグリセリンの混合液に絹基盤を浸漬、減圧下で脱気することによって、コーティングを行い、続いて④から⑥の段階で、-20 で一晩放置することによって、表面のコーティング絹を不溶化させ、水中に浸漬することによってグリセリンを除き、絹のスポンジコーティングとした。

コーティングについては、エラスチンや絹-ポリウレタン混合物についても行い、比較・検証した。また、固体 NMR 測定を適宜、併用することによって、スポンジ化の過程を最適化した。水存在下でパウチ後、オートクレーブ滅菌を行い、移植実験用の絹人工血管を完成させた。また、絹コーティングのみの効果を検証するために、基盤をポリエステルとした小口径人工血管を作製、市販のゼラチンコーティングの場合と比較した。動物の種類や実験の目的によって、図1の から のプロセスは、適宜、変化させた。

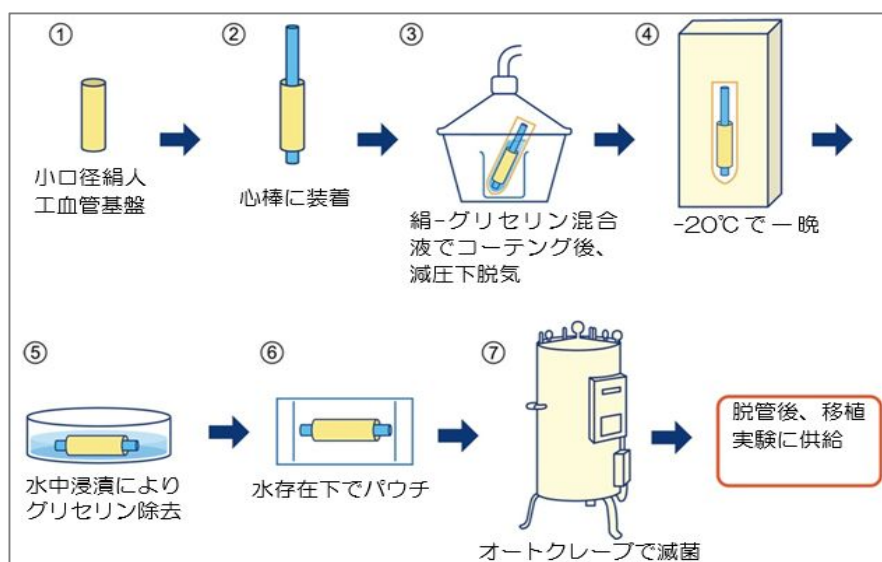


図1. 小口径絹人工血管の作製方法

2. 絹コーティング小口径絹人工血管のマウス動脈への移植

本研究では、より小口径の絹人工血管の開発を目指して、極小口径絹人工血管（内径 0.9 mm）を、編み、組み、エレクトロスピニングの各手法を用いて作製した。

移植は、マウスの頸動脈へ行ったが、ポリミドカフを用いる等の工夫を行い、かつ、手技を向上させることによって、成功することができた。図 2 にまとめたように、生体適合性および生分解性について評価した。

移植 2 週間後では吻合部において血管内皮細胞および平滑筋細胞が観察された。さらに、移植 4 週間後においては、グラフトの中央部においても血管内皮細胞および平滑筋細胞を確認することができた。

また、マクロファージが移植 4 週間後からグラフトの外側に集簇し始め、移植 6 ヶ月後においては膠原線維や弾性線維が新たに確認された。

このことから、各段階を経て、極小口径絹人工血管の基盤が分解され、自己組織へ置換されていくことが示され、血管のリモデリングが起こることが分かり、極小口径絹人工血管の開発が進んだ。

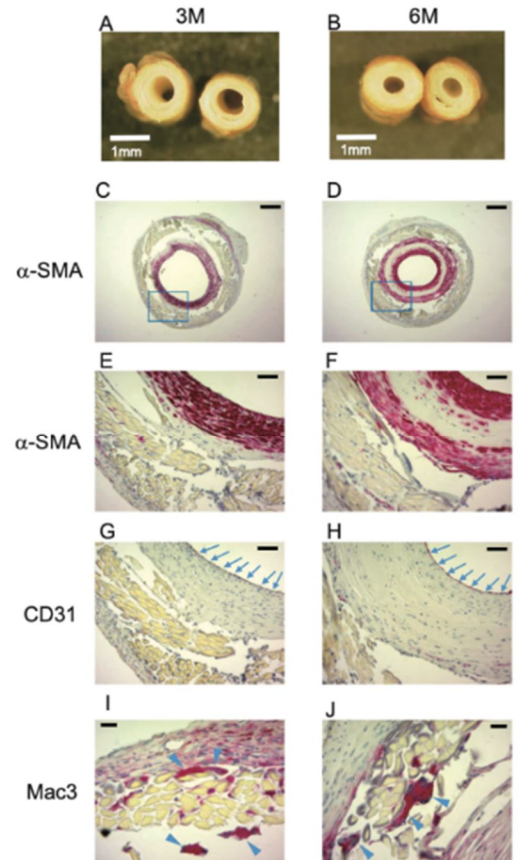


図 2 . 極小口径絹人工血管をマウスに移植後の評価

3. エラスチンコーティング小口径絹人工血管のラット動脈への移植

本研究で用いたエラスチンは、絹フィブリンと比較して、血小板の吸着性が低く、血管内皮細胞は 3 倍の付着性を有した。また、¹³C solid-state NMR において、エラスチン部分が水和状態で非常に高い運動性を持つことを示した。

このエラスチンを絹小口径人工血管にコーティングすることで、絹基盤の間にエラスチンが入り込み、移植時の血液漏出を防いだ。さらに、エラスチンコーティングは多孔質の状態でもコーティングされており（図 3）、優れた生体適合性と操作性を有し、移植後に自己組織へのリモデリング能力を発揮した。

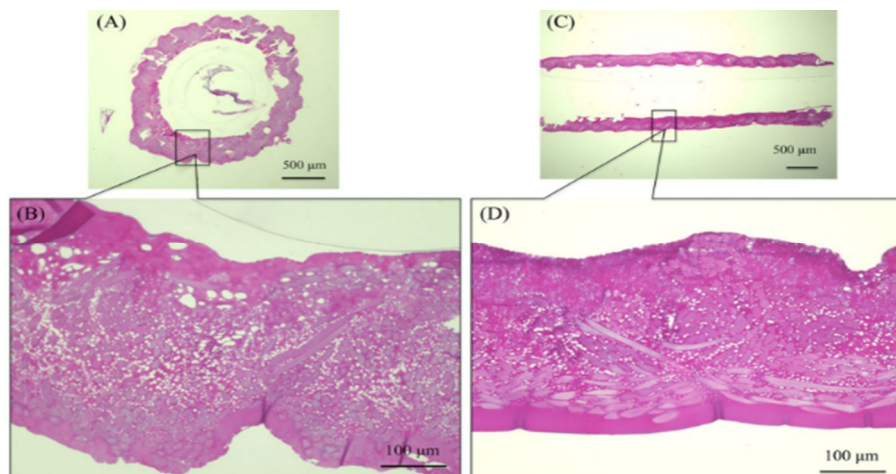


図 3 . 絹人工血管基盤へのエラスチンコーティングの様子

4. 絹コーティング小口径ポリエステル人工血管のラット動脈への移植

絹フィブリンコーティングを施した小口径人工血管は、現在、商業用として使用されるゼラチンコーティングを施した小口径人工血管と同等の強度と柔軟性を有していた。また、小口径人工血管の基盤が通常使用されるポリエステル繊維を使用しても、絹フィブリンコーティングを用いることで自己組織へのリモデリングを促進させることが判明した(図4)。

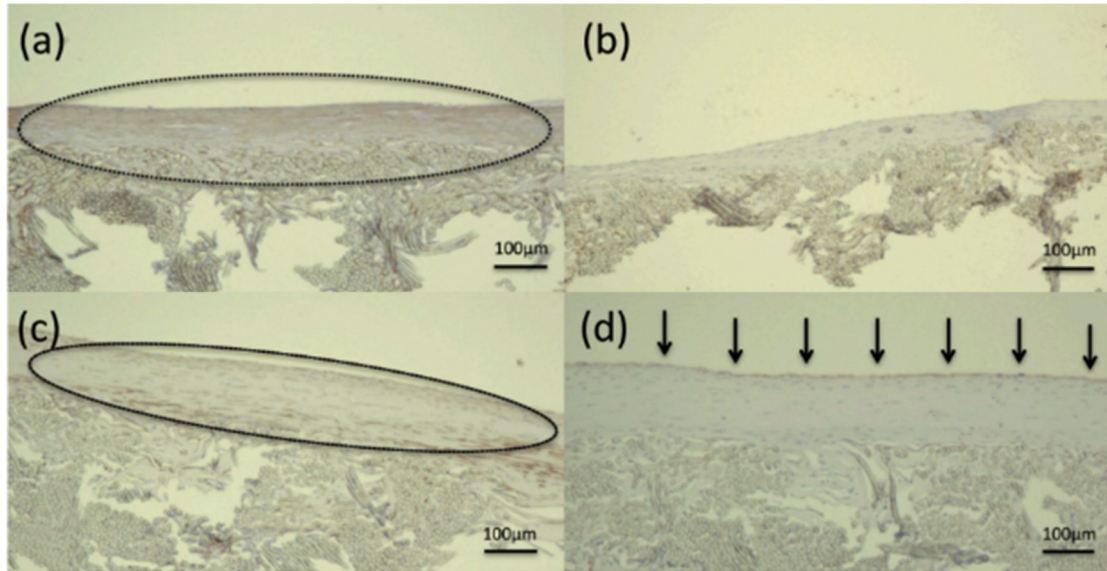


図4. 絹コーティング小口径ポリエステル人工血管のラットに移植後の評価

5. 絹コーティング小口径絹人工血管のイヌ大動脈への移植

改良された絹フィブリンコーティングを用いてイヌ(ビーグル)の大腿動脈へ移植を行い、大動物モデルにおける移植長期間の開存性およびリモデリング能力の評価を行った(図5)。移植3ヶ月後の時点で自己組織へのリモデリングが完了、移植1年後においても人工血管の破綻、動脈瘤、石灰化および内膜肥厚は確認されず開存していた。本小口径人工血管はラットなどの小型の動物だけでなく大型の動物においても高い開存性とリモデリング能力を有することが分かった。

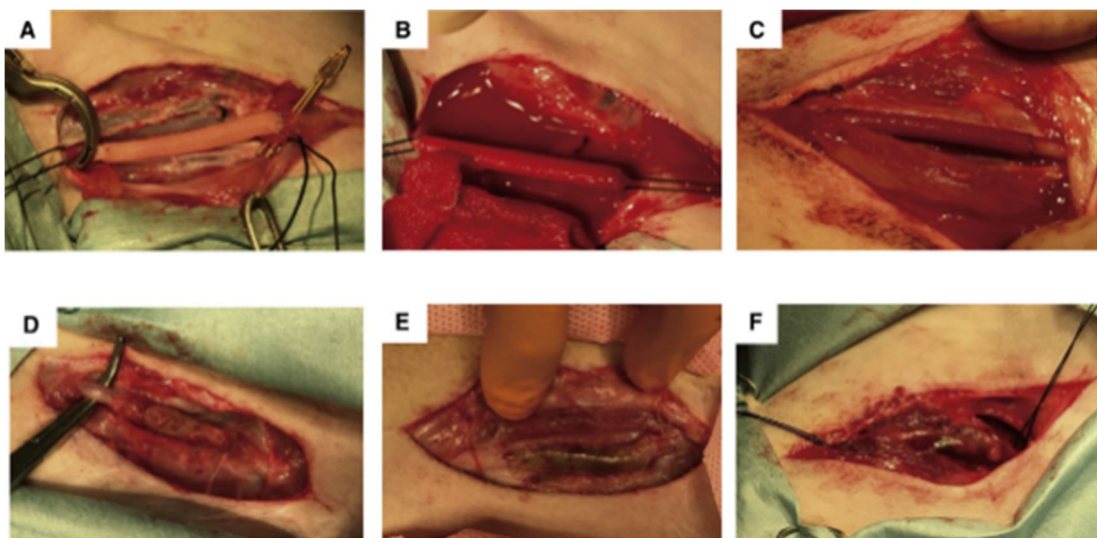


図5. 絹コーティング小口径絹人工血管のイヌ大動脈への移植後の評価

6. 絹コーティング小口径絹人工血管のラット静脈への移植

本研究では、絹人工血管をラットの後大静脈へ移植して、静脈系における絹人工血管の有用性の評価を行った。移植4週間後の開存性においては、既存のポリテトラフルオロエチレン製人工血管との間に有意差は認められなかったものの、絹人工血管の周囲に弾性線維と平滑筋細胞が認められ、グラフト内側には血管内皮細胞で覆われていることが観察されるなど高いリモデリング能力を示した。

また、絹人工血管の外側には中皮細胞が確認されたことから感染に対する抵抗力も付与できる可能性が示唆された(図6)。

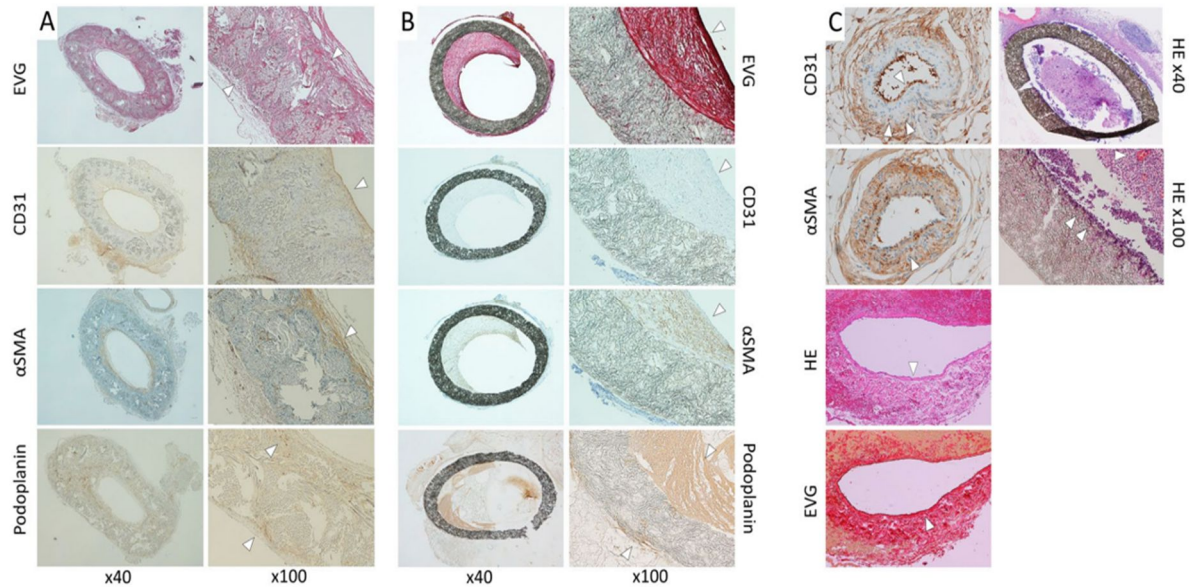


図6. 絹コーティング小口径絹人工血管のラット後大静脈への移植後の評価

近年、臓器移植の分野で、静脈再建を伴う手術が急速に増加、自己ヒト静脈や脳死患者から摘出されるホモグラフト血管が用いられてきたが、多くの問題を抱えていた。そこで、静脈再建用絹人工血管の開発を急務な課題として取り上げ、イヌへの移植評価を行った。

径が8mmの絹人工血管基盤を2目編みにて作製し、厚手の絹フィブロインのスポンジコーティングを施し、イヌの後大静脈への移植を行い、1ヶ月後の結果を示した(図7)。

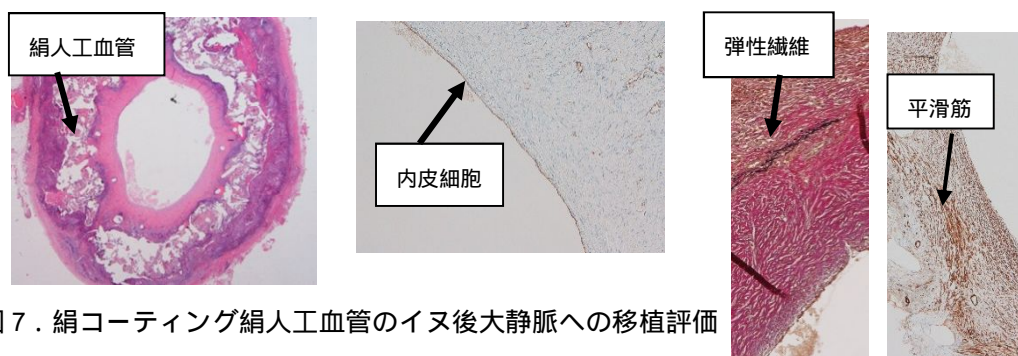


図7. 絹コーティング絹人工血管のイヌ後大静脈への移植評価

血管は、きれいに開存しており、内皮細胞も認められる。さらに、弾性繊維や平滑筋も認められ、天然に近い血管が構築されていることが分った。

今後、医療メーカーと協力して、絹人工血管の市販化に向けて努力していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計23件（うち査読付論文 21件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 14件）

1. 著者名 T. Tanaka, Y. Abe, C.-J. Cheng, R. Tanaka, A. Naito, T. Asakura	4. 巻 8
2. 論文標題 Development of Small-Diameter Elastin-Silk Fibroin Vascular Grafts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front. Bioeng. Biotechnol.	6. 最初と最後の頁 622220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fbioe.2020.622220	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 T. Tanaka, R. Tanaka, Y. Ogawa, Y. Takagi, M. Sata, T. Asakura	4. 巻 6
2. 論文標題 Evaluation of small-diameter silk vascular grafts implanted in dogs	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JTCVS Open.	6. 最初と最後の頁 148-156
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xjon.2021.02.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 T. Tanaka, Y. Ibe, T. Jono, R. Tanaka, A. Naito, T. Asakura	4. 巻 26
2. 論文標題 Characterization of a Water-Dispersed Biodegradable Polyurethane-Silk Composite Sponge Using ¹³ C Solid-State Nuclear Magnetic Resonance as Coating Material for Silk Vascular Grafts with Small Diameters	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 4649
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules26154649	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 T. Tanaka, R. Tanaka, Y. Ogawa, Y. Takagi, T. Asakura	4. 巻 16
2. 論文標題 Development of Small-diameter Polyester Vascular Grafts Coated with Silk Fibroin Sponge	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Organogenesis	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15476278.2019.1686295	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 -

1. 著者名 S. Kiritani, J. Kaneko, D. Ito, M. Morito, T. Ishizawa, N. Akamatsu, M. Tanaka, T. Iida, T. Tanaka, R. Tanaka, T. Asakura, J. Arita, K. Hasegawa	4. 巻 10
2. 論文標題 Silk fibroin vascular graft: a promising tissue-engineered scaffold material for abdominal venous system replacement	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 21041
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-78020-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka, K.; Fukuda, D.; Higashikuni, Y.; Hirata, Y.; Komuro, I.; Saotome, T.; Yamashita, Y.; Asakura, T.; Sata, M.	4. 巻 27
2. 論文標題 Biodegradable Extremely-Small-Diameter Vascular Graft Made of Silk Fibroin can be Implanted in Mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Atheroscler. Thromb.	6. 最初と最後の頁 1299-1309
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.52720	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計12件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Sho Kiritani, Junichi Kaneko, Takeaki Ishizawa, Nobuhisa Akamatsu, Junichi Arita, Ryo Tanaka, Tetsuo Asakura, Kiyoshi Hasegawa
2. 発表標題 Silk fibroin vascular graft: a new option for hepato-biliary-pancreatic surgery with venous reconstruction
3. 学会等名 第33回日本肝胆膵外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中隆志、田中綾、森戸正顕、金子順一、長谷川潔、小川陽子、高木義秀、朝倉哲郎
2. 発表標題 犬での生体内評価による絹人工血管の開発
3. 学会等名 2019年繊維学会年次大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 朝倉 哲郎	4. 発行年 2019年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 483
3. 書名 シルクナノファイバーの再生医療材料への応用. In ナノファイバーの製造・加工技術と応用事例	

1. 著者名 朝倉 哲郎; 出村 誠	4. 発行年 2020年
2. 出版社 東京化学同人	5. 総ページ数 480
3. 書名 第9章 生体高分子. In 基礎高分子科学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京農工大学 朝倉研究室 http://web.tuat.ac.jp/~asakura/

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	田中 綾 (Tanaka Ryo) (70334480)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授 (12605)	

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