

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09273

研究課題名(和文)血管組織型バイオロジカルステントグラフトの開発

研究課題名(英文)Development of Biological Aortic Stent Graft Based on Nobel Tissue Engineering

研究代表者

岡本 健 (Okamoto, Ken)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・講師

研究者番号：20372782

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、感染に強い再生医療製品ステントグラフトを可能とする技術開発を目標とした。ヒト血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、線維芽細胞などの血管を構成している細胞を用い、細胞凝集現象を利用して血管組織型スフェロイドを立体構築し、血管を構成する細胞外マトリックスなどの組織学的評価を行った。自己血管と比較し、これらの細胞外マトリックスの産生は血管壁内に不規則に分布する傾向があった。内皮細胞は血管構造体の内膜を裏打ちするようには分布せず、構造体の内部には未熟な血管網構築をするように分布した。細胞のみから立体的血管組織を構築する組織工学技術を開発し、三次元化して立体血管構造体の構築を行うことが可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は細胞凝集現象を利用しながら、細胞のみで立体的な組織を作る技術を応用して血管を構成する、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、線維芽細胞を大量培養し、血管組織型スフェロイド(細胞凝集塊)を作成さらに立体化させ血管組織型パッチを作成することを目的とした。その結果、分布形態は血管としては未熟であったが細胞のみを三次元化して立体血管構造体の構築を行うことが可能であり、感染に対して抵抗性を有するバイオロジカルなデバイス開発の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to develop a new stentgraft that are resistant to infection.

we use the cells that make up blood vessels, such as human vascular endothelial cells, vascular smooth muscle cells, and fibroblasts, and use the cell aggregation phenomenon to construct vascular tissue-type spheroids in a three-dimensional manner to form blood vessels. Histological evaluation of extracellular matrix was performed. Compared to the native blood vessels, the production of these extracellular matrices tended to be irregularly distributed within the vessel wall. Endothelium cells were not distributed as endothelium to line the endometrium of the vascular structure, but were distributed inside the structure to form an immature vascular network. It was possible to develop a tissue engineering technique for constructing a three-dimensional vascular tissue only from cells, and to construct a three-dimensional vascular structure in three dimensions.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：大動脈外科 組織工学 再生医療 ステントグラフト

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 感染性大動脈瘤は、全大動脈瘤の0.5～2%に発生する稀な動脈瘤であるが、その死亡率は11～44%と非感染性大動脈瘤に比して極めて高い。治療としては感染性大動脈瘤と診断され次第、培養検査の結果に応じて強力な抗生物質投与を開始し、反応が良好な場合は十分な期間抗生物質投与を行い、可能であれば完全に炎症反応が陰性化してからの手術が望ましいが、一方で常に破裂の危険性があることを念頭に置き、発見時の動脈瘤の形態や経時的な拡大傾向に注意しながら手術時期を逸しないようにすることが重要である。

(荻野 均, 飯田 修, 他: 大動脈瘤・大動脈解離診療ガイドライン(2020年改訂版)。

https://www.j-circ.or.jp/cms/wp-content/uploads/2020/07/JCS2020_Ogino.pdf)

(2) 手術方法に関して、腎動脈下の感染性大動脈瘤に対しては、以前は感染巣内に人工血管を移植することを避けるために動脈瘤の前後の大動脈を閉鎖し、腋窩動脈 - 大腿動脈間バイパスによって下半身の血行を再建するというextra-anatomical bypassが標準術式とされてきたが、近年ではin situへの人工血管移植術を第一選択とした報告が多く、早期死亡率は最近では10～15%程度と良好な成績が報告されている。胸部大動脈や腎動脈上大動脈の感染瘤に対しては、その解剖学的な要因からin situへの人工血管移植術を選択せざるを得ないが、腎動脈下の感染性大動脈瘤に比して手術および再建が複雑となり吻合部が多いため予後が悪い。グラフトはホモグラフトが理想的であるが、入手が難しく、リファンピシン浸漬人工血管やexpanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) 製人工血管が用いられていることが多い。さらに、大網充填など、感染に対する追加手技が併用されている。感染性大動脈瘤に対するステントグラフト治療は、2011年のガイドラインでは、Class IIIと適応は限定されていたが、近年のメタアナリシスでは、早期死亡率5.6%、遠隔期合併症発生率7.8%と、大動脈・消化管瘻を形成していない症例では良好な成績が報告されている。欧州の16施設における130例の感染性大動脈瘤に対するステントグラフト内挿術の検討では、5%に人工血管置換による追加手術が行われ、1年生存率は91%、感染関連死は19%と報告されている。Topelらは、治療困難とされる大動脈・食道瘻を伴う感染性胸部大動脈瘤6例に対しステントグラフト内挿術を行い、ステントグラフトのみの2例は2カ月以内に死亡したが、bridging therapyとしてステントグラフト内挿術後にホモグラフトを用いた大動脈再建術を施行した4例中3例は長期生存していると報告している。以上より、開胸・開腹手術が困難な高齢者や大動脈・気管支肺瘻あるいは消化管瘻に対しては、今後、ステントグラフト内挿術の適応が広がるものと思われる。

(Razavi MK, Razavi MD: Stent-graft treatment of mycotic aneurysms: a review of the current literature. J Vasc Interv Radiol 2008; 19: S51-S56)

(Sorelius K, Mani K, Bjorck M, et al: Endovascular treatment of mycotic aortic aneurysms. A European multicenter study. Circulation 2014; 130: 2136-2142)

(Topel I, Stehr A, Steinhauer MG, et al: Surgical strategy in aorto-esophageal fistulae: endovascular stentgrafts and in situ repair of the aorta with cryopreserved homografts. Ann Surg 2007; 246: 853-859)

2. 研究の目的

(1) 上記の背景を踏まえると感染性動脈瘤に対する治療手段はホモグラフトによる血管置換術が理想的であるが、入手が難しく時間もかかり、また開胸や開腹が必要なことから高齢者や全身状態が不良な症例では選択しがたいのが現状である。一方ステントグラフト内挿術は非常に低侵襲な治療法であり、全身状態不良例や破裂などの緊急時には有用である。しかしながら人工血管という異物を留置するため、bridging therapyと考えざるを得ない。

(2)、本研究では自己由来細胞のみを用いて生物学的に機能する3次元構造体を作成するという技術を利用して感染に強い次世代型生物学的再生医療製品ステントグラフトとしての応用を可能とする技術開発を目標とする。並行して感染性動脈瘤の臨床症例について臨床データを収集する。

3. 研究の方法

(1) ネイティブ血管解析と組織工学的血管設計図の検討：適正な組織構築のために、熊本大学病院にて行われる血管外科手術の際に採取されたヒト大動脈壁、中口径動脈の組織学的解析や、細胞外マトリックス解析を今一度、文献あるいは臨床的に採取された過去の病理組織標本などを利用し解析する。血管解析として具体的には、内膜、中膜、外膜の厚み、比率、各層の細胞配列や、単位面積当たりの細胞数、発現しているコラーゲンの網羅的染色と解析、メタボローム解析による代謝産物の解析などを行う。

(2) 血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、線維芽細胞をある一定の比率、配分で混合したスフェロイドを作成し開発した組織工学技術にて細胞のみで構築される血管パッチを作成する。細胞ソースは、市販の実験用培養細胞のうち、ヒト大動脈血管内皮細胞、大動脈血管平滑筋細胞、皮膚線維芽細胞を購入し、それぞれを専用培地で目的の細胞数に達するまで拡大培養する。目的数に達した細胞を、血管壁の設計図解析でのデータをもとに配合し、細胞数1000個、直径100 μ m程度の血管組織型スフェロイドを予定量形成する。その後、組織体形成装置を用いて1cmX1cmの中口径血管組織型パッチを構築し解析する。

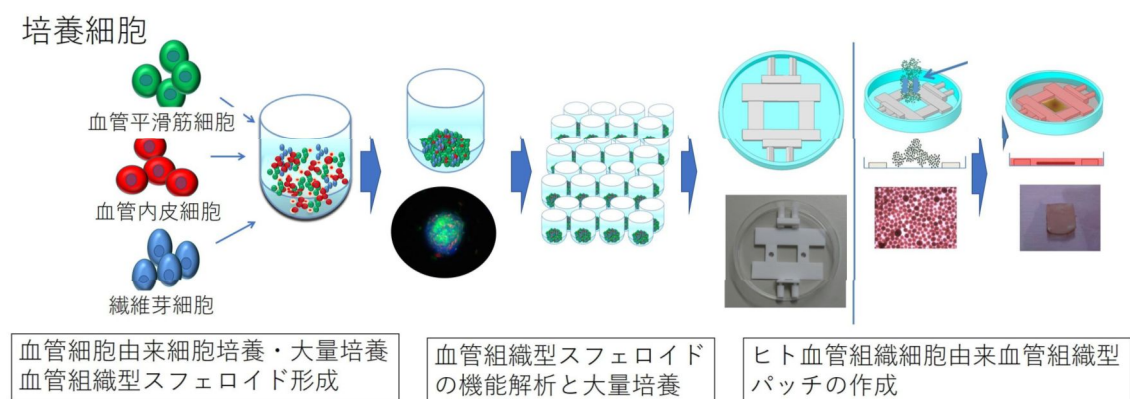


図 1. スフェロイドおよびパッチの作成。

4 . 研究成果

(1) Day1, Day3 のグラフト内には、血管構築に必須のコラーゲンの Type1, 3, 4, 5 の発現を認めた。自己血管と比較すると、これらの細胞外マトリックスの産生は、血管壁内に不規則に分布する傾向があった (図 2)。

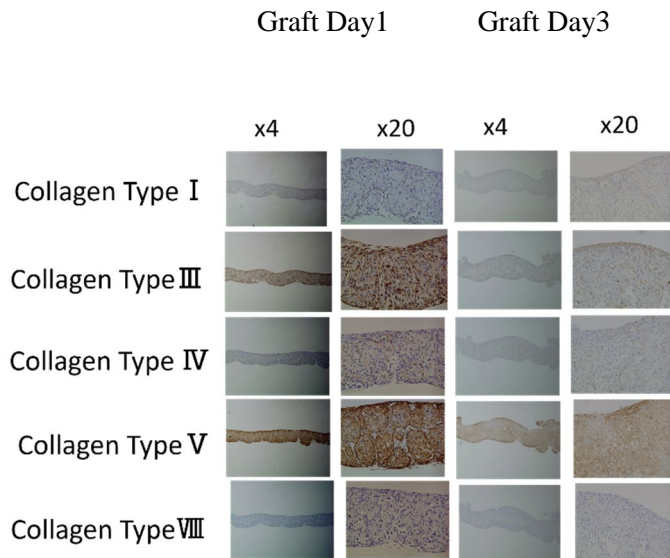


図 2. グラフトのコラーゲン発現の比較。Day1、Day3 のグラフト内には、血管構築に必須のコラーゲンの 、 、 、 の発現を認めたものの、少量かつ正常な血管と比較し分布もまばらであった。

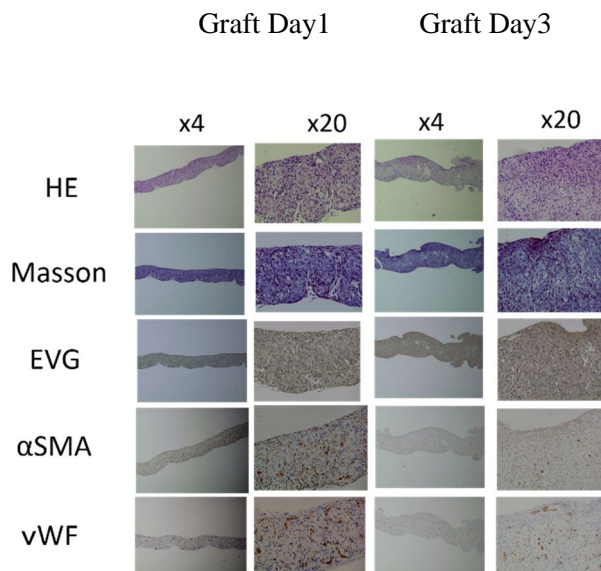


図 3. グラフトの組織学的解析。EVG 染色では弾性線維の出現はグラフト内には認めなかった。内皮細胞は、内皮として血管構造体の内膜を裏打ちするようには分布せず、構造体の内部に未熟な血管網構築をするように分布した。

(3) 細胞のみを三次元化して立体血管構造体の構築を行うことが可能であった。作成後数日で、血管に特徴的な細胞外マトリックスの産生はみとめるものの、血管として十分に機能させるには不十分と考えられた。今後の課題としてサイトカイン添加・培養条件検討等により、血管構造体の生物学的活性を発現させ血管として成熟させる技術をさらに開発する必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Mutsuo Tanaka	4. 巻 60
2. 論文標題 A case of persistent sciatic artery aneurysm with recurrent embolism	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Surgery Case Reports	6. 最初と最後の頁 156-160
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijscr.2019.06.017	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 新堀 莉沙	4. 巻 28
2. 論文標題 左総腸骨動脈ステント留置後の仮性動脈瘤に対する一手術例	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本血管外科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 137-140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11401/jsvs.18-00114	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 Risa Shimbori	4. 巻 35
2. 論文標題 Enlarged coronary sinus thrombosis after repair of Ebstein's anomaly	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cardiac Surgery	6. 最初と最後の頁 675-678
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jocs.14414	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 堀部 達也	4. 巻 29
2. 論文標題 腸骨動脈ステント留置後の感染性仮性動脈瘤に対する一手術例	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本血管外科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 225-229
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11401/jsvs.19-00039	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 Risa Shimbori	4. 巻 9
2. 論文標題 Incidentally detected atrioventricular septal defect in an adult	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Case Reports	6. 最初と最後の頁 e05110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ccr3.5110	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7件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 野口 亮
2. 発表標題 細胞のみを3次元化させ細径動脈を作製する技術開発 内胸動脈との構造比較
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡本 健
2. 発表標題 当科における遊離空腸移植術の検討
3. 学会等名 第49回日本心臓血管外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 細田 康仁
2. 発表標題 血管合併切除を伴う大腿部悪性軟部腫瘍に対する手術例の検討
3. 学会等名 第47回日本血管外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡本 健
2. 発表標題 当科におけるEVAR後open conversion症例の検討
3. 学会等名 第47回日本血管外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日高 秀昭
2. 発表標題 尿管皮膚瘻造設後の人工血管感染に対して腋窩-浅大腿動脈バイパス術を施行した一例
3. 学会等名 第115回日本血管外科学会九州地方会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 日高 秀昭
2. 発表標題 止血デバイスに起因した大腿動脈高度狭窄に対して血管形成術を施行した1例
3. 学会等名 第129回 日本循環器学会九州地方会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣田 貴史
2. 発表標題 血管内治療後再燃した感染性動脈瘤に対しての一手術例
3. 学会等名 第49回日本血管外科学会総会
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	田爪 宏和 (Tazume Hirokazu) (10648273)	熊本大学・病院・非常勤診療医師 (17401)	
研究 分担者	福井 寿啓 (Fukui Toshihiro) (50445045)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授 (17401)	
研究 分担者	野口 亮 (Noguchi Ryo) (70530187)	熊本大学・病院・助教 (17401)	

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