

令和 6 年 9 月 10 日現在

機関番号：10107

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K20174

研究課題名（和文）生体内で形成された大動脈弁移植用組織体の計算流体力学的手法による形状最適化

研究課題名（英文）Shape Optimization of Aortic Valve Grafts formed by In-Body Tissue Architecture using Fluid Structure Analysis

研究代表者

寺澤 武 (Terazawa, Takeshi)

旭川医科大学・先進医工学研究センター・講師

研究者番号：20815401

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、既存の人工心臓弁が抱える課題（抗凝固薬の終生服用や耐久性の問題）を解決するために、生体内で自己組織弁を作製する技術の確立を目指した。臨床に応用可能な組織強度と弁機能を持つ弁尖形状を明らかにするため、弁形成時にOPEN（開放）およびCLOSED（閉鎖）状態となる2種類の体内留置用基材を新たに設計した。動物実験での組織形成能の評価により、OPEN型が高い形成率を示した。OPEN型は弁閉鎖時の逆流が課題となるが、構造解析により弁交連部近傍の尖端形状を工夫することで逆流を抑制できることが明らかになった。本研究の成果は、安全に使用できる自己組織心臓弁の設計手法確立に貢献すると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通じて、生体内で弁機能と強度を兼ね備えた移植用心臓弁の形成が可能であることが示された。また、弁形成のために生体内に留置される基材の設計法として、基材に設けられた細胞導入経路の長さが良好な組織形成に寄与していることが明らかとなった。この知見は、他の移植用組織体の形成にも応用できる知見であり学術的な意義があると考えられる。自己組織心臓弁の開発により、抗凝固薬の生涯服用が不要になるだけでなく、弁の耐久性向上による再手術の減少や、患者の生活の質（QOL）の向上が期待される。これにより、医療費削減や患者の健康改善に貢献し、社会的意義も大きい。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to develop a technology for creating autologous tissue heart valves in-body tissue architecture to address the challenges of existing artificial heart valves, such as need for lifelong anticoagulant therapy and durability issues. To determine an optimal valve shape with both clinical strength and function, two types of in-body molds for valve formation were newly designed: one for the OPEN (open) state and one for the CLOSED (closed) state. Evaluation through animal experiments revealed that the OPEN mold resulted a higher tissue formation rate. Although the OPEN mold presented a challenges with regurgitation during valve closure, structural analysis showed that optimizing the shape near the valve commissures could effectively reduce this issue. The findings of this study are expected to contribute to the establishment of a design method for autologous tissue heart valves that can be safely used in clinical settings.

研究分野：生体医工学・組織工学

キーワード：人工心臓弁 自己組織心臓弁 組織工学 生体内組織形成術 心臓弁膜症 構造解析 先天性心疾患

1. 研究開始当初の背景

先天性心疾患患者は 100 人に 1 人の割合で出生し、心臓弁が弁狭窄している場合には人工心臓弁への置換手術が行われることがある(Bernier PL, et al.2010)。人工心臓弁は、主にパイロライトカーボンなどの人工物で作製される機械弁と、ウシの心膜やブタの心臓弁で作製される生体弁がある。機械弁は耐久性に優れるが、その人工材料表面に血栓が形成されるため、血管が梗塞されないよう抗凝固薬の生涯にわたる服用が必要となる。また、一度感染してしまうと再手術による交換が余儀なくされる。一方、生体弁においては生体適合性に優れるが、免疫原性を抑制するための化学的処理に起因する劣化により 5~20 年程度で手術による交換が必要であり、抗凝固薬の服用が禁忌である妊婦や老人などに用途が限定される。これら人工弁は、体内で劣化することはあっても自己化も成長もしないため、小児適用では身体の成長とともに適合しなくなる。服薬も限定的で長期使用できまた成長する人工心臓弁の開発が切望されている。

「生体内組織形成術」は生体皮下で移植用自己組織体を作製する再生医療技術である。「鋳型」と呼ぶ人工的な基材を生体皮下に埋入し、内部に形成された組織を移植体として応用する。鋳型は皮下に埋入されると、皮下に在る線維芽細胞が鋳型の内部に浸潤し「カプセル化反応」として知られる生体反応によりコラーゲンが産生され、鋳型の内部空間の形状に合わせた組織体が形成され、鋳型の形状により心臓弁様の組織(バイオバルブ)を得ることもできる。自己の皮下で形成された組織は自家組織であるため、毒性・免疫原性も無く安全な組織である。これまでの研究では、形成組織を血管部位に移植すると、移植後に内皮化・平滑筋が形成され血管同様の構造が再生(Yamanami M, et al. 2013)し、成長性も認められている(Furukoshi M, et al. 2018)。またバイオバルブを大動脈弁位へ移植後に移植時には認められない血管内皮細胞が再生する。また長期的にはエラスチン層が形成し本来の心臓弁同様の層構造の再生が認められ(Takewa Y, et al.2018)自己化がすすむ。そのため、抗凝固薬の服用は限定的で良く、さらには血管同様の成長性が期待でき小児適用にも適すると考えている。

我々の先行研究では、鋳型構造の工夫により組織形状を制御可能で厚く丈夫に形成できることを見出した(Terazawa T, et al.2018)。このような手法をバイオバルブ形成用の基材に応用することで、弁の長さ・厚みなどの形状を工学的に設計可能である。しかし、このような手法で形成されたバイオバルブを臨床で安心して使用するための機械的強度と心臓弁としての開閉機能を兼ね備える弁形状を形成できる基材の最適設計手法は確立されていない。

2. 研究の目的

本研究は、大動脈および肺動脈弁位への生体内形成組織の移植信頼性を確立するため、弁開閉機能と弁尖の強度を兼ね備え生体内で形成可能な鋳型基材の形状の最適設計手法を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

鋳型の設計手法の開発は、1) 生体内でバイオバルブが形成可能であること、2) 形成組織が弁機能を満足することを考慮して進捗した。具体的には1)は動物実験を通じた組織形成能の検証、2) 計算機による流体-構造連成解析による弁運動と、循環器系の生理学的条件を模擬する流体回路(模擬循環回路)の双方を活用して実施した。

1) 心臓弁様組織体を形成可能な基材の開発

鋳型に沿った形状で組織体は形成され、弁尖の形状は開放状態 (OPEN 型) での形成と、閉鎖状態 (CLOSED 型) である。図 1 は組織形成時の弁の断面を示したものであり、OPEN 型では弁尖が開放状態で形成されており、弁閉鎖後は開放状態に復元する力が働くと想定され、開放容易な弁として機能すると考えられる。同様に CLOSED 型では閉鎖状態で形成されるため、弁が開放した後、閉鎖状態に復元する力により閉鎖容易な弁として機能すると仮説した。まず初めに、仮説検証を目的とし、組織形成の可能性を検証するため、これらの組織形状を形成する鋳型設計を試みた。

鋳型設計は、三葉の弁形成を担う細胞を鋳型内部に導入するための経路設計が必要となる。それを可能とする各々 3 部品から成る OPEN 型と CLOSED 型鋳型を設計した(図 2)。鋳型は、心材部品を覆う部品の 2 部品間に間隙が設けられ、その内部に弁尖形成を行う。さらに、それら二部品を周囲から覆う部品を被せ鋳型は組み立てられる。三葉の弁は、周方向 120° 間隔で、均等に設計を行った。鋳型に設けられた細胞導入用の孔および導入経路が OPEN 型と CLOSED 型では異なる。OPEN 型では、弁尖形成用の細胞は導管側から内側の孔を経由し、弁尖を形成させる設計とした。また、CLOSED 型では、上部と導管側の側部から細胞導入をするように設計を行った。

弁形成用鋳型	OPEN型	CLOSED型
組織形成時の弁の状態	開放	閉鎖
力学的観点での弁の特徴	弁閉鎖後は開放状態に復元	弁開放後は閉鎖状態に復元

図 1 : 弁尖の形成状態と特徴

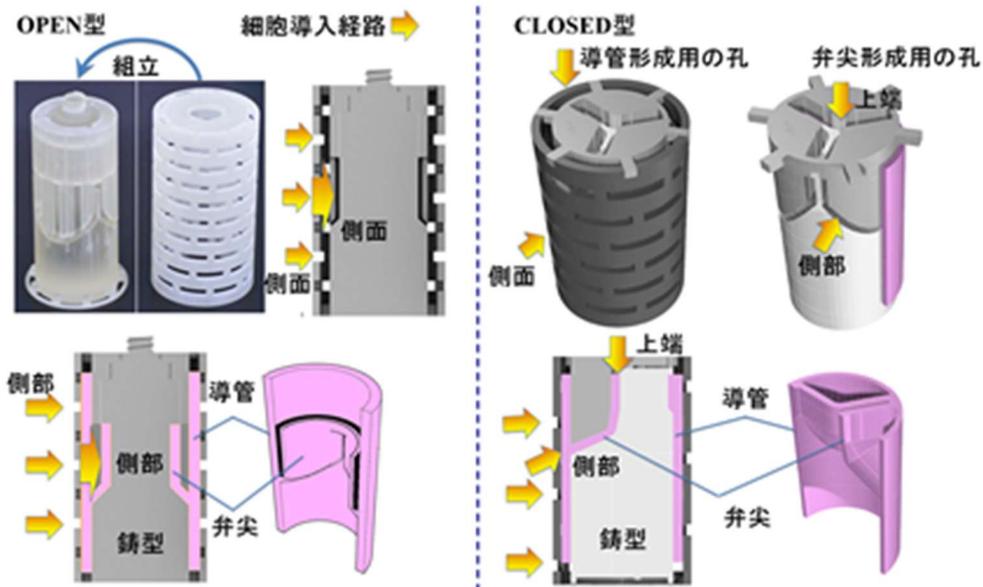


図2：鋳型設計と組織形成シミュレーション

組織形成実験では OPEN 型、CLOSED 型各々 1 2 個をヤギ 2 頭の皮下に埋植した。約 3 か月後に摘出しエタノールに数日浸漬した後、鋳型周囲の組織を除去した後、鋳型部品を抜去しバイオバルブを得た。これらは肉眼的および組織学的手法により観察・評価を行った。

2) 形成組織体の血行動態評価

バイオバルブの弁性能の評価のため、循環器系の生理学的条件を模擬可能な模擬循環回路 (IWAKI 製 Laboheart) を用いた実験を行った (図 4)。今回は Heart rate: 70 bpm、Systolic Ratio: 35 % とし、低圧系である肺動脈弁位への移植を想定した動脈圧 15 ± 5 mmHg となるように流量と血管抵抗を調整した。弁の性能は、人工心臓弁に関する ISO:5840 に規定の方法によって評価を行った。

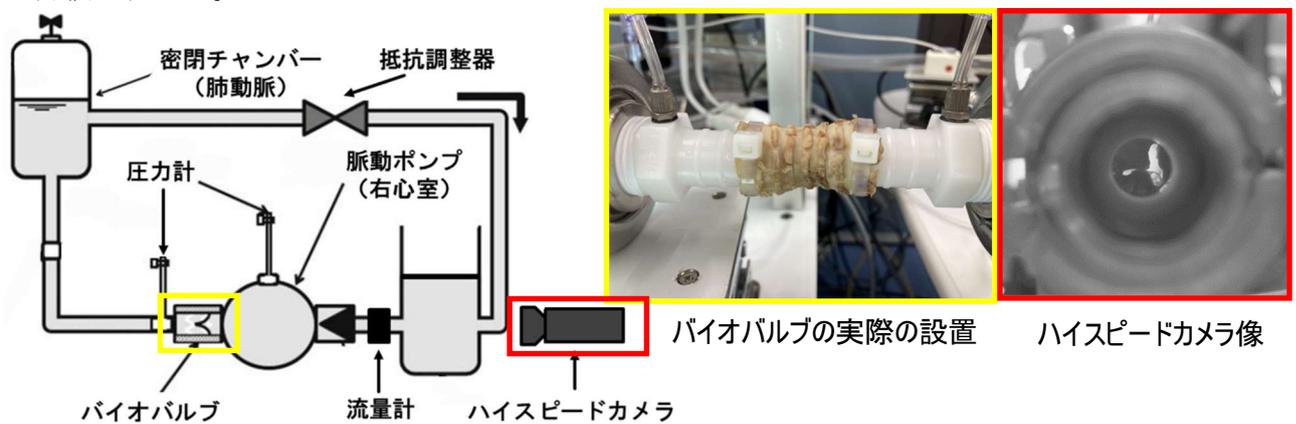


図4 模擬循環回路による弁機能評価

3) 自己組織心臓弁の運動にかかわる計算機解析 自己組織心臓弁の強度と弁機能評価を行うため、構造解析は ANSYS 社の Mechanical の静的解析を用いて実施した。材料モデルは、超弾性材料として生体内形成組織の引張試験データを用いた。生体組織の材料特性を得るため、ヤギの皮下で形成した膜状組織の引張試験を実施した。次の図は、皮下形成組織の応力-ひずみ特性を示す。得られた線図より材料モデルは 5 変数による Mooney-Rivlin モデルとして設定した。境界条件として、拘束条件は長軸方向の導管端部は固定し、荷重は本研究では計算負荷を低減するため、血圧を近似的に模した圧力として面に対して法線方向から大動脈圧条件 (120 mmHg) を負荷した。また、弁尖同士は大変形かつ摩擦を考慮した接触計算を行った。

4. 研究成果

1) 心臓弁様組織体を形成可能な基材の評価

鋳型を摘出した後、周囲の不要な組織をトリムしたところ、図 6 に示す弁グラフトを得た。肉眼的には何れの方も組織形成され、OPEN 型では 11/12 (92%)、CLOSED 型では、9/12 (75%) の組織は完全に形成された。しかしながら、CLOSED 型で形成された組織の一部は、局所的に薄い箇所が認められ、マッソントリクローム染色像では、弁元の厚い箇所はコラーゲン (青色に染色) および新生血管組織が多く認められたが、薄い箇所は生細胞および血管組織は認めず壊滅してい

た（紫色部）（図6）。この事実から、今回設計された CLOSED 型は設計通りに組織形成が困難であると考え、OPEN 型を第一候補として血行動態評価に繋げた。

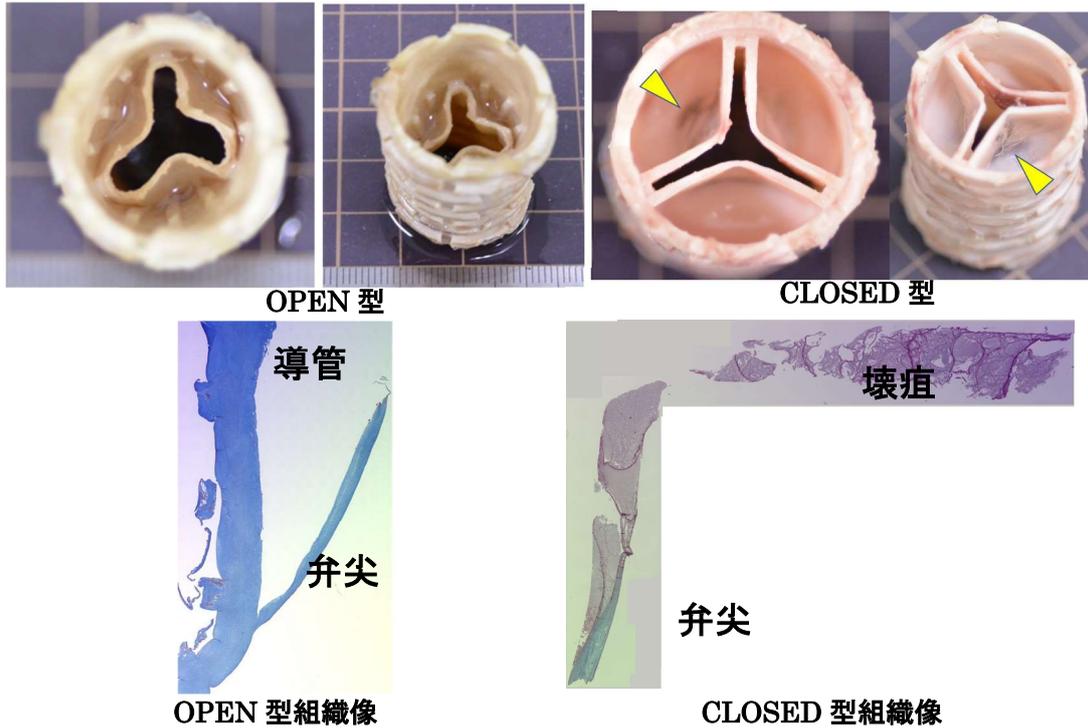


図5 各種鑄型から形成されたバイオバルブ

2) 模擬循環回路による OPEN 型自己組織弁の性能

表 1 に血行動態評価結果を示す。OPEN 型は、ISO で求められる要求性能である有効弁口面積 0.85 cm² 以上、逆流率 10 % 以下を満足した。OPEN 型は既存生体弁よりも逆流率は高いが弁前後の圧較差に優れた。臨床で用いられる既存生体弁 Edward 製 Epic Valve と性能比較したところ、OPEN 型は、逆流率は高いが、圧較差・弁有効面積に対して優位であった。

表1 血行動態評価結果

	OPEN型 n=3	Edward製 Epic Valve
流量 [L/min]	4.8±0.26	5.6
圧較差 [mmHg]	2.2±0.54	9.7
弁有効 面積[cm ²]	2.8±0.27	1.4
逆流率 %	7.4±1.37	2.2

3) OPEN 型自己組織弁のエコー像と構造解析

本研究で開発された OPEN 型自己組織弁は、ヤギへの弁移植実験で用いられた。移植後の弁の心エコー像を示す（図7左）。エコー像では交連部付近に隙間が認められた。本現象は、弁の構造解析で再現された。

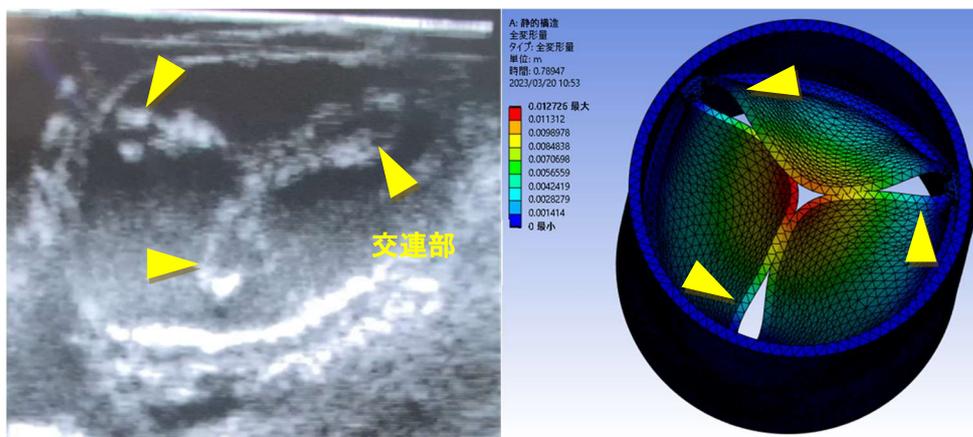


図7 OPEN 型の閉鎖時エコー像(左)と計算機構造解析(右)

図8は交連部付近を拡大し組織の変位量と応力を示したものである。OPEN 型グラフトの交連部付近には、血圧相当の荷重を受け応力が強くかかっている箇所がある(下図右矢印)。しかし生体組織は非圧縮性であるため、応力に対して交連部付近の組織は変形できず隙間ができると考えられた左図矢印)。逆流対策としては、導管の周方向に沿って形成される弁尖組織を、周方向から予め中心方向に角度をつけ組織作製することが有効と考えた。

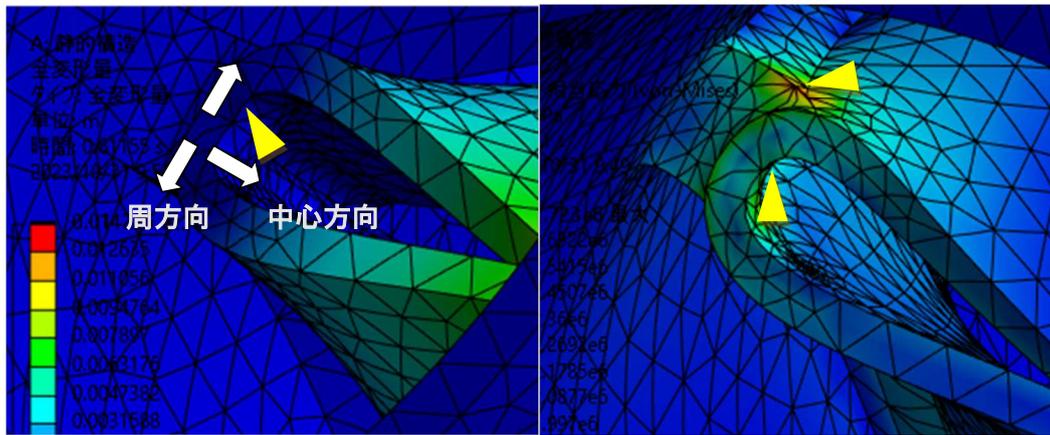


図8 OPEN型グラフトの交連部付近の変位(左)・応力(右)

4) OPEN型自己組織弁の改良

OPEN型自己組織弁の交連部形状が交連部付近の閉鎖特性に重要であることから、交連部近傍の設計改良を実施した。改良前では、弁口面積 7.251 [cm²]、逆流弁口面積 0.077 [cm²]、面積率 1.06%、であったのに対し、改良後では、弁口面積 7.153 [cm²]、逆流面積 0.0011 [cm²]、面積率 0.015%と大幅に低減することができた。一方で、本基材に依り形成される組織は、弁の尖端上に高応力・高ひずみが発生することがわかり、この応力を分散させるように設計することが、弁の構造破壊に対する安全余裕向上に重要であると考えられた。

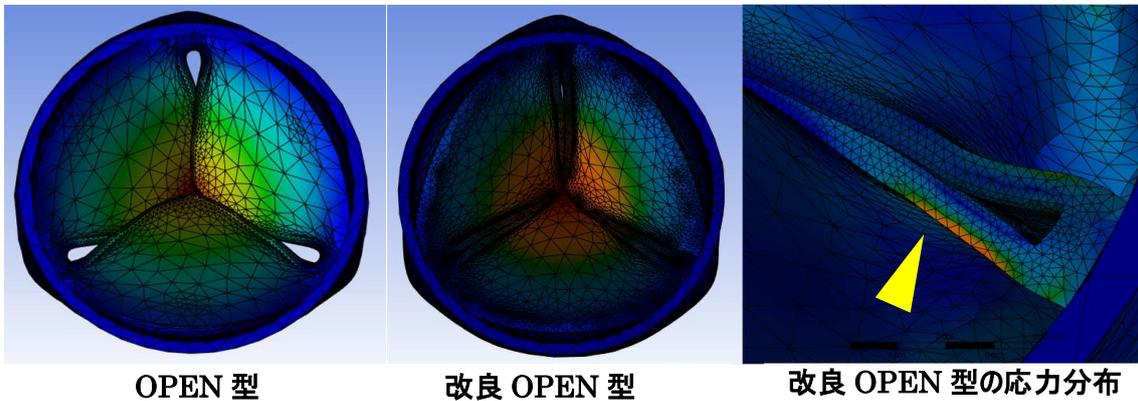


図9 OPEN型の交連部形状改良による閉鎖特性の改善

【まとめ】

本研究では、生体内における自己組織弁（バイオバルブ）形成用鋳型の至適形状探索を行い、次の結論を得た。

- ・生体皮下での組織形成の形成率はCLOSED型よりOPEN型の方が高く、臨床応用にはOPEN型が適する。
- ・OPEN型の弁機能の模擬循環回路評価ではISO基準を満足する。現状では、既存生体弁よりも逆流率は高いが、弁の開きやすさを表す圧較差は小さく優位であった。
- ・OPEN型の逆流要因として、ヤギへの弁移植実験におけるエコー像および計算機シミュレーションをとおして、一因は交連部付近の形成時の組織形状であり、交連部近傍の形状の工夫により改良できる見通しを得た。

今後、改良OPEN型の組織形成実験を通して弁機能評価を実施する。自己組織弁の設計手法を早期確立し、臨床応用につなげていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takayuki Kawashima, Tadashi Umeno, Takeshi Terazawa, Tomoyuki Wada, Takashi Shuto, Haruto Nishida, Hirofumi Anai, Yasuhide Nakayama, Shinji Miyamoto	4. 巻 32
2. 論文標題 Aortic valve neocuspization with in-body tissue-engineered autologous membranes: preliminary results in a long-term goat model.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Interactive cardiovascular and thoracic surgery	6. 最初と最後の頁 969-977
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/icvts/ivab015	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 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 寺澤 武, 佐藤 康史, 井上 雄介, 永吉 智紀, 山田 健人, 紀本 直, 山名 智尋, 堀江 風花, 武輪 能明
2. 発表標題 AIを用いた数理最適化演算と流体-構造連成解析による至適心臓弁形状モデリング手法の開発
3. 学会等名 第61回日本人工臓器学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 寺澤 武, 佐藤 康史, 井上 雄介, 永吉 智紀, 武輪 能明
2. 発表標題 生体内で形成される組織工学心臓弁グラフトの至適形状探索
3. 学会等名 日本再生医療学会第3回科学シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤 康史, 寺澤 武, 井上 雄介, 武輪 能明
2. 発表標題 生体内組織形成術による組織再生能を有する自己組織由来人工心臓弁の開発
3. 学会等名 日本再生医療学会第3回科学シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤 康史, 寺澤 武, 井上 雄介, 武輪 能明
2. 発表標題 体内組織工学プロセスによる新しい自己組織人工心臓弁の開発
3. 学会等名 第75回日本生物工学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 武輪 能明, 井上 雄介, 寺澤 武, 佐藤 康史
2. 発表標題 様々な大動脈弁疾患に対する自己組織生体弁を代用とする可能性の検討
3. 学会等名 第53回日本心臓血管外科学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 寺澤 武, 佐藤 康史, 井上 雄介, 山名 智尋, 堀江 風花, 中山 泰秀, 武輪 能明
2. 発表標題 生体内組織形成術によるCLOSED型心臓弁グラフト形成用鋳型の開発
3. 学会等名 第60回日本人工臓器学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 武輪 能明, 井上 雄介, 寺澤 武, 佐藤 康史
2. 発表標題 自己組織生体弁はロス手術よりも進化した大動脈弁置換の選択肢となり得るか？
3. 学会等名 第60回日本人工臓器学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山名智尋, 寺澤武, 堀江風花, 佐藤康史, 井上雄介, 武輪能明
2. 発表標題 自己組織心臓弁グラフト形成用鋳型の開発と臨床応用の可能性検証
3. 学会等名 第34回代用臓器・再生医学研究会総会 日本バイオマテリアル学会北海道ブロック第6回研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 寺澤 武, 佐藤 康史, 井上 雄介, 中山 泰秀, 武輪 能明
2. 発表標題 自己組織心臓弁グラフト(バイオバルブ)の至適心臓弁形状探索のための鋳型設計法開発
3. 学会等名 第59回日本人工臓器学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武輪能明, 井上雄介, 寺澤武, 佐藤康史, 中山泰秀
2. 発表標題 人工臓器と再生医療の融合により生まれた組織工学人工弁の開発
3. 学会等名 第58回日本人工臓器学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 梅野惟史, 岡本啓太郎, 河島毅之, 和田朋之, 穴井博文, 岩井良輔, 寺澤武, 中山泰秀, 宮本伸二
2. 発表標題 生体内組織形成術(iBTA)による脱細胞化牛バイオシートを用いた成ヤギ大動脈弁形成術の経験
3. 学会等名 第73回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yasushi Sato, Takeshi Terazawa, Yusuke Inoue, Yoshiaki Takewa
2. 発表標題 Development Of Transcatheter Implantable Autologous Tissue-engineered Artificial Heart Valve For Congenital Heart Disease
3. 学会等名 HVS2024 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Yasushi Sato, Takeshi Terazawa, Yusuke Inoue, Kensuke Takamatsu, Kunihiro Ota, Yoshiaki Takewa
2. 発表標題 Development of Autologous Tissue-Derived Artificial Heart Valve Combined with Stent for the Transcatheter pulmonary valve implantation.
3. 学会等名 7th APSAO 2023 Congress (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takewa Y, Inoue Y, Terazawa T, Sato Y
2. 発表標題 Investigation of the possibility of substituting an autologous biological heart valve for various valve diseases
3. 学会等名 49th ESAO and IFAO Congress (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshiaki Takewa, Yasuhide Nakayama, Yusuke Inoue, Takeshi Terazawa, Yasushi Sato
2. 発表標題 Change of histological structure after implantation of tissue-engineered heart valve
3. 学会等名 69th ESCVS (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 ステントグラフト形成基材	発明者 武輪 能明,寺澤 武, 井上 雄介,佐藤 康 史,中山 泰秀	権利者 国立大学法人旭 川医科大学, バ イオチューブ株
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-046431	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 弁付きグラフト形成基材	発明者 寺澤 武,武輪 能明, 井上 雄介,佐藤 康 史,中山 泰秀	権利者 国立大学法人旭 川医科大学, バ イオチューブ株
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-040595	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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 協力者	武輪 能明 (Takewa Yoshiaki) (20332405)	旭川医科大学・先進医工学研究センター・教授 (10107)	
研究 協力者	井上 雄介 (Inoue Yusuke) (80611079)	旭川医科大学・先進医工学研究センター・准教授 (10107)	
研究 協力者	佐藤 康史 (Sato Yasushi) (30767778)	旭川医科大学・先進医工学研究センター・助教 (10107)	

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