

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：13901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22975

研究課題名(和文) 生体吸収性ポリマーガラス化薄膜による細胞選択的接着性小口径人工血管の開発

研究課題名(英文) Development of small-diameter artificial vascular grafts using Bi-layered carboxymethyl cellulose-collagen vitrigel

研究代表者

中田 俊介 (NAKATA, Shunsuke)

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号：50876183

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：内径4-5mm以下の小口径人工血管は満足できるものがない。自家血管に匹敵する優れた開存性を有する小口径人工血管の開発が求められる。ヒトリゲル技術を応用し、コラーゲンに生体吸収性カルボキシルメチルセルロース(CMC)を組み合わせた「bi-layered CMC and collagen: Bi-C-CVM」を独自設計した。Bi-C-CVMは生体由来産物フリーで安全性が担保されている生体吸収性ポリマーである。Bi-C-CVMの厚みや濃度を可変することにより、ブタ血管と同程度の引張強度を持ち、内径6mmの管腔構造に成形することができた。Bi-C-CVMは小口径人工血管への応用が期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

冠動脈(内径2-3mm程度)バイパス術では自家動静脈を用いるが、動静脈の採取に伴う障害や合併症が少なからず発生し、患者に不利益を与えることがある。現状では、開存性や吻合部のコンプライアンスミスマッチなどの問題から、バイパスグラフトに使用可能な小口径人工血管は存在しない。本研究では、独自開発したコラーゲンに生体吸収性カルボキシルメチルセルロース(CMC)を組み合わせたBi-C-CVMが、ブタ血管と同引張強度を持ち、管腔構造の成形に成功した。まだ基礎研究の段階ではあるが、上述した医学的意義は大きいと考える。また、Bi-C-CVMは代用心膜や組織修復シート等の手術材料への応用も期待できる。

研究成果の概要(英文)：Although vascular grafts with more than 6 mm inner diameter are clinically used with common approval for bypass grafts or replacements, small-diameter artificial vascular grafts with 4-5 mm inner diameter are unavailable. We developed a rigid membrane which was formed by vitrification of a bi-layered carboxymethyl cellulose (CMC) and collagen hydrogel (Bi-C-CVM). The mechanical property of Bi-C-CVM showed a similar tensile strength to porcine blood vessels. In addition, Bi-C-CVM was able to form into a tube-like structure with 6-mm inner diameter. Bi-C-CVM will be useful as a basal material for developing medical devices including small-diameter artificial vascular grafts due to its unique mechanical properties.

研究分野：心臓外科

キーワード：小口径人工血管 冠動脈 バイパスグラフト コラーゲン セルロース 生体吸収性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人工血管の中でも中口径(内径 6-8mm)ないし大口径(内径 10mm 以上)のものは、安定した臨床成績を有し、既に完成した医療材料となっている。一方、内径 4-5mm 以下の小口径人工血管は、先人の長きに渡る研究開発の歴史があるにも関わらず、満足できるものはない。一般的に、冠動脈(内径 2-3mm 程度)バイパス術では、自家動静脈(内胸動脈、橈骨動脈、大伏在静脈など)を用いるが、動静脈の採取に伴う障害や合併症が少なからず発生し、患者に不利益を与えることがある。また、昨今再手術症例の増加に伴って、既に血管を採取されている場合や、静脈瘤や動脈硬化によって自家血管が使用できない場合もあり、自家血管にとって代わる小口径人工血管の開発が望まれる。一方、小口径人工血管の開発においては、自家血管に匹敵する優れた開存性を有することが必要であるが、異物反応や血栓形成、それらに伴う新生内膜肥厚による狭窄や閉塞、吻合部のコンプライアンスミスマッチなどの問題から、バイパスグラフトに使用可能な小口径人工血管は現状では存在しない。

ガラス化と再水和により、生体内の結合組織に匹敵する高密度のコラーゲン繊維からなる安定した物性状態のビトリゲル技術を応用し、コラーゲンに生体吸収性カルボキシメチルセルロース(CMC)を組み合わせた「bi-layered CMC and collagen: Bi-C-CVM」を独自設計し、小口径人工血管の基盤材料となる研究開発を行ってきた。

ポリマーを用いた小口径人工血管の開発における課題として、グラフト長が長くなると、より早い内皮化が必要であるのと同時に、吻合部の狭窄・閉塞を防止するためのコンプライアンスミスマッチを回避する力学的特殊設計が要求される。我々は、Bi-C-CVM の力学的特性や表面構造を最適化することで小口径人工血管として利用できると考え、本研究を行った。

2. 研究の目的

本研究では、Bi-C-CVM を小口径人工血管として機能させるため、力学的特性や表面構造加工等の最適化を図り、人工血管への応用可能性を調べた。

3. 研究の方法

(1) Bi-C-CVM の作成

コラーゲンと CMC を積層し、ガラス化と再水和によるゲルシートを作成した(図 1)。

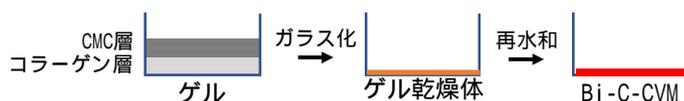


図1. Bi-C-CVMの作製方法

CMC 特性差による細胞接着度の影響

CMC の分子構造の違いが細胞接着に差が生じるかどうかを調べた。分子量や全置換度、溶解濃度の異なる 5 種類の CMC を用いてゲルシートを作成し、シート上に線維芽細胞を播種した。播種して 2 時間後に PBS で洗浄したのち、顕微鏡観察を行った。また、比較対象として、ポリスチレン (PS) およびポリテトラフルオロエチレン (PTFE) を用いた。

(2)

(3) 機能性評価

In vitro にて細胞接着性を確認した。CMC 上にヒト線維芽細胞を播種し、2 時間後に細胞接着性を評価した。比較対象として、PS および PTFE を用いた。

(4) 特性検討

CMC-コラーゲンゲル層の厚みや層数を可変した場合の力学的強度を測定した。生体血管の引張強度と比較するために、ブタ血管を用いた。また、管腔構造を作製した。

4. 研究成果

(1) Bi-C-CVM の作成

Bi-C-CVM を図 2 に示す。外観はゲルシート状で、電子顕微鏡では繊維構造が観察された。

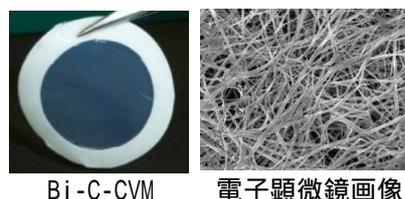


図2. Bi-C-CVM

(2) CMC 特性差による細胞接着度の影響

Table 1 に 5 種類の CMC 特性を示す。CMC の特性の違いにより、細胞接着性に大きな差が生じることがわかった。PS は高い細胞接着性を示す一方で、PTFE はほとんど細胞接着が見ら

れなかった(図3)。本結果から、PTFEに近い低接着性を示す CMC1 を以下の実験に用いることとした。Table1 および図3は、Wang, Y, et al. Carbohydrate Polymers 2022;285:119223 より引用、改変したものである。

Table 1
Molecular profiles of examined CMCs (CMC1–CMC5).

Type	Mw	DS	Concentration	Product no.	Lot no.	Provider
CMC1	250,000	0.7	2% w/v*	419,311	MKCD5149	Sigma-Aldrich
CMC2	250,000	0.9	2% w/v*	419,303	MKCB9856	Sigma-Aldrich
CMC3	250,000	1.2	2% w/v*	419,281	MKBZ8581V	Sigma-Aldrich
CMC4	90,000	0.7	2% w/v*	419,273	MKCG4437	Sigma-Aldrich
CMC5	700,000	0.9	1% w/v*	419,338	MKCD0622	Sigma-Aldrich

* Concentrations are set to the maximum condition which CMCs can be completely dissolved in D-PBS after autoclaving.

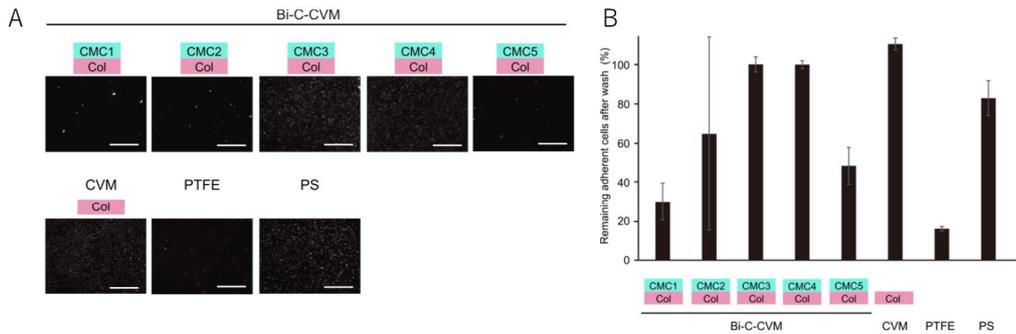


図3. CMC特性による細胞接着性の違い (A:顕微鏡画像、B:画像定量評価)
Wang, Y, et al. Carbohydrate Polymers 2022;285:119223より引用、改変

(3) 機能性評価

Collagen および PS は高い細胞接着性を示すが、PTFE は細胞接着性が低い。CMC も低濃度 (0.5 wt%) だと高い細胞接着性を示すが、CMC の濃度を 2.0 wt% に上げることで低下することがわかった (図4A)。また、積層する CMC は厚み比例して 2.6 mm で最も細胞接着性が低下し PTFE と同程度だった (図4B)。図3は、Wang, Y, et al. Carbohydrate Polymers 2022;285:119223 より引用、改変したものである。

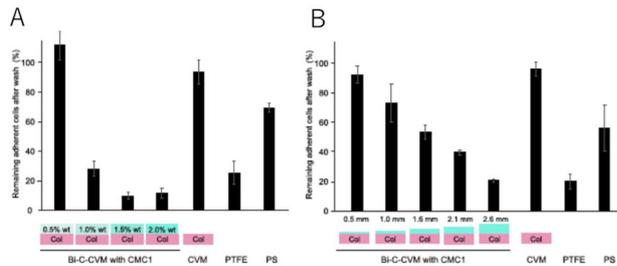


図4. 細胞接着能 (A:CMC濃度変化、B:CMC量変化)
Wang, Y, et al. Carbohydrate Polymers 2022;285:119223より引用、改変

(4) 特性検討

2.0 wt% および 2.6 mm の CMC の条件で 作成した Bi-C-CVM の引張強度を測定した。Collagen のみと Bi-C-CVM では差がなかったが、collagen のみで collagen 層の厚みを 2 倍に増やすと引張強度が増すことがわかった。したがって、collagen 層を 10 倍にした Bi-C-CVM を調べたところ、ブタ血管と同程度の引張強度を示した (図5)。図5は、Wang, Y, et al. Carbohydrate Polymers 2022;285:119223 より引用、改変したものである。

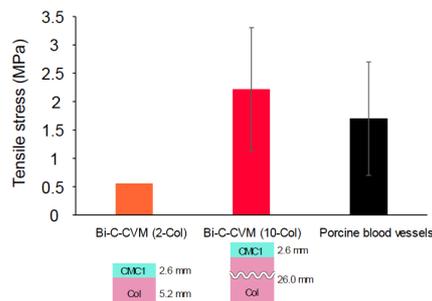


図5. 引張強度

Wang, Y, et al. Carbohydrate Polymers 2022;285:119223より引用、改変

また、Bi-C-CVM をガラス棒に巻きつけガラス化、再水和をすることで、内径 6mm の管腔構造を構築できることも確認できたため、以上の結果から Bi-C-CVM は小口径人工血管として応用できる可能性が示唆された。

Bi-C-CVM は生体由来産物フリーで安全性が担保されている生体吸収性ポリマーである。加えて、本材料は強度や物性、表面加工の操作性に優れるため、代用心膜や人工弁の弁尖、組織修復シート等の手術材料への応用も期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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