

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591867

研究課題名(和文) 組織工学と幹細胞研究を融合させた新規自己細胞由来人工血管による再生医療

研究課題名(英文) Next generation prosthetic vascular graft with small diameters developed using new tissue engineering technology

研究代表者

蒲原 啓司 (Kamohara, Keiji)

佐賀大学・医学部・講師

研究者番号：70555086

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：我々は自己の細胞のみで任意の形状の立体細胞構造体を構築する組織工学の新技术を開発してきた。細胞本来がもつ凝集能力によって形成される3次元培養での細胞凝集塊 = スフェロイドを作成し、そのスフェロイドを一つの単位としてロボットを用いて複雑な立体細胞構造体を構築する技術である。これまで我々はヒト血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、繊維芽細胞を用いて、ヌードラット腹部大動脈(口径1.5mm)、ウサギ頸動脈(口径2mm)に移植可能な血管様構造体の作成に成功した。移植後の病理組織学的検査において、血管構造体の内腔を被覆するVWF陽性の血管内皮細胞を認めた。

研究成果の概要(英文)：We developed a new tissue engineering technology that enables the creation of a three-dimensional cellular structure with any shape using only cells. In this technology, a three-dimensional culture is generated using the natural aggregating ability of cells, focusing on cell aggregates (spheroids). A robot (Scaffold-free 3D BioFabrication system) constructs a complex three-dimensional structure using a cell aggregate (spheroid) as one unit. We used these cell aggregates to successfully create vascular structures which were transplantable into abdominal aortas (1-1.5 mm diameters) in nude mice. In the acute phase after transplantation, the patency of vascular structures was verified. Histopathological examination showed that the lumens of vascular structures were covered with vascular endothelial cells that were positive for the von Willebrand factor.

研究分野：再生医療

科研費の分科・細目：外科系臨床医学、外科学一般

キーワード：再生医療 人工臓器 人工血管

1. 研究開始当初の背景

重症下肢虚血疾患に対する血行再建術、維持透析患者に対するシャント造設術など、近年の糖尿病患者数、新規維持透析患者数の増加に伴い人工血管を使用した手術は未だニーズの高いものと考えられる。現行する人工血管は、様々な研究により開存性の向上をもたらす手術成績は改善しているものの、血栓、感染など解決すべき課題は多く残されている。1998年のES細胞(胚性幹細胞)の発見、および2007年京都大学山中らのiPS細胞(人工多能性幹細胞)の発見により、再生医療および組織工学が注目され日本においては国家規模で研究推進がなされている。血管領域では組織工学を用いて自己の細胞のみで血管を形成しシャント造設に応用する技術が報告されているが、ポリマー等の異物を鋳型(scaffold)として使用したり、シリコン等を皮下に埋め込む必要があるなど、血管内皮細胞を内腔に有するような血管本来の組織構造を持った移植に足る人工血管の開発は途上の段階である。iPS細胞などの幹細胞は無限の増殖能とあらゆる種類の細胞への分化能を獲得した細胞であり、ES細胞が受精卵をいったん破壊するという倫理的問題を解決する再生医療の画期的ソースとして注目され、血管内皮細胞、平滑筋細胞などの循環器系組織細胞への分化法の報告も数多くなされている。我々は、本来ほとんどの細胞が有する接着能を利用したスフェロイド形成およびスフェロイド同士が接着融合するという性質を利用し、scaffold(ポリマー等の外来異物となる足場)を使用せずに任意の細胞のみから形成される複雑な立体構造体を作成する技術を開発した。

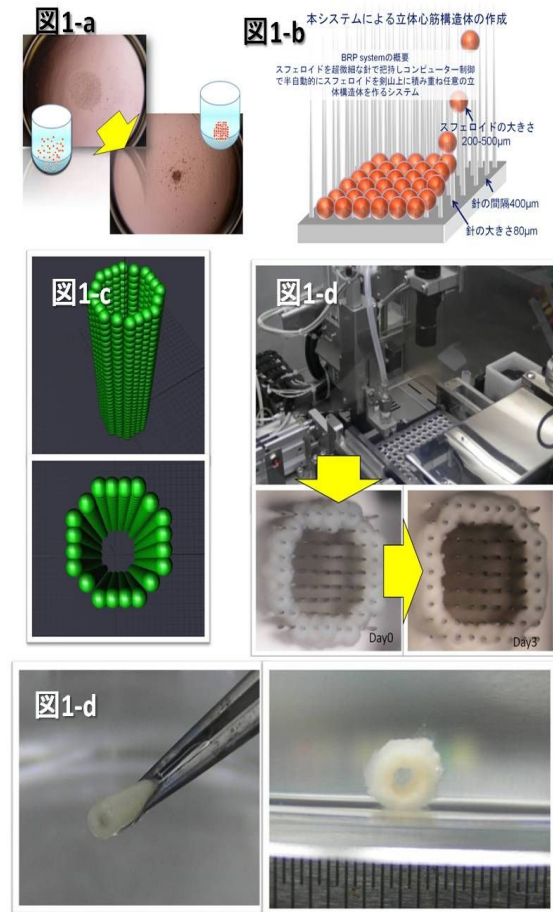
2. 研究の目的

血管外科領域では増加し続ける糖尿病患者、透析患者に対するシャント造設、下肢血行再建等に対し主に人工血管が使用されており、組織工学を利用した抗血栓性、抗感染性などを有した人工血管の開発・実用化は未だ途上の段階である。京都大学山中らが発見したiPS細胞などの幹細胞は血管平滑筋、血管内皮細胞などに分化可能であることが報告されており世界的に研究が進行中である。一方我々は自己の細胞のみで任意の立体細胞構造体を構築する組織工学の新技術を開発しており徐々に国内外の評価を受けつつある。本技術および幹細胞研究を血管再生に応用し、細胞のみで構成した、抗免疫性、抗感染性、抗血栓性等、従来的人工血管では未解決の問題をクリアする細径人工血管の開発を目的とする。

3. 研究の方法

生体からの血管平滑筋細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞など血管形成に必要な細胞の分化、増殖、共培養などについて最適な条

件検討を行う。血管構造体の形状、耐久性などの研究：ハイブリッド型血管の研究がいくつか先行しているため、我々も彼らの解析項目に準じてデータの集積を重ねる。得られた培養環境で血管構造体を作成しする。(図1-a~d)



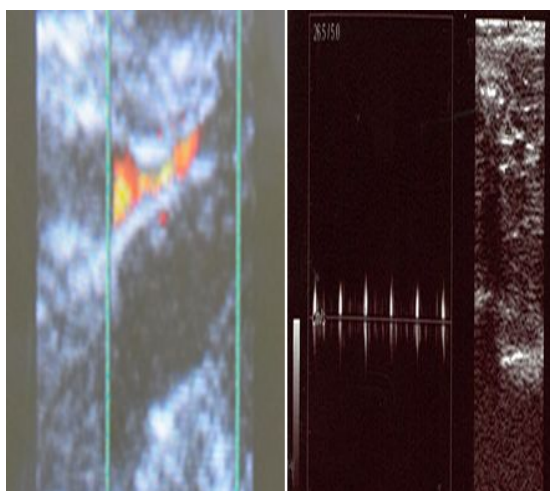
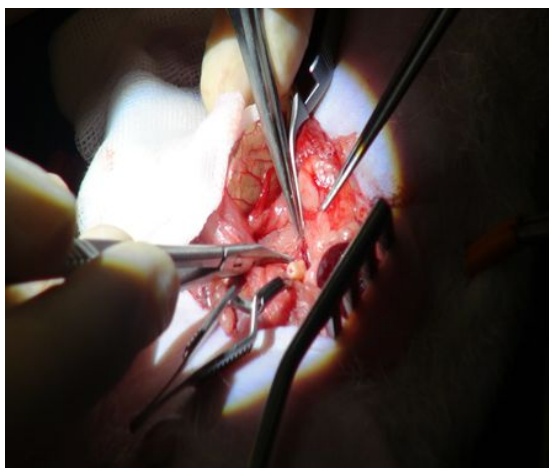
その後、張力試験などの力学的評価を行い、動物に移植する(図2)。(図2)



4. 研究成果

これまで我々はヒト血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、繊維芽細胞を用いて、ヌードラット腹部大動脈(口径 1.5mm)、ウサギ頸動脈(口径 2mm)に移植可能な血管様構造体の作成に成功した(図2)

図2

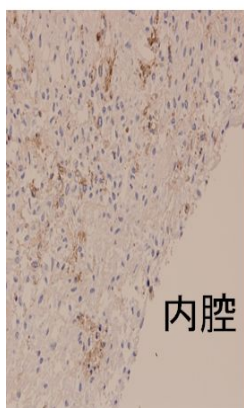


移植前の張力試験や組織学的評価を行いながら、バイオリアクターのより良い灌流方法の検討、移植前後の組織学的評価を行った。移植後の病理組織学的検査において、血管構造体の内腔を被覆するVWF陽性の血管内皮細胞を認めた。(図3)

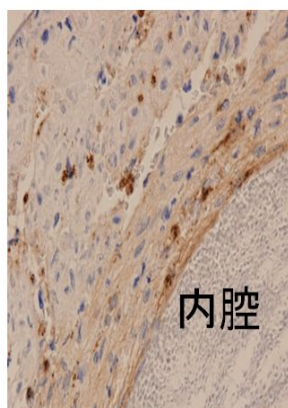
図3

移植前

移植後



内腔



内腔

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

森田茂樹、野口亮、野出孝一、中山功一：再生医療による人工臓器研究の最近の進歩：Scaffold free の心臓・血管組織の構築、人工器 査読なし 41.3.168-171.2012

〔学会発表〕(計5件)

第115回日本循環器九州地方会(佐賀) 2013年12月7日、新規組織工学技術を用いた小口径人工血管の開発 伊藤学、蒲原啓司

第一回 細胞凝集研究会(福岡) 2013年11月8日 細胞凝集塊積層装置を用いた小口径血管の開発 伊藤学、蒲原啓司

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称：心臓又は血管組織型スフェロイド

発明者：森田茂樹、野口亮

権利者：佐賀大学

種類：特許

番号：特願 2013-053037

出願年月日：2013年3月15日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

蒲原 啓司 (KAMOHARA KEIJI)

佐賀大学・医学部・講師

研究者番号：70555086

(2)研究分担者

森田 茂樹 (MORITA SHIGEKI)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：70243938

(3)研究分担者

野出 孝一 (NODE KOUICHI)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：80359950

(4)研究分担者

中山 功一 (NAKAYAMA KOUICHI)

佐賀大学・工学系研究科・教授

研究者番号：50420609

(5) 研究分担者

野口 亮 (NOGUCHI RYO)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：70530187