

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：84404

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670622

研究課題名(和文)自己組織由来心臓弁(バイオバルブステント)によるカテーテル的移植の可能性の検討

研究課題名(英文)The feasibility study of a novel autologous heart valve (biovalve stent)

研究代表者

武輪 能明(Takewa, Yoshiaki)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号：20332405

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：われわれが開発中のバイオバルブ人工組織体は、動物体内をリアクターとして、高分子製鋳型を皮下に1～2ヶ月埋入することで自動的に形成される自己組織体である。本研究では、この技術を用いて作製した自己組織由来心臓弁(バイオバルブ)とステントを組み合わせたバイオバルブステントを開発し、低侵襲的な、経カテーテル的挿入法を用いて大動脈弁位および肺動脈弁位に移植可能かどうか検討した。その結果手術では、カテーテル手技によりバイオバルブステントの移植が可能であった。また、挿入後弁は良好に機能し、最長1年を超えて問題なく経過した。以上より、バイオバルブステントは次世代の心臓代用弁として有用となる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：We are developing a novel autologous heart valve (biovalve), using in-body tissue engineering which is based on a tissue encapsulation phenomenon in the living body. Recently percutaneous trans catheter valve implantation is clinically used with stent valves. We developed a stent biovalve which consists of biovalve and a metallic stent in order to achieve both easiness of application and better biocompatibility. In this study, a feasibility of the stent biovalve for transcatheter implantation was evaluated in a large animal model. Stent biovalve was made from autologous connective tissues and metallic stent. Stent biovalves were successfully implanted in the aortic and pulmonary arterial position. Biovalves kept their function over 12 months. The stent biovalves satisfied the higher requirements of systemic and pulmonary circulation and have a potential as next generation valvular substitutes.

研究分野：人工臓器

キーワード：ステントバルブ TAVI 経皮的な心臓弁置換 自己組織由来心臓弁

1. 研究開始当初の背景

重度の弁膜症に対する弁置換術に用いられる人工弁には機械弁、生体弁があるが、機械弁における抗凝固療法の必要性や生体弁の低い耐久性といった問題や、小児への移植における成長の問題があるため、以前より自己細胞による組織工学が注目され、最近では生分解性ポリマーに自家細胞播種を組み合わせたハイブリッド型の心臓代用弁が開発され、特に小児の右心系などの低圧系で臨床応用が進められているが、左心系などの高圧系での応用は破裂や瘤化のため困難とされ、高度耐圧性を有した自己由来心臓弁の開発が強く望まれている。また、一方で、最近ではステントと組み合わせられたステントバルブを用いて経カテーテル的に挿入することで、低侵襲的に弁挿入術が可能となり、特に手術が不可能かまたは、危険性が高い高齢者に対しての心臓弁手術が増加している。

2. 研究の目的

我々は人工物を体内に留置した際に起こる結合組織によるカプセル化反応を組織工学に応用し、皮下などの体内を組織構築の場(バイオリアクター)にして自己組織からなる移植片を作製するという新しい生体内組織形成技術(In body tissue architecture technology)を開発している。本研究では、この技術を用いて作製したバイオバルブとステントを組み合わせたバイオバルブステントを開発し、低侵襲的な、経カテーテル的挿入法を用いて大動脈弁位や肺動脈弁位に移植可能かどうかを検討することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 大動物の体内を組織構築の場(バイオリアクター)にしてバイオバルブと金属ステントを組み合わせて作成することが可能かどうかを、高分子製鋳型に金属ステントを組み込んだものを皮下に複数個埋入し、異なった期間で摘出し、埋入期間と組織体の形成能の関係を調べた。

(2) 摘出したステントバルブの耐圧性および流量性能をモック回路による模擬循環装置に装着し、*in vitro*で評価した。

(3) 適切な期間埋入して摘出したバイオバルブステントを用いてカテーテル手技により、大動物に移植可能かを評価した。その後慢性実験に移行し、動脈圧の負荷がかかる状態でバイオバルブの性能を1ヶ月以上継続的に評価した。弁の経時的な機能は、血管造影および超音波エコー検査(カラードプラおよび3次元立体画像を含む)を用いて行い、動脈圧および血流量を持続的にモニタリングした。その後、バイオバルブを摘出し、肉眼的および内視鏡的観察ならびに組織学的検討を行った。

4. 研究成果

初年度はバイオバルブと金属ステントを組み合わせたバイオバルブステントの作製が可能かどうか調べた。

(1) 大動物皮下でのバイオバルブステント作製用鋳型埋入期間と組織体の形成能の評価実験方法:成ヤギを麻酔下、手術的にバイオバルブ作製用鋳型に金属ステントを組み込んだものを複数個皮下に埋入した。1-2ヶ月後に周囲に形成された皮下組織体と共に作製用鋳型を取り出し、組織、力学的性質、機能性を評価し、埋入期間と組織体の形成能の関係を調べた。その結果、皮下埋入後6-8週間で、3枚の弁葉とステントが一体となった組織体が形成されることが確認できた。

採取した組織体の組織学的性状を組織染色(HE,エラスチカファンギオン,マッソントリクロム, SMA 染色)で観察したところ、厚さ約200umの膠原線維と線維芽細胞を主とする組織で形成されていることが確認された。

(2) 摘出したバイオバルブステントの模擬循環装置による*in vitro*評価

摘出したバイオバルブステントの力学的性質を、モック回路を用いた模擬体循環回路にて検討したところ、体循環に近い循環動態(血圧、流量、心拍数等)にて、十分な耐用性を有していることが示された。

(3) 大動物を用いた、大動脈系自家移植慢性実験による長期性能評価

次年度と最終年度は、成ヤギに麻酔下、手術的にバイオバルブ作製用鋳型に金属ステントを組み込んだものを複数個皮下に埋入した。約2ヶ月後に周囲に形成された皮下組織体を鋳型と共に取り出し、鋳型のみ削除しバイオバルブステントを得た。これを用いて経カテーテル的大動脈および肺動脈移植法(TAVI or TPVI)(Apical approach)により、成ヤギの大動脈または肺動脈に移植した。その後慢性実験に移行し、動脈圧または肺動脈圧の負荷がかかる状態でバイオバルブの性能を1-6ヶ月間継続的に評価した。

移植手術では、バイオバルブステントの位置合わせに時間と技術を要したが、全例ともカテーテルにより移植が可能であった。しかし、一部は、自己弁とバイオバルブステントの弁輪径のミスマッチによりステントが移動し、術当日に死亡した。TAVIの1例は術後32日間問題なく経過したが、ステントが原因と思われる僧帽弁腱索一部断裂により死亡した。TPVIの2例は術後問題なく経過し、1例は6ヶ月を超えた190日目まで計画的に実験を終了した。残り1例も最長1年を超えて問題なく経過した。以上より、自己組織由来心臓弁(バイオバルブ)とステントを組み合わせで開発したバイオバルブステントは、低侵襲的な経カテーテル的挿入法で留置可能であることが示された。長期安定して留置するには、自己弁と移植弁の弁輪径を合わせてベストポジションに留置することが肝要であると考えられた。以上より、バイオバルブステント

は次世代の心臓代用弁として有用となる可能性が示された。

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 6 件)

- 1) Sumikura H, Nakayama Y, Ohnuma K, Takewa Y, Tatsumi E. Development of a stent-biovalve with round-shaped leaflets: in vitro hydrodynamic evaluation for transcatheter pulmonary valve implantation (TPVI). J Artif Organs. 2016 Dec;19(4):357-363.
- 2) Sumikura H, Nakayama Y, Ohnuma K, Kishimoto S, Takewa Y, Tatsumi E. In vitro hydrodynamic evaluation of a biovalve with stent (tubular leaflet type) for transcatheter pulmonary valve implantation. J Artif Organs. 2015 Dec;18(4):307-14. doi: 10.1007/s10047-015-0851-z.
- 3) Funayama M, Sumikura H, Takewa Y, Tatsumi E, Nakayama Y. Development of self-expanding valved stents with autologous tubular leaflet tissues for transcatheter valve implantation. J Artif Organs. 2015 Sep;18(3):228-35. doi: 10.1007/s10047-015-0820-6.
- 4) Kishimoto S, Takewa Y, Nakayama Y, Date K, Sumikura H, Moriwaki T, Nishimura M, Tatsumi E. Sutureless aortic valve replacement using a novel autologous tissue heart valve with stent (stent biovalve): proof of concept. J Artif Organs. 2015 Jun;18(2):185-90. doi: 10.1007/s10047-015-0817-1.
- 5) Mizuno T, Takewa Y, Sumikura H, Ohnuma K, Moriwaki T, Yamanami M, Oie T, Tatsumi E, Uechi M, Nakayama Y. Preparation of an autologous heart valve with a stent (stent-biovalve) using the stent eversion method. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2014 Jul;102(5):1038-45. doi: 10.1002/jbm.b.33086.
- 6) Sumikura H, Nakayama Y, Ohnuma K, Takewa Y, Tatsumi E. In vitro evaluation of a novel autologous aortic valve (biovalve) with a pulsatile circulation circuit. Artif Organs. 2014 Apr;38(4):282-9. doi: 10.1111/aor.12173

〔学会発表〕(計 17 件)

- 1) 武輪能明, 中山泰秀, 住倉博仁, 飯塚 慶, 秋山大地, 片桐伸将, 竹下大輔, 妙中義之, 巽 英介 自家組織からなる心臓弁の長期移植評価と組織学的検討 第 16

回日本再生医療学会総会 2017 年 03 月 07 日~2017 年 03 月 09 日 仙台

- 2) 武輪能明, 中山泰秀, 住倉博仁, 飯塚 慶, 秋山大地, 妙中義之, 巽 英介 成長に対応可能な心臓血管外科手術用グラフトの開発 第 47 回日本心臓血管外科学会学術総会 2017 年 02 月 27 日~2017 年 03 月 01 日 東京
- 3) 武輪能明, 中山泰秀, 住倉博仁, 飯塚 慶, 秋山大地, 片桐伸将, 竹下大輔, 小崎智史, 妙中義之, 巽 英介 バイオバルブ心臓弁の長期移植評価と生きたグラフとしての可能性の検討 第 54 回日本人工臓器学会大会 2016 年 11 月 23 日~2016 年 11 月 25 日 米子
- 4) Takewa Y, Nakayama Y, Sumikura H, Naito N, Iizuka K, Kanda E, Tatsumi E. A novel autologous heart valve with growth potential. European Society of Cardiology Congress 2016 (国際学会) 2016 年 08 月 27 日~2016 年 08 月 31 日 ローマ
- 5) Takewa Y, Nakayama Y, Sumikura H, Iizuka K, Akiyama D, Tatsumi E. A novel autologous heart valve with in-body tissue engineering. Annual Conference of the Asia-Pacific Society for Artificial Organs. (国際学会) 2016 年 08 月 27 日~2016 年 08 月 27 日 天津
- 6) Takewa Y, Nakayama Y, Sumikura H, Naito N, Iizuka K, Tatsumi E. A feasibility study of a novel autologous heart valve. American Society for Artificial Internal Organs (国際学会) 2016 年 06 月 15 日~2016 年 06 月 18 日 サンフランシスコ
- 7) Takewa Y, Nakayama Y, Sumikura H, Naito N, Tatsumi E. A novel autologous heart valve with growth potential. The Heart Valve Society Annual Meeting (国際学会) 2016 年 03 月 17 日~2016 年 03 月 19 日 ニューヨーク
- 8) Takewa Y. Development of a novel autologous heart valve(biovalve) with in-body tissue engineering method. 2015 European International Society for Applied Cardiovascular biology Meeting (国際学会) 2015 年 12 月 03 日~2015 年 12 月 05 日 ニュルンベルグ
- 9) 武輪能明, 中山泰秀, 内藤敬嗣, 住倉博仁, 竹下大輔, 飯塚 慶, 田中孝晴, 妙中義之, 巽 英介 将来有望な自己組織からなる生体弁の開発研究 日本人工臓器学会大会 (53)2015 年 11 月 19 日~2015 年 11 月 21 日 東京
- 10) Sumikura H, Nakayama Y, Ohnuma K, Takewa Y, Tatsumi E. Improvement and evaluation of biovalve with stent for transcatheter pulmonary valve implantation. Annual European Society

- for Artificial Organs Congress (国際学会) 2015年09月02日~2015年09月05日ルーベン
- 11) Takewa Y, Nakayama Y, Sumikura H, Naito N, Kanada K, Tajikawa T, Tanaka T, Tatsumi E. Development of a tailor made valve with autologous tissue. Annual European Society for Artificial Organs Congress (国際学会) 2015年09月02日~2015年09月05日ルーベン
- 12) Takewa Y, Nakayama Y, Sumikura H, Naito N, Kanada K, Tajikawa T, Tanaka T, Tatsumi E. A tailor made valve surgery with a novel autologous bioprosthesis. European Society of Cardiology Congress 2015 (国際学会) 2015年08月29日~2015年09月02日ロンドン
- 13) 武輪能明 バイオバルブ開発の近況報告 生体再生技術研究会 (11) 2015年04月10日~2015年04月11日 東京
- 14) 武輪能明, 中山泰秀, 岸本 諭, 内藤敬嗣, 住倉博仁, 神田圭一, 田地川 勉, 田中孝晴, 妙中義之, 巽 英介 皮下で作成した自家組織からなる心臓弁の長期慢性動物試験ならびにその組織学的検討 日本再生医療学会 2015年03月19日~2015年03月21日 横浜
- 15) 武輪能明, 中山泰秀, 岸本 諭, 伊達数馬, 住倉博仁, 神田圭一, 田地川 勉, 田中孝晴, 妙中義之, 巽 英介 生体内組織形成術による次世代型自家組織心臓弁の開発 日本人工臓器学会 2014年10月17日~2014年10月19日 札幌
- 16) 武輪能明, 中山泰秀, 岸本 諭, 伊達数馬, 住倉博仁, 神田圭一, 田地川 勉, 田中孝晴, 妙中義之, 巽 英介 自己組織からなる心臓弁 (Biovalve) の開発 日本胸部外科学会 2014年09月30日~2014年10月03日 博多
- 17) Takewa Y, Nakayama Y, Sumikura H, Kishimoto S, Date K, Wieloch R, Kanada K, Tajikawa T, Tanaka T, Tatsumi E. Key factors to develop histogenesis in a novel autologous heart valve implantation. ESC (European Society of Cardiology, 欧州心臓病学会) 2014年08月30日~2014年09月03日バルセロナ

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 2 件)

名称: ステントおよびステント付き人工弁
 発明者: 中山泰秀、武輪能明、大野正順、田中孝晴、野村由美子
 権利者: 同上
 種類: 特願
 番号: 2013-010954

出願年月日: 2013.1.24
 国内外の別: 国内

名称: ステントおよびステント付き人工弁
 発明者: 中山泰秀、武輪能明、大野正順、田中孝晴、野村由美子
 権利者: 同上
 種類: 特願
 番号: PCT/JP2013/084891
 出願年月日: 2013.12.26
 国内外の別: 国外

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武輪 能明 (TAKEWA, Yoshiaki)
 国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長
 研究者番号: 20332405

(3) 連携研究者

巽 英介 (TATSUMI, Eisuke)
 国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・部長
 研究者番号: 00216996

中山 泰秀 (NAKAYAMA, Yasuhide)
 国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長
 研究者番号: 50250262

住倉 博仁 (SUMIKURA, Hirohito)
 国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・特任研究員
 研究者番号: 20433998