

課題番号 70

複雑形状を有する生体組織心臓弁の安定的作製法の開発

[1] 組織

代表者：井上 雄介
(旭川医科大学先進医工学研究センター)
対応者：山家 智之
(東北大学加齢医学研究所)
白石 泰之
(東北大学加齢医学研究所)
山田 昭博
(東北大学加齢医学研究所)
分担者：武輪 能明
(旭川医科大学先進医工学研究センター)
寺澤 武
(旭川医科大学先進医工学研究センター)
佐藤 康史
(旭川医科大学先進医工学研究センター)

研究費：物件費 13 万円

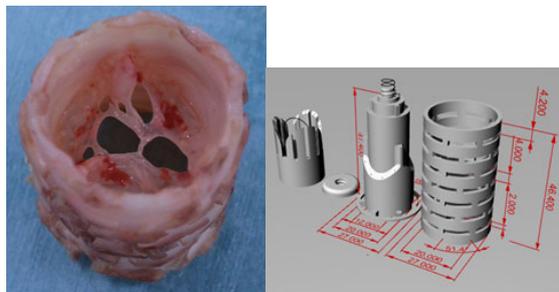
[2] 研究経過

【背景】われわれは、心臓血管外科領域で、心臓弁の再建手術に使用する生体人工弁を、組織工学の技術を用いて開発している。この弁は従来の機械弁における抗凝固療法の実施の必要性や易感染性の問題、および生体弁の持つ免疫原性や低い耐久性といった問題を克服し、将来多くの利点を持つ代替弁として臨床応用され、弁膜疾患治療成績の飛躍的な向上と症例の増加ならびに患者の Quality of life の向上が期待される。本研究で作製している弁は中山らが提唱している「生体内組織形成術」を用いており、異物に対してコラーゲンのカプセルが覆う生体反応を利用している。これまでにマウスからヤギまでの様々なサイズの動物の背部皮下に鋳型の埋入を行ったが、いずれでも約4週間後には組織体を形成したと報告されている。結合組織体の細胞成分は主に線維芽細胞であり、炎症性細胞はほとんど認めない。本技術を応用して、シート、血管、弁などなど主に循環器系組織体の開発を行ってきた。

【課題・目的】鋳型を生体内に埋め込み、間隙に生体組織を誘導する本手法では、十分な期間を費やしても、血管が豊富でコラーゲン量が少ないか、組織厚みが設定した厚みより薄くなってしまふ事などがあり、作製上の歩留りが100%ではないことが課題となっている。生体組織の誘導に関わるパラメータ

としては、ドナーの年齢・食べ物・季節など多くの外的要因も指摘されているが、実際に患者に適用する事を考えるとそれらの要素は改善が難しいため、鋳型に関連するものに限定して着手することとした。本研究は複雑な形状を有する心臓弁を生体内組織形成術を用いて歩留まりよく安定に作製できる鋳型を開発することを目的とした。

旭川医科大学と東北大学は距離が離れているが、オンラインミーティングと人工臓器学会大会において、相互に研究打ち合わせを行い、課題解決を進めてきた。



図(上) 弁葉が形成不全になった例
(下) 皮下に植え込んで生体組織を誘導する鋳型の3D設計図面

[3] 成果

(3-1) 研究成果

鋳型の最適設計: 生体組織伸長可能距離の最適化

食食できない鋳型をコラーゲンによって包み込む現象がカプセル化現象であるが、複雑な形状を内部に持つ心臓弁の鋳型は弁葉部までカプセル化せずとも、鋳型を包み込むようにコラーゲンで覆われれば、異物反応が生じにくくなるため、その時点でカプセル化の速度が低下する可能性が考えられる。そこで生体組織誘導口から最も遠い弁葉までの生体組織伸長の距離を可能な限り短くしつつ、心臓弁としての機能を損なわない厚みとサイズを有する弁葉の鋳型を設計した。

また誘導する生体組織の厚みは鋳型内の間隙によって決定されるが、その材料の表面性状によっても影響を受けると言われている。鋳型の間隙部分の表面粗さを変更して、誘導される生体組織の変化を確認した。

2年目となる今年度は1例の動物実験によって弁

の作製を行った。金属ステントや高分子の足場に関しては昨年度と同様のものを使用したが、本研究の主目的である弁葉部の形成の歩留まりを上げるために改変を行った。これまでは弁葉部は鋳型による空隙だけを形成し、その空隙に生体組織を誘導してきた。導管部の形成は安定しており、形成される組織の厚みの均一性や強度が問題となることはなかったが、弁葉部は形成される組織の厚みや形状に安定さを欠くことがあった。考えら得る要因は細胞誘導孔からの距離が導管に比べて長いこと、複雑形状であることが考えられた。IBTA 技術の基本であるカプセル化反応は、異物を生体組織で包含し、生体への影響を低減させるものであるため、防御反応として鋳型の内部に対しては生体組織を誘導する必要が無いためである可能性が考えられた。そこで、以前の研究では鋳型にニコチンなどの徐放性のある薬剤を含浸させることで、カプセル化反応を促す試みが報告されている (Sakai, O. Faster and stronger vascular "Biotube" graft fabrication in vivo using a novel nicotine-containing mold. J of Biomater Res, 90(1), 412-420. 2009)。この観点から我々も弁葉部空隙に様々な足場を追加することで生体組織の誘導を促す方法を起草した。使用した足場材は次の通りである。

1. 全血
2. 血漿
3. フィブリノゲン製剤
4. ポリグリコール酸不織布
5. 空隙 (Control)

上記5種について、皮下埋込の前に鋳型空隙に充填し、脱気した上で凝固させてから皮下に埋込を行った。

現在皮下埋込を行い、3ヶ月後に摘出して、弁葉部に形成された組織を評価する予定である。

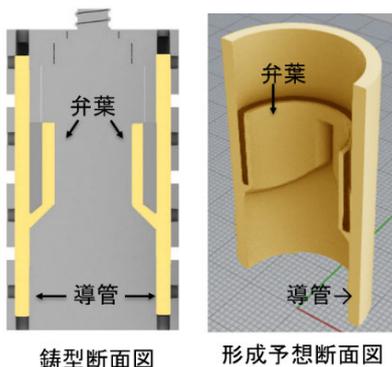


図. 鋳型空隙部に各種足場を充填し脱気して凝固させた埋込サンプル



図. 動物の皮下に埋込込まれたバイオバルブの鋳型

(3-2) 波及効果と発展性など

東北大学加齢医学研究所と旭川医科大学先進医工学研究センターは各々の研究者が人工臓器の研究における大動物試験や *in vitro* 試験に必要な豊富な経験と知識を有しており、すでに今回の研究に有意義な意見を交換できる状況にある。心臓病電子医学分野・非臨床試験推進分野は、人工心臓や人工弁の評価などに用いるモック循環回路や知見を広く有しており、本研究を推進する上で必要不可欠な存在である。

[4] 成果資料

成果報告できる内容はまだ無い。