

内皮細胞誘導ペプチドを内腔に固定化した脱細胞小口径人工血管の開発と大腿動脈バイパス手術への応用

¹ 国立循環器病研究センター研究所生体医工学部, ² 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科, ³ 関西大学大学院理工学部, ⁴ 大阪工業大学大学院生体医工学専攻

○馬原 淳¹, 染川 将太^{1,2}, 小林 直樹³, 平野 義明³, 木村良晴², 藤里 俊哉⁴, 山岡 哲二¹

【緒言】合成高分子材料から作製される内径が 4mm 以下の小口径人工血管は、血栓形成による早期の閉塞の為実用化されていない。このため臨床では、患者自身の正常な自家血管をバイパスグラフトとして用いるが、患者に対して侵襲的であり必ずしも望まれる自家血管は採取できない。これまでに当センターでは、超高压処理技術を応用した新規脱細胞化法を開発し、中・大口径の脱細胞化人工血管の作製とミニブタを用いた大動物試験について検討した。脱細胞化組織を用いた小口径血管の開発では、血圧に十分に耐えうる機械的特性と共に早期内皮化による自家組織の構築が極めて重要である。そこで本研究では、走鳥類の頸動脈を超高压処理により脱細胞化処理したものを人工血管のマトリックスとして、内腔面に内皮細胞誘導ペプチドを固定化した脱細胞化血管を作製した。発表では、開発した脱細胞化人工血管グラフトの機械的特性ならびに、内皮化誘導ペプチドの固定化についての結果を報告する。また、内径 2mm, 長さ 20-30cm の脱細胞化人工血管を大腿動脈-大腿動脈交叉バイパス術 (FF bypass) によりミニブタの大腿動脈へ移植し、開存性ならびに組織再生について検討した結果についても併せて報告する。

【実験】ダチョウの頸動脈から採取した血管 (内径 2mm, 長さ 90cm 程度) を 1000Ma, 10 分施圧し、その後洗浄過程を経ることで脱細胞化血管のマトリックスを作製した。(POG) γ -GGG-REDV 配列をもつペプチド水溶液に脱細胞化血管を浸漬し、60°C で 1 時間インキュベート後、徐冷することで脱細胞化組織内腔に対してペプチドを固定化した。脱細胞化血管の機械的特性を評価するため、引張試験により Stress-Strain (S-S) curve により弾性率を評価した。また標識ペプチドを用いて、脱細胞化組織に固定化されたペプチドの分布や量について共焦点レーザー顕微鏡により評価した。次いで、ミニブタの左大腿動脈へ端側吻合により作製した脱細胞化人工血管 (長さ 20-30cm) を吻合し、右大腿動脈の近位を遮断後遠位側へ人工を吻合して血流を非組織学的に FF bypass として移植した。移植直後の血流はレーザードップラー血流計により評価した。移植 10~20 日までに、超音波診断、IVAUS, 血管内視鏡、ならびに血管アンギオグラフィーにより開存性を評価し、摘出後のバイパスグラフトを観察した。

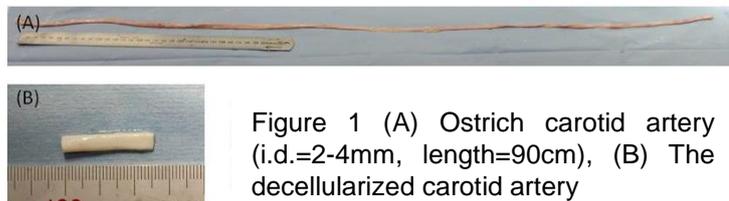


Figure 1 (A) Ostrich carotid artery (i.d.=2-4mm, length=90cm), (B) The decellularized carotid artery

【結果と考察】作製した脱細胞化小口径人工血管の S-S curve から強度を測定した結果、超高压処理やペプチド固定化処理によらず 1.4MPa 程度の破断強度を示した。また、蛍光標識ペプチドにより固定化ペプチドを観察した結果、内腔面から脱細胞組織内部へ 40-50 μ m 程度ペプチドが浸潤し固定化されていることが示された。これにより内皮細胞を選択的に界面へ結合させることも in vitro において認めている。次いで FF bypass により脱細胞化小口径血管を移植し開存性を評価した結果、ペプチド固定化血管においては、良好な開存を血管内視鏡、アンギオグラフィー、超音波エコーならびに IVUS により認めた。一方で、ペプチドを固定していない血管では、移植後早期 (7 日以内) に血栓形成により閉塞した。以上の結果より、開発した小口径人工血管は、臨床でも応用可能な新たな組織再生型バイパスグラフトとして有効である可能性を見出した。

Peptide modified small-caliber decellularized vascular graft for femoral bypass graft

Atsushi MAHARA¹, Shyota SOMEKAWA^{1,2}, Naoki KOBAYASHI^{1,3}, Yohiaki HIRANO³, Yoshiharu KIMURA², Toshiya FUJISATO⁴ and Tetsuji YAMAOKA¹

¹Department of Biomedical Engineering, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute,

²Department of Biobased Materials Science, Kyoto Institute of Technology ³Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering, Kansai University, ⁴Department of Biomedical Engineering, Osaka Institute of Technology

Tel: +81-6-6833-5012 ext 2637, Fax: +81-6-6835-5476, E-mail: yamtet@ncvc.go.jp