

## Development of in vivo tissue-engineered microvascular grafts with an ultra small diameter of 0.6 mm (MicroBiotubes): acute phase evaluation by optical coherence tomography and magnetic resonance angiography



\*<sup>1</sup>国立循環器病研究センター研究所医工学材料研究室, \*<sup>2</sup>広島大学大学院医歯薬保健学研究科脳神経外科学, \*<sup>3</sup>国立循環器病研究センター脳神経外科, \*<sup>4</sup>国立循環器病研究センター研究所画像診断医学部, \*<sup>5</sup>国立循環器病研究センター病理部, \*<sup>6</sup>パナソニックヘルスケア株式会社

石井 大造\*<sup>2</sup>, 圓見 純一郎\*<sup>4</sup>, 森脇 健司\*<sup>1</sup>, 植田 初江\*<sup>5</sup>, 小林 真里\*<sup>6</sup>,  
岩名 信一\*<sup>6</sup>, 飯田 秀博\*<sup>4</sup>, 佐藤 徹\*<sup>3</sup>, 高橋 淳\*<sup>3</sup>, 栗栖 薫\*<sup>2</sup>, 中山 泰秀\*<sup>1</sup>

Daizo ISHII, Jun-ichiro ENMI, Takeshi MORIWAKI, Hatsue ISHIBASHI-UEDA, Mari KOBAYASHI, Shinichi IWANA, Hidehiro IIDA, Tetsu SATOW, Jun C. TAKAHASHI, Kaoru KURISU, Yasuhide NAKAYAMA

### 1. 目的

生体内組織形成術 (in body tissue architecture, IBTA) は、皮下をバイオリクターとして利用し目的形状の自家組織を鋳型に作製できる再生医療工学技術である。バイオチューブと名付けた管状組織体は血管や気管などとして<sup>1), 2)</sup>, シート状のバイオシートは心臓血管系の修復材などとして<sup>3)</sup>, さらにバイオバルブは三次元的な弁構造体として動物移植実験が行われ<sup>4)</sup>, それぞれ組織再生を認めている。内径5.6 mmの中口径バイオチューブ人工血管は既に臨床応用されており、透析患者の狭窄血管のバイパス治療に役立っている。一方、1 mm未満の超小口径人工血管に関しては、一般的な再生医療技術で作製することは困難であり、ほとんど報告例がない。

本研究では、IBTA技術を用いて内径0.6 mmの超小口径マイクロバイオチューブを作製した。ラットの大腿動脈に移植し、その急性期での開存性をoptical coherence tomography (OCT) と magnetic resonance angiography (MRA) で調べた。

### 2. 方法

#### 1) マイクロバイオチューブの作製

マイクロバイオチューブ作製の鋳型は、7本のステンレス芯をそれぞれシリコンチューブで被包し、これらをプラスチックで束ねて作製した。鋳型をラットの皮下に埋入し、2ヶ月後に周囲の結合組織とともに取り出した。余剰組織を除去して、鋳型のそれぞれの部材を取り除くことにより、内径0.6 mmの管状組織体としてマイクロバイオチューブを得た。

#### 2) マイクロバイオチューブの移植

顕微鏡下にラットの大腿動脈を露出し、マイクロクリップで中枢側、末梢側をそれぞれ遮断した後、その中間点で大腿動脈を切断した。切断された大腿動脈の間にinterpositionする形で、マイクロバイオチューブを移植した。吻合は10-0 nylon糸を使用して、stay sutureを2針、それぞれ両側に3針ずつ追加縫合を行い、合計8針で施行した。

#### 3) MRIおよびOCT撮影

OCT system (Prototype 2, パナソニックヘルスケア株式会社, 愛媛, 日本) を使用して、移植前後のマイクロバイオチューブの内腔形状を観察し、小動物用7-Tesla MRI (BioSpec 70/30 USR, Bruker BioSpin, Ettlingen, Germany) を用いて、移植1ヶ月後の血管形状を観察し、開存性を評価した。

本受賞レポートの対象論文はJ Artif Organ誌に掲載されています。Ishii D, Enmi J, Moriwaki T, et al. J Artif Organs **19**: 262-69, 2016

#### ■ 著者連絡先

広島大学大学院医歯薬保健学研究科脳神経外科学  
(〒734-8551 広島県広島市南区霞1-2-3)  
E-mail. daiishii@hiroshima-u.ac.jp

### 3. 結果

鋳型を皮下に埋入して2ヶ月後に取り出すと、それらは完全に自己結合組織で被包化されていた。鋳型を取り除いて得られたマイクロバイオチューブの壁には、いずれも損傷はなかった。OCTで移植前のマイクロバイオチューブを観察すると、その内径は設計通り ( $0.59 \pm 0.015$  mm) であった。burst pressureは  $4,190 \pm 1,117$  mmHgであり、生体血管以上の高い耐圧性を示した。

マイクロバイオチューブはラットの大腿動脈へ介在させる形で、端々吻合で移植した。マイクロバイオチューブの壁は薄いものの、顕著な脆弱性は認めず、通常のマイクロ操作で吻合は十分に可能であった。また移植後の再還流時に、マイクロバイオチューブの過度な拡張や破裂も認めなかった。移植直後の状態をOCTで確認すると、マイクロバイオチューブの内腔に明らかな血栓形成は認めなかった。

MRAによる評価では、移植後1ヶ月でのマイクロバイオチューブの開存率は83.3% ( $n = 6$ ) であった。また画像上、マイクロバイオチューブの明らかな狭窄や拡張を疑わせる所見はなかった。そこで我々はそれら移植片の1つを1ヶ月後に取り出し、病理学的評価を行った。マイクロバイオチューブの口径は維持され、内腔は平滑で血栓形成は認めなかった。また母血管側からマイクロバイオチューブ側へ、新生血管の増生も確認されたが、移植片に対する炎症細胞浸潤等、拒絶反応を示唆する所見は認めなかった。マイクロバイオチューブ壁はコラーゲン、エラスチン、血管内皮細胞からなる層構造が部分的に再構築され、母血管に近づきつつあった。

### 4. まとめ

マイクロバイオチューブは、ラットの大腿動脈への移植モデルにおいて、移植後1ヶ月の段階で83.3%という高い開存率を示した。また顕著な拒絶反応や、移植片の変形等の合併症も皆無であった。さらに移植後1ヶ月というきわめて早期の段階で、母血管に近い血管壁構造が再構築されつつあり、マイクロバイオチューブが持つ、移植後の高い

安定性と生着性を示した。本論文は急性期の結果に限られるが、本研究で1ヶ月後に開存していたバイオチューブの経過観察を続けており、現在ではラットの寿命に近い最長2年が経過している。驚くことにそれらは全て開存を維持している。バイオチューブを足場に1ヶ月でほぼ再生した血管組織は、超小口径であっても生涯にわたって自己血管として機能できることが期待される。

### 5. 独創性

マイクロバイオチューブは、移植の実現性が証明された世界最小径の人工血管と言える。特殊な機器を要することなく生体組織のみで作製が可能な点、また超小口径にもかかわらず、高い開存率と再生能を併せ持つ点が、独創性に富む点と考える。将来的には切断指の再接着やリンパ管の再建など、形成外科でのsuper-microsurgery領域での臨床応用が大いに期待され、さらに新たな血管外科治療の開拓にもつながると考えられる。

### 利益相反の開示

小林真里, 岩名信一: パナソニックヘルスケア株式会社  
職員

その他の著者には規定されたCOIはない。

### 文 献

- 1) Nakayama Y, Ishibashi-Ueda H, Takamizawa K: In vivo tissue-engineered small-caliber arterial graft prosthesis consisting of autologous tissue (biotube). *Cell Transplant* **13**: 439-49, 2004
- 2) Furukoshi M, Moriwaki T, Nakayama Y: Development of an in vivo tissue-engineered vascular graft with designed wall thickness (biotube type C) based on a novel caged mold. *J Artif Organs* **19**: 54-61, 2016
- 3) Takiyama N, Mizuno T, Iwai R, et al: In-body tissue-engineered collagenous connective tissue membranes (BIOSHEETS) for potential corneal stromal substitution. *J Tissue Eng Regen Med* **10**: E518-26, 2013
- 4) Nakayama Y, Takewa Y, Sumikura H, et al: In-body tissue-engineered aortic valve (Biovalve type VII) architecture based on 3D printer molding. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **103**: 1-11, 2015