

氏名 (本 (国) 籍)	田 中 隆 志 (東京都)
主指導教員氏名	東京農工大学 教授 田 中 綾
学 位 の 種 類	博士 (獣医学)
学 位 記 番 号	獣医博甲第 5 5 0 号
学位授与年月日	令和元年 9 月 2 0 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	東京農工大学
学 位 論 文 題 目	臨床応用に向けた小口径人工血管のシルクフィブロイン コーティング方法に関する研究
審 査 委 員	主査 東京農工大学 教授 打 出 毅 副査 帯広畜産大学 教授 山 岸 則 夫 副査 岩 手 大 学 准教授 片 山 泰 章 副査 東京農工大学 教授 田 中 綾 副査 岐 阜 大 学 准教授 神志那 弘 明

### 学位論文の内容の要旨

小口径人工血管は直径が 6 mm 未満の血管の代替として開発が進められているが、未だ臨床応用に至っていない。その原因として、人工血管に求められる適度な強度と分解性を決定付ける最適なコーティング処理方法が明らかとなっていないことが挙げられる。本学位論文は、この最適な人工血管コーティング処理方法について、物性試験、生体移植試験、病理学的検索を通し、多角的に検討している。

第 1 章では SF にグリセリン(Glyc)を混合させ人工血管にコーティングを施すことで、柔く分解されやすい人工血管を作製することを目指した。作製された人工血管の物性試験を行った後、ラットの腹部大動脈へ生体内移植を行い、病理組織学的検査を実施することで、リモデリング能力について評価した。物性試験における柔軟性についての評価では、従来の SF コーティングと比較し改善は認められなかったが、走査型電子顕微鏡による構造解析では Glyc 混合コーティングを施した人工血管はコーティング部分が多孔質になり、移植後、人工血管内に生体組織の侵入を促す構造を有することが明らかになった。しかしながら、生体への移植試験の結果、リモデリング能力については従来型と比べ有意な差は認められなかった。これは、人工血管にコーティングを施す際に行われるエタノール不溶化処理が SF 構造に影響を与え、硬く分解されにくい性質に変化したことが原因と考えられた。

第 2 章では、エタノールの代わりにポリエリレングリコール(PEG)、ポリエチレングリコールジグリシジルエーテル(PGDE)および Glyc を用いて不溶化を試みた。物性試験の結果から、従来のエタノールを用いた不溶化処理に比べ PGDE, Glyc を用いた不溶化処理は、より柔軟性のある人工血管の作出を可能にすることが明らかになった。また、PGDE, Glyc で処理した人工血管では、移植 3 ヶ月後において人工血管の中央部に至るまで全長にわたって内皮化が確認され、従来の方法で作製されたものに比べ優れたリモデリング能力が確認された。

第1章および第2章でSFのコーティング方法についての検討を行ったが、人工血管の基盤にもSFが素材として使用されていたため、得られた結果をSFコーティング方法の違いのみに由来した影響として捉えることはできない。そこで、第3章では基盤にポリエステル繊維を用いて、コーティングには第2章で良好な結果が得られたGlycで不溶化处理したSFを使用した。ラットの腹部大動脈へ移植した結果、移植後3ヶ月の時点で人工血管の内腔を血管内皮細胞が覆っている像が観察された。Glycを不溶化处理に用いたSFコーティングはポリエステルの基盤であっても、SF基盤と同様のリモデリング能力を発揮したことから、コーティング方法がリモデリングに重要な役割を果たしていることが示された。

第4章では人への臨床応用に向けて、これまでのラットを用いた検討・改良の結果を踏まえ、Glyc処理によるSFコーティングを行った人工血管を大型動物モデルである犬の大腿動脈へ移植し、生体内での人工血管の変化について評価した。移植3ヶ月の時点で血管内皮細胞や平滑筋細胞が人工血管の内腔に沿って集まり、ラットへ移植した時と同様にリモデリングが完了していた。また、移植5ヶ月および1年後でも移植した人工血管は開存し、感染、石灰化、動脈瘤などの副反応は確認されなかった。

以上の結果から、本研究によって検討・改良されたコーティング方法を施された人工血管は犬においても移植後早期に生体内で分解され、円滑で速やかな自己組織へのリモデリングに貢献できることが判明した。このことから、本コーティング方法で作製されたSF小口径人工血管は今後開発が進む人工血管の1つの方向性を示すものと考えられた。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文のテーマである小口径人工血管は直径が6 mm未満の血管の代替として開発が進められているが、未だ臨床応用に至っていない。その原因として、人工血管に求められる適度な強度と分解性を決定付ける最適なコーティング処理方法が明らかとなっていないことが挙げられる。本学位論文は、この最適な人工血管コーティング処理方法について、物性試験、生体移植試験、病理学的検査を基盤に多角的に検討し、小口径人工血管の臨床応用に道を開く内容となっている。

第1章では、生体材料として十分な強度や分解性を持つシルクフィブロイン(SF)に着目し、最適な人工血管のコーティング材について検討した。従来のSFコーティング材に比べ、SFにグリセリン(Glyc)を混合したコーティング材は、人工血管をより多孔質な構造へと変化させ、この構造変化が生体組織の血管への侵入(リモデリング)を促すことを示した。

第2章では、人工血管の柔軟性およびリモデリング能の改善のために、コーティングを施す際に行われる不溶化处理に着目し、その最適な処理方法について検討を行った。従来のエタノールを用いた不溶化处理に比べ、Glycを用いた不溶化处理は、柔軟性、リモデリング能の双方において、より優れた人工血管の作出を可能にした。

第3章では基盤にSFを使用せず、リモデリングに関与しないポリエステルを用いることでSFコーティング単独の影響を評価した。その結果、第2章のコーティング方法であれば、ポリエステル基盤であっても同様のリモデリング能を発揮したことから、コーティング部分の分解性がリモデリングに大きく影響を与えると結論付けた。

第4章では、SF基盤にGlyc不溶化处理して作製した人工血管について、その臨床的有用性を犬で評価した。作製された人工血管を犬の大腿動脈へ移植し、生体内での人工血管の変化について解析した結果、血管内皮細胞や平滑筋細胞が人工血管の内腔に沿って集簇し、移植後3ヶ月で自己組織へのリモデリングが完了することを明らかにし、本人工血管の臨床的有用性を実証した。

これらの結果は、これまで困難とされていたSF小口径人工血管の実用化に明確な方向性

を示すものであり,極めて臨床的意義が高いものと判断された。また,今後の研究の発展性も高く評価された。

以上について,審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分な価値を有するものであると判断した。

#### 基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Comparison of the knitted silk vascular grafts coated with fibroin sponges prepared using glycerin, poly(ethylene glycol diglycidyl ether) and poly(ethylene glycol) as porogens

著 者 名 : Tanaka, T., Uemura, A., Tanaka, R., Tasei, Y. and Asakura T.

学術雑誌名 : Journal of Biomaterials Applications

巻・号・頁・発行年 : 32 (9) : 1239-1252, 2018

#### 既発表学術論文

- 1) 題 目 : Silk fibroin-Pellethane® cardiovascular patches: Effect of silk fibroin concentration on vascular remodeling in rat model

著 者 名 : Chantawong, P., Tanaka, T., Uemura, A., Shimada, K., Higuchi, A., Tajiri, H., Sakura, K., Murakami, T., Nakazawa, Y. and Tanaka, R.

学術雑誌名 : Journal of Materials Science: Materials in Medical

巻・号・頁・発行年 : 28 (12) : 191, 2017

- 2) 題 目 : Development of an anti-adhesive membrane for use in video-assisted thoracic surgery

著 者 名 : Uemura, A., Fukayama, T., Tanaka, T., Hasegawa, B. Y., Shibutani, M. and Tanaka, R.

学術雑誌名 : International Journal of Medical Sciences

巻・号・頁・発行年 : 15 (7) : 689-695, 2018