

論文の内容の要旨

論文題目 絹フィブロインを利用した人工血管の開発

山本 諭

人工血管は約 60 年間にわたり開発・改良が進み、臨床で使用されてきた。そして、6mm 以上の大・中口径人工血管は、開存性や耐久性に関して概ね満足できる状況にある。現在、血管外科領域において、漏血を防ぐために予め異種タンパクで被覆（コーティング）したポリエステル製人工血管が最も広く使われている。しかし、異種タンパクに由来する狂牛病などの感染症や反応性炎症（術後発熱、漿液貯留等）等、安全面で必ずしも十分では無い。expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) 製人工血管は、抗血栓性を持つとされる一方で、生体組織の進展・侵入（器質化）が乏しいという問題点もかかっている。また、膝下下肢動脈へのバイパスや冠動脈バイパス等で、小口径人工血管の必要性は高いが、未だ自己血管に並ぶ小口径人工血管は開発されていない。現在の状況から、①臨床では異種タンパクより安全性が高い素材利用が望ましい（安全性）、②臨床実用化可能な小口径人工血管が必要である（開存性）、③長期的な生体内での安定には人工血管の器質化を阻害しない方が好ましい（安定性）といった課題が挙げられる。

安全面において、縫合糸として外科手術に長年使われてきた絹は、歴史的にも安全性が高い天然素材である。繭糸の構成タンパクの一つである絹フィブロイン（Silk Fibroin、以下 SF と表記）は、抗原性が低く細胞親和性は高いという性質を有する。また SF は繊維以外にも液状やスポンジ状などにも加工ができる。このため再生医療材料の分野で注目されており、人工血管への利用研究も行われている。

SF を液状にしてコーティング剤として利用した人工血管では、細胞生着が良好で血栓性が低い可能性

が報告された。また、ラットの腹部大動脈を SF 繊維製人工血管で置換（内径 1.5mm、1cm 長）した移植実験では、高い開存性と良好な組織置換性が報告された。しかし、これまでの報告では、小型動物モデルである、置換長が短い、移植期間が短い、移植数が少ない等の制限があり、まだ大型動物モデルを用いての系統的な組織学的評価は報告されていない。本研究では、イヌを用いて SF を利用した人工血管の移植実験を行い、中長期的な移植後変化を評価することを目的とした。そして、臨床応用に向けて SF 利用人工血管の開発・改良へつなげる問題点などを検討した。

実験①大型動物モデルにおける SF 利用人工血管の移植後変化の観察および検討。

中口径（径 6mm）の SF 繊維基盤 SF コーティング人工血管を作成し、イヌの腹部大動脈移植を行い（7-10cm 長）、移植人工血管について病理組織学的検査を含めた評価を行った。SF 繊維基盤 SF コーティング人工血管は移植後の組織層形成や生体組織の進展（器質化）を促進し、器質化を阻害した人工血管（ポリウレタン含有コーティング）と比べると早期閉塞や遅発性血栓塞栓閉塞は少なかった。一方で、移植後 2 年まで局所的な破綻・瘤化はなかったが、SF コーティング剤や SF 繊維が分解吸収されていく所見がみられた。

実験②SF 利用人工血管の器質化過程の検討。

2 種類の自作中口径人工血管（各々置換全長の半分）を吻合して 1 本の複合人工血管とし、イヌの腹部大動脈移植を行った（全長 7-8cm）。SF コーティングとゼラチンコーティング（ともにポリエステル繊維基盤）の複合人工血管検体から、SF をコーティング利用した人工血管では、膠原線維の進展・侵入は遅れるものの内皮細胞は早期に生着し、内腔層が薄く形成され器質化が進む傾向があった。また、SF を繊維利用した人工血管でも同様の器質化の特徴がみられた。さらに、SF を繊維かつコーティング剤として利用した人工血管はコーティング剤としてのみ利用した人工血管より特性が増強される可能

性も示唆された。一方、SF コーティングの条件（量や形状等）によって特徴の出方に差が生じる可能性も見られた。

実験③小口径における SF 利用人工血管の検討

小口径人工血管（径 3.5mm）を用いてイヌの総頸大動脈移植を行った（5cm 長）。異常拡張をしない人工血管において、ポリエステル繊維製人工血管は SF をコーティング剤で利用しても全 5 例が 1 週間未満に早期閉塞したのに対し、SF 線維製 SF コーティング人工血管では 15 例中 8 例で 1 か月以上開存した。しかし、早期閉塞を免れた SF 利用人工血管でも、多くは内膜肥厚が原因となって数ヶ月後に閉塞した。小口径でも SF 利用人工血管では実験①、②でみられた器質化の傾向がみられたが、中口径と比較して内腔層の新生内膜（膠原繊維）の進展は少なかった。

本研究により、SF 利用人工血管は、内皮細胞が早期に生着して、一定の条件下では内腔層が薄く形成され器質化が進む、という特徴があることがわかった。小口径人工血管においては、早期閉塞を少なくできる可能性が示唆された。本研究から考えて、SF を人工血管に利用することで、内皮細胞の接着生着剤としての役割を付与でき、条件により内腔面積を広く確保できて、抗血栓性・開存性の向上につながる可能性がある。また、加えて、人工血管外側の生体組織被覆を促進させ、長期にわたる人工血管の安定性向上につながる可能性がある。

臨床応用については、大・中口径において、生分解性の SF 繊維基盤人工血管ではまだ長期的な耐久性が保証されていないため、現行の人工血管基盤やステントグラフトにコーティング剤として SF を利用する方法が実用化に近いと考える。SF コーティングの効果は、移植直後の漏血防止だけでなく、その後の生体内での器質化の過程に影響を及ぼし持続性を持つと考えられる。また、Drug delivery system や遺伝子組み換えカイコにより抗生剤を付与した SF を用いることで、感染巣の手術や感染予防に有用

な人工血管となる可能性がある。小口径においては、大・中口径より内皮化の進展が滞り、内腔層が薄く形成されること以上に吻合部近傍での内膜肥厚の影響が大きく、閉塞の原因として問題が残る。

しかしながら、他の工夫や改良と組み合わせて、総合的に SF 利用した小口径人工血管開発の可能性はあると考える。一方で、3cm 程度の短い距離なら、現時点でも SF 利用人工血管で高い開存性が得られて SF の特性を付加できる可能性がある（短距離病変の置換やグラフトの延長等）。人工血管ではないが、冠動脈ステントや腸骨動脈・下肢動脈のステントなど、現行のステントにコーティング剤として利用する方法でも SF の特性を付加できて有用になる可能性がある。

本研究では、自作人工血管を用いたが人工血管作成やコーティング条件がまだ最適でなく確立されていなかったため、定量的な評価や開存率の比較検討はできなかった。また、器質化という観点では個体差やイヌとヒトでの種による差があるという制限がある。今後、各最適条件を定め、SF 特性の定量的な評価を行い、開存率を含めた比較評価をしていく必要がある。そして、SF 利用人工血管の優位性を確立し、臨床試験を経て、臨床応用へ向けていくことが望まれる。

本研究により、絹フィブロインを利用した人工血管開発の基となる系統的な所見が得られた。絹フィブロインの利用は、人工血管の安全性、開存性、長期的な安定性を向上させる可能性がある。本研究から、絹フィブロインの特性を生かした優れた人工血管開発につながると考えられる。