

脱細胞化ブタ動脈の構造と特性評価 1

Evaluation of characteristic and structure for decellularized porcine aorta: part 1

○ 宮木靖子 (札幌医大 心外) 根岸淳 (札幌医大 心外、JSPS) 船本誠一 (札幌医大 心外) 木村剛 (東医歯大 物質医工) 南広裕 (東医歯大 物質医工) 藤里俊哉 (大工大 工) 樋上哲哉 (札幌医大 心外)
岸田晶夫 (東医歯大 物質医工)

Yasuko MIYAKI Sapporo medical university, Jun NEGISHI Sapporo medical university, JSPS, Seiichi FUNAMOTO Sapporo medical university, Tsuyoshi KIMURA Tokyo medical and dental university, Kwangwoo NAM Tokyo medical and dental university, Toshiya FUJISATO Oosaka institute of technology, Tetsuya HIGAMI Sapporo medical university, Akio KISHIDA Tokyo medical and dental university

Abstract: Early thrombus formation and angiostenosis are considered as the problems of small sized grafts (6 mm or less in the inner diameter) that are used for blood vessel transplantation. However, the fact that insufficient supply of the alternative blood vessel and large patient's burden are considered as problems. In this study, we focused on the histological structure and the characteristics of the blood vessels and performed a preparation of and consideration on the decellularized small sized vascular graft using porcine tissues. It was revealed that decellularization is possible for both decellularized carotid and radial arteries by the HHP method and the tissue-specific structure can be maintained. It was suggested from the rat subcutaneous implantation experiment that cellular infiltration into the tissues with less elastic lamina occurs at an early stage similarly as in vitro and it even occurs in the inside of the tissues within 2 weeks.

Key Words: small sized grafts, porcine tissues, decellularization

1. はじめに

血管移植術で用いられる内径 6mm 以下の小口径グラフトでは、早期の血栓形成や狭窄が問題とされている。現在の移植血管第一選択は自家血管であり、他家血管や合成高分子人工血管はほとんど選択されていない。しかし、自家血管において、代替血管の不足、患者の負担が大きいことなどが問題視されている。近年、小口径血管グラフトの開発研究が広く実施され、組織工学的手法を用いた研究にも注目が集まっている。欧米において、脱細胞化ヒト小口径血管グラフトが既に認可を受けているが、ヒト組織を原料としているため供給不足の解決には至っていない。そのため、ヒト以外の脱細胞化組織の研究が試みられている。本研究では、ヒト以外の動物組織としてブタ組織を用いた脱細胞化小口径血管グラフトの作成検討を行った。特に、血管の組織学的構造とその特性に着目した。血管、特に動脈は、その血管にかかる血圧や血流量によって組織学的構造が異なり、生体外マトリクスのコラーゲンとエラスチンの比率が大きく変化する。高血圧領域に位置する血管ほどエラスチンの構成比率が高く、コラーゲンの構成比率が低下し、低血圧領域ではコラーゲンの構成比率は高くなる。当発表では、ブタから採取した種々の脱細胞化動脈の組織学的構造と特性評価を行った。

2. 実験方法

食用ブタ組織は、食用ブタ繁殖場より、大動脈、橈骨動脈を摘出後、4℃下にて保存、24時間以内に超高压処理法による脱細胞化処理を行った。超高压処理法による温度条件は 37℃および 4℃とした。超高压処理後に、洗浄処理を 4℃下にて行い、組織内の残留細胞片を洗浄した。得られた脱細胞化組織は、HE 染色、EVG 染色および走査型電子顕微鏡下にて断面および表面観察により、脱細胞化処理の影響を評価した。

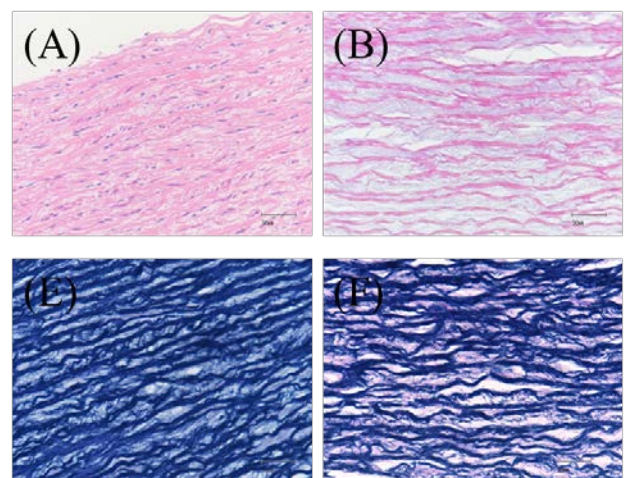
特性評価を行うため、得られた脱細胞化組織を酵素にて

浸漬処理を行い、酵素分解試験を行った。

ラット皮下への移植実験は、wister rat (10 週令) を鎮痛薬および麻酔薬により不動化させ、ラット背部を剃毛後、イソジン溶液にて皮膚表面を消毒した。その後、皮フを 10 mm 切開し、切開部より皮下組織を剥離した。皮下ポケットに脱細胞化組織を埋入した。埋入移植後 1 週間経過観察を行い、その後犠死させ移植組織を摘出し、組織工学的に評価した。

3. 結果

HHP 法により、ブタ大動脈、橈骨動脈からの細胞除去が認められた (Fig 1)。脱細胞化処理後も、組織特異的構造は維持され、脱細胞化大動脈には明確な弾性板が認められ、脱細胞化橈骨動脈は明確な弾性板は認められなかった。



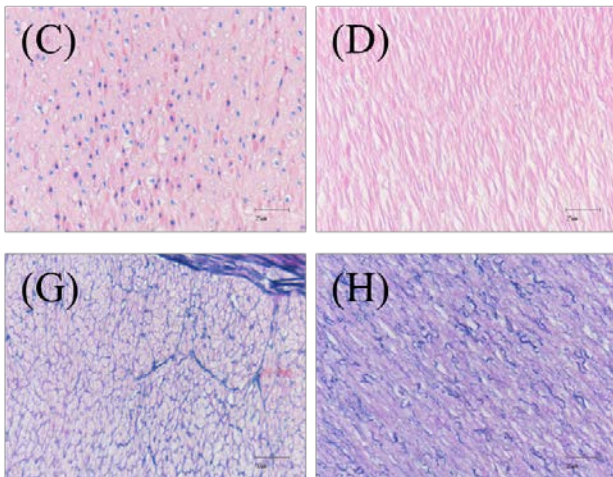


Fig 1 Histological staining of the aorta and radial artery. (A-D) H-E staining and (E-H) EVG staining. (A, E) Non treated aorta, (B, F) decellularized aorta, (C, G) non treated radial artery and (D, H) decellularized radial artery. Scale bar: 50 μ m.

酵素分解試験から、脱細胞化橈骨動脈と比較し、脱細胞化大動脈は分解が遅いことが示された。コラゲナーゼとプロナーゼでは、コラゲナーゼによる分解速度に動脈ごとに大きな差があることが示され、橈骨動脈の分解が早期に起きることが示された。

ラット皮下埋植7日目評価において、脱細胞化大動脈と比較し、脱細胞化橈骨動脈への細胞浸潤が多く認められた。

脱細胞化動脈内への細胞浸潤距離において、脱細胞化橈骨動脈への細胞浸潤が脱細胞化大動脈への細胞浸潤と比べ、有意に組織内部まで浸潤していることが示された。

4. 考察

脱細胞化頸動脈と橈骨動脈ともに、HHP法によって脱細胞化が可能で有り、組織特有の構造も維持されることが明らかになった。酵素分解実験から、コラゲナーゼ、プロナーゼともに、脱細胞化橈骨動脈が早期に分解されることが明らかになった。ラット皮下埋植実験から、*in vitro*同様に弾性板が少ない組織への細胞浸潤が早期に起き、また、細胞浸潤も組織内部まで生じることが示された。

参考文献

- (1) Negishi J, Funamoto S, Kimura T, Nam K, Higami T, Kishida A. Effect of treatment temperature on collagen structures of the decellularized carotid artery using high hydrostatic pressure. *J Artif Organs* 2011;14:223-231.
- (2) Negishi J, Funamoto S, Kimura T, et al. *J Tissue Eng Regen Med*. In press.
- (3) Fischer M, Llauro JG. Collagen and Elastin Content in Canine Arteries Selected from Functionally Different Vascular Beds. *Circulation Research* 1966; 19: 394-399.