

氏 名	島 田 亮
(ふりがな)	(しまだ りょう)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第 号
学位審査年月日	平成31年1月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Development of a new surgical sheet containing both silk fibroin and thermoplastic polyurethane for cardiovascular surgery (シルクフィブロインと熱可塑性ポリウレタンを含有する心臓血管外科用の新規手術用シート材の開発)
論文審査委員	(主) 教授 石坂 信和 教授 高井 真司 教授 星賀 正明

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

#### 《目的》

先天性心疾患手術では、解剖学的異常を修復するために手術用シート材が使用されることがある。近年では、expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) やウシ心膜が使用されるが、これらの既製品には依然として解決すべきいくつかの問題がある。ePTFE では縫合部の針穴出血が多く、輸血や止血材が必要となることが多い。ウシ心膜では異物への宿主反応を引き起こし、劣化や石灰化に伴い血行障害が生じ、カテーテル治療や再置換術が必要となることがある。これらの問題を克服するため、多くの人工シート材の改良や研究が行われてきたが、未だ決定的に有利な製品はない。

シルクフィブロイン (SF) は縫合糸などの手術材料として長年使用されてきた生体適合性ポリマーであり、近年再生医療における細胞の足場としての可能性が示唆されている。

本研究は、柔軟性に乏しい SF に弾力性のある熱可塑性ポリウレタン (TPU) を配合し、新たに心臓や血管の修復手術用シート材を開発することを目的とした。

#### 《方法》

SF 溶液と TPU 溶液を 1:1 で配合し、エレクトロスピンニング (ES) 法を用いてシートを作製した。Stress-strain curve 及び弾性率を測定し、SF 単独、TPU 単独及び SF/TPU 混合物の 3 種類のシートの物性を one-way ANOVA で比較した。また 6-0polypropylene 糸で縫合を加えた SF/TPU シート(N=5)、ePTFE シート(N=5)及びウシ心膜シート(N=3)に 100mmHg の圧力を持続的に負荷した際の針穴出血量を 1 分毎に 5 分間測定し、two-way ANOVA multiple comparison test で比較した。生体適合性を決定するために SF/TPU シート、ePTFE 小口径人工血管の一部をパッチとしてビーグル犬の下行大動脈に移植することで外科的操作性と生体反応を評価した。3 頭のビーグル犬を移植後 3 ヶ月で犠牲死させ、パッチを周囲の自己血管と共に取り除き、肉眼的及び組織学的検討を行った。

#### 《結果》

SF/TPU シートは無孔性で nano-microfiber が層状となった不織布で形成されていた。物性評価では、TPU 単独シートの弾性率は 2.03MPa と有意に低く ( $p < 0.01$ )、SF 単独シートの弾性率は 43.9MPa と有意に高かった ( $p < 0.01$ )。SF/TPU シートの弾性率は 15.4MPa と ePTFE と同等であり、手術用シート材として有用であることが示された。SF/TPU シートの針穴出血量は ePTFE シートより有意に少なく ( $p < 0.01$ )、ウシ心膜シートと同等であった。パッチ移植手術時の外科的操作性や自己血管壁とのフィッティングは良好であった。移植後 3 ヶ月の肉眼所見 (N=3) では SF/TPU パッチ、ePTFE パッチのいずれにも狭窄や瘤化を認めず、またその内腔面は血栓を認めず、滑らかな新生内膜に覆われていた。SF/TPU パッチの組織所見では微小な炎症をパッチ外側面に認めたが、異物巨細胞や好中球浸潤、出血、組織壊死は認めなかった。微小な細胞浸潤がパッチ表面やパッチ断端の ES 層間にみられたが、パッチの構造破壊や自己組織置換はほとんど認めなかった。内皮細胞

とともに薄い層状の平滑筋細胞や膠原繊維が、自己大動脈壁と連続性をもってパッチ内腔面を覆っていた。パッチの石灰化は認めなかった。

#### 《考察》

本研究の検討から ES 法で作製した SF/TPU シートが、手術に使用できる十分な柔軟性と強度と生物学的安定性を有することが示された。またその外科的操作性は既製品と同等であり、針穴出血量は ePTFE シートよりも有意に少ない可能性が示唆された。

SF は過去に生体材料として様々な形状で臨床使用されてきた。SF のみで作製した小口径人工血管を用いてラットの腹部大動脈置換を行った先行研究では、SF の優れた生体適合性と生分解性を有することが示された。このことから本研究では、SF のみでシートを作製したが、柔軟性に乏しく縫合糸で容易に裂けたため、手術材料としての使用は困難であった。そこで、生体内安定性と柔軟性があり、すでに臨床使用されている TPU を SF に加える合成高分子として選択し、SF と TPU を配合して ES 法で作製したシートでは、高い互換性と安定性を有することが示された。

ウシやブタの組織材料には、慢性炎症による劣化や石灰化が生じる。また、ePTFE 製品が石灰化することも広く知られている。今回ビーグル犬の下行大動脈に移植した SF/TPU パッチの組織評価では、微小な炎症が存在するのみで、組織の劣化、カルシウム沈着は認められなかった。また患児の成長に伴い移植されたシートがその機能を維持したまま拡張するためには、シートが自己組織に置換される必要がある。SF は生分解性を有することが知られているが、本検討では、3 ヶ月での組織評価ではパッチの生分解性は認められなかったため、今後更なる長期観察による検討を行いたい。

#### 《結語》

SF に TPU を配合し ES 法で新たに心臓や血管の修復手術用シート材を作製した。SF/TPU シートは良好な組織適合性があり、良好な外科的操作性と針穴出血の防止の点で優れている。生分解性の可能性の評価には長期観察による解析が必要である。

## 論文審査結果の要旨

本論文は先天性心疾患手術において、心臓や血管を修復するために用いられる手術用シート材の新たな開発を目的としている。

シルクフィブロイン (SF) という再生医療領域で細胞生着の足場としての可能性が示唆されている生体適合性ポリマーを使用し、そこに弾力性のある熱可塑性ポリウレタン (TPU) を配合することで、手術材料として十分に使用可能な物性を有したシートが作製されたことを示した。その作製方法にエレクトロスピンニング (ES) 法を採用し、SF/TPU シートが分子レベルで非常に良い互換性を有することを明確にした。SF に TPU を配合し、ES 法でシート状の手術材料を作製した報告は過去に無く、新たな手術材料の開発を目的とした論文として評価できる。物性評価では SF 単独、TPU 単独、ePTFE 及びウシ心膜と比較し、ePTFE と同等の弾性率を有し、ePTFE より有意に針穴出血量が少ないことを示した。生体評価では、シートの一部をパッチとして使用し、ビーグル犬の下行大動脈へ移植する実験を行い、手術時の外科的操作性や自己血管壁とのフィッティングを直接的に確認することでその有用性を示した。さらに、移植後 3 ヶ月の評価では、実際に移植した部位の肉眼的所見や組織学的所見が検討されている。3 ヶ月という早期評価のみであるが、肉眼的所見ではパッチ移植部の狭窄や瘤化はなく、また内腔面には血栓付着などなく、新生内膜を認めた。組織学的所見では微小な炎症が認められるのみであり、異物巨細胞や好中球浸潤、出血、組織壊死所見はなく、また明らかな石灰化もなかったことから良好な結果であった。SF の生分解性についても検討されており、再生医療領域にも通じる内容となっている。早期評価ではその生分解性は認められなかったが、今後の長期観察結果が必要である。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Surgery Today 48(5): 486-494, 2018