

氏名(生年月日)	マツ 松	ムラ 村	ゴウ 剛	キ 毅
本籍				
学位の種類	博士(医学)			
学位授与の番号	乙第 2252 号			
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 19 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当(博士の学位論文提出者)			
学位論文題目	<b>First evidence that bone marrow cells contribute to the construction of tissue-engineered vascular autografts in vivo</b> (自己骨髄細胞を用いた再生血管の作製と組織形成への関与に関する研究)			
主論文公表誌	Circulation 第 108 巻 第 14 号 1729-1734 頁 2003 年			
論文審査委員	(主査) 教授 黒澤 博身 (副査) 教授 笠貫 宏, 小林 慎雄			

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

生分解性ポリマーに自己骨髄細胞を播種し再生血管を作製した際、播種した自己骨髄細胞が組織形成に関与するか否かを実験的に証明し、同方法による再生血管の組織学的検討を行う。

### 〔対象および方法〕

全身麻酔の下、ビーグル犬より骨髄を穿刺針で吸引し、溶血剤と混和した後遠心し、骨髄細胞塊を得る。それをポリ L 乳酸を補強剤とし、ε-カプロラクトンとポリグリコール酸(50:50)の共重合体からなるスポンジ状のポリマー(径 8mm, 長さ 2cm)上に播種し、培養液中で数時間静置する。その後右開胸下で実験犬の下大静脈に自己骨髄細胞を播種したポリマー(再生血管)を移植し 3 時間, 2, 4, 8 週間, 抗凝固剤を使用せず生存させた。犠牲死せしめた後、採取した組織を免疫組織学的に検討した。また、播種した自己骨髄細胞を追跡し、他の細胞と識別するために播種前に 5-(and 6)-carboxyfluorescein-diacetate-succinimidyl-ester (CFDA, SE) で標識した。

### 〔結果〕

標識した骨髄細胞は生分解性ポリマーに生着し、分裂、増殖し組織形成に関与した。これらの細胞は、CD34, CD31, Flk-1, Tie-2 など血管形成に関与する血管前駆細胞の表面マーカーを発現していた。一方これらの表面マーカーを持つが CFDA, SE を持たない細胞も組織中に存在し、血流中からも血管前駆細胞が迷入することが示唆された。約 4 週間で内皮細胞により被覆された再生血管が作製可能であり、免疫組織学的検討において内皮細胞を示す factor VIII や CD146 陽性細胞を認めた。また血管平滑筋細胞を示す α アクチン, SM1, SM2 陽性細胞やコラーゲンやエラスチンの産生を認めた。さらに組織中には、VEGF や angiopoietin-1 の産生が認められ、血管が再生される過程において生着した細胞がこれら成長因子を産生・分泌し、autocrine, paracrine により組織形成に関与していることが示唆された。

### 〔考察〕

本研究において、細胞の起源として自己骨髄細胞が有用であることが示唆された。組織が形成される間、細胞の足場として機能する生分解性ポリマーは生体内で非酵素的に加水分解により徐々に吸収されるため、形成された組織は完全に自己細胞からなる自己組織となる。完成した組織は、正常血管構造を持つ生体適合性のある自己組織であり、特に先天性心疾患手術における構造的欠損を修復するための理想的な生体材料となりうると考える。また本方法による再生血管の作製は、培養の過程を必要としないために簡便であり臨床の場においても十二分に応用可能であり、また現在実際に臨床研究中でもある。

## 〔結論〕

生分解性ポリマーに播種された自己骨髄細胞は再生血管の形成に関与し、理想的な生体適合性医療材料となりうると考える。

## 論文審査の要旨

生分解性ポリマーに自己骨髄細胞を播種し再生血管を作製した際、播種した自己骨髄細胞が再生血管形成に関与するか否かを実験的に証明した。

ビーグル犬より骨髄を採取し、蛍光色素で標識した。それを生分解性ポリマー上に播種し、同実験犬の下大静脈に移植した。抗凝固剤を使用せず生存させた後、得られた組織を免疫組織学的に検討した。

標識した骨髄細胞は生分解性ポリマー上に生着し、分裂、増殖し組織形成に関与し、血管前駆細胞のマーカーを発現していた。移植後約4週間で内皮細胞により被覆された再生血管が作製可能であり、血管平滑筋細胞やコラーゲンやエラスチン、さらに成長因子の産生が認められた。

当研究において、自己骨髄細胞を用いた再生血管の作製が可能であることが証明された。完成した組織は正常血管様構造を持つ生体適合性のある自己組織であり、特に先天性心疾患手術における理想的な生体材料となりうると考えられた。