

*r/hb*FGFを組み込んだ機能的足場における組織再構築と
人工臓器・生体材料への応用

(課題番号 17591353)

平成17, 18年度科学研究費補助金 (基盤研究C)
研究成果報告書



平成19年3月

研究代表者 上塚芳郎

(東京女子医科大学医療・病院管理学 教授)



*rhb*FGFを組み込んだ機能的足場における組織再構築と
人工臓器・生体材料への応用

(課題番号 17591353)

平成17, 18年度科学研究費補助金 (基盤研究C)
研究成果報告書

平成19年3月

研究代表者 上 塚 芳 郎

(東京女子医科大学医療・病院管理学 教授)

目次

はしがき	1
1. 研究課題名・研究組織・研究経費・研究発表	3
2. 研究成果	
1. この度の研究計画及び成果の概要	7
2. 軽量で開閉可能な家兎耳介観察窓の開発	19
3. A single local application of recombinant human basic fibroblast growth factor accelerates initial angiogenesis during wound healing in rabbit ear chamber	23
4. Macroscopic sequential pictures of angiogenesis in a rabbit ear chamber	29
3. 参考論文	
1. 人工血管-この1年の進歩	35
2. Benefit of bilateral over single internal mammary artery grafts for multiple coronary artery bypass graftingSuperiority of bilateral internal thoracic artery grafting	47
3. Bilateral versus unilateral internal mammary revascularization in patients with diabetes	55
4. Coronary artery bypass with only in situ bilateral internal thoracic arteries and right gastroepiploic artery	63
5. Survival benefit of exclusive use of in situ arterial conduits over combined use of arterial and vein grafts for multiple coronary artery bypass grafting	69
6. Angiographic findings and surgical treatments of coronary artery involvement in Takayasu arteritis	75
7. Reconstruction of left ventricle in patient with cardiac hemangioma at apex	83
8. Acute occlusion of coronary artery bypass graft with nonionic contrast medium	87
9. Chronic expanding intrapericardial hematoma after pericardial paracentesis	91
10. Corrosion of stainless steel sternal wire after long-term implantation	95
11. Local injection of a sustained-release antiandrogen formulation into a target prostatic site: an experimental study	101
12. A novel synthetic tissue-adhesive hydrogel using a crosslinkable polymeric micelle	107

はしがき

東京女子医科大学医療・病院管理学 上塚 芳郎

最近、足に火傷をしたが、なかなか創傷の治りが悪かったので、皮膚科を受診したところ、トレチノイン軟膏を処方された。トレチノインというのは、レチノイン酸のことで、真皮乳頭層の血管新生が見られ、表皮、真皮レベル双方で皮膚の創傷治癒を促進する働きを持っているといわれている。自分が試したのでは、効果は不明であったが、このように創傷治癒に対して、いろいろな新しい治療が試みられるようになってきた。

創傷の治癒には、血管新生を伴う肉芽組織の形成が必要であるが、血管新生を促進したり阻害したりするサインを制御する機構の多くは今だに解決していない。

最近、食生活の欧米化とともに、動脈硬化に伴った虚血性の疾患も増えてきた。下肢に生じる閉塞性動脈硬化症もその一つである。最近、虚血に陥った患肢に血管新生療法が試されるようになった。

一方で、血管新生をブロックすることによって腫瘍を餓死させ壊死させるという考え方は約 25 年前からあるが、最近ようやくがんの治療目的で試みられるようになった。がん細胞は通常の細胞に比べて増殖速度が速く、多くの栄養分を必要とするからである。血管新生が押さえられると、がん細胞に血管が届きにくくなり、がん細胞の増殖速度が低下することは知られているが、ベバシツマブ製剤などのような血管新生抑制物質だけではがんは縮小せず、抗がん剤との併用が必要である。

このように、ものごとには、表裏両面があり、それがうまく調和することによって、人間の体は恒常性をもっているのだろう。どちらかに偏ったときには、具合の悪いことが起きるようである。まだまだ自然に神秘は奥深い。

本研究でも、最近、蓋の開く、rabbit ear chamber (REC)モデルを使用できるようになり、中の試料を壊さず評価することが可能になった。これにより研究が進むことを期待する。

1. 研究課題名：研究組織・研究経費・研究発表

【研究課題名】

rhbFGFを組み込んだ機能的足場における組織再構築と人工臓器・生体材料への応用
研究課題番号 17591353

【研究組織】

研究代表者 上塚芳郎（東京女子医科大学医療・病院管理学教授）
分担研究者 富澤康子（東京女子医科大学心臓血管外科助手）

【研究経費】

平成 17 年度	2,200 千円
平成 18 年度	1,300 千円
計	3,500 千円

【研究発表】

学会誌

1. Inoue T, Kobayashi M, Uetsuka Y, Uchiyama S. Pharmacoeconomic analysis of cilostazol for the secondary prevention of cerebral infarction. *Circ J*, Apr;70(4):453-458, 2006.
2. 上塚芳郎. 医師法第21条と「診療行為に関連した死亡の調査分析モデル事業」への期待(下). *社会保険旬報*, (2268):12-18, 2006.
3. 上塚芳郎. 医師法第21条と「診療行為に関連した死亡の調査分析モデル事業」への期待(上). *社会保険旬報*, (2267):20-25, 2006.
4. 上塚芳郎. 【DPC導入後の病院経営の変化と対応】. *医学と医療*, (458):15-19, 2006.
5. 上塚芳郎. 【妊娠の管理】 弁膜症患者の妊娠管理(人工弁置換後症例を中心として). *ビタミンKフォーラム*, (8回):5-8, 2006.
6. 下村裕見子, 上塚芳郎, 加藤多津子, 岩本安彦. 外来診療における「返書管理システム」評価. *医療マネジメント学会雑誌*;6(4):645-649, 2006.
7. 上塚芳郎. 【循環器診療の質を問い直す】 国際標準から見たわが国の診療 医療材料の内外価格差. *Cardiovascular Med-Surg*;7(2):217-222, 2005.
8. 上塚芳郎. 心臓不整脈と血栓症. *感染防止*;15(1):4-10, 2005.
9. 上塚芳郎. 医工学治療のためのやさしい医療経済-マクロから見た国民医療費. *医工学治療*;17(3):115-123, 2005.
10. 上塚芳郎. 混合診療をとりまく現状と今後の展開. *Clinical Engineering*;16(10):1045-1051, 2005.
11. 中澤誠, 青見茂之, 笠貫宏, 松岡瑠美子, 上塚芳郎, 篠原徳子, 萩原誠久, 高本眞一, 日本循環器学会. 【循環器病の診断と治療に関するガイドライン(2003-2004年度合同研究班報告)】ダイジェスト版 心疾患患者の妊娠・出産の適応, 管理に関するガイドライン. *Circulation Journal*; 69(Suppl.IV) :1329-1342, 2005.

12. 中澤誠, 青見茂之, 赤木禎治, 笠貫宏, 千葉喜英, 丹羽公一郎, 松岡瑠美子, 松田義雄, 宮武邦夫, 山口巖, 石井徹子, 池ノ上克, 今泉勉, 上塚芳郎, 川副泰隆, 河野了, 篠原徳子, 武安法之, 照井克生, 中谷敏, 野村実, 萩原誠久, 姫野和家子, 越後茂之, 高本眞一, 日本循環器学会 日日日日. 【循環器病の診断と治療に関するガイドライン(2003-2004年度合同研究班報告)】 心疾患患者の妊娠・出産の適応,管理に関するガイドライン. *Circulation Journal*;69(Suppl.IV):1267-1328, 2005.
13. 笠貫宏, 青崎正彦, 池田康夫, 石丸新, 井上博, 内山真一郎, 小川久雄, 川副浩平, 米田正始, 住吉徹哉, 高野照夫, 中澤誠, 中谷武嗣, 野々木宏, 上松瀬勝男, 島田和幸, 堀正二, 山口武典, 浅野竜太, 岩出和徳, 上塚芳郎, 坂本知浩, 佐藤直樹, 田上憲次郎, 恒吉裕史, 中居賢司, 花谷彰久, 矢坂正弘, 村崎かがり, 高本眞一, 中川雅夫. 循環器病の診断と治療に関するガイドライン(2002-2003年度合同研究班報告) ダイジェスト版 循環器疾患における抗凝固・抗血小板療法に関するガイドライン. *日本冠疾患学会雑誌*;11(1):S1-S10, 2005.
14. 佐藤章, 富澤康子, 小森万希子, 高田勝美 軽量で開閉可能な家兎耳介観察窓の開発、呼吸と循環、55:359-362, 2007
15. Murakami Y, Yokoyama M, Okano T, Nishida H, Tomizawa Y, Endo M, Kurosawa H. A novel synthetic tissue-adhesive hydrogel using a crosslinkable polymeric micelle. *J Biomed Mater Res A*, Sep 29;80A(2):421-427, 2007
16. Goya N, Gotanda K, Sasaki T, Okada M, Tomizawa Y, Toma H. Local injection of a sustained-release antiandrogen formulation into a target prostatic site: an experimental study. *BJU Int*, Jan;99(1):202-206, 2007.
17. 富澤康子, 百瀬直樹: 日本人工臓器学会 第2回人工心肺トラブルシミュレーション ウェットラボアンケート調査結果報告、体外循環技術、34:48-56, 2007年
18. Tomizawa Y, Hanawa T, Kuroda D, Nishida H, Endo M. Corrosion of stainless steel sternal wire after long-term implantation. *J Artif Organs*. 2006;9:61-66.
19. Sawa Y, Horiuchi T, Kishida A, Masuzawa T, Mizuguchi K, Nishimura M, Okoshi T, Shinzato T, Tatsumi E, Tomizawa Y, Watanabe H. *Journal of Artificial Organs 2005: the year in review. J Artif Organs*. 2006;9:1-7.
20. 富澤康子: 人工心肺を用いた体外循環に関する心臓外科医の安全対策、【人工心肺操作コース】、胸部外科 Up to Date 2006, Postgraduate Course, 第59回日本胸部外科学会 定期学術集会 p198-203
21. 北村麻未, 五十嵐利博, 三浦貴之, 海老澤佳世, 長坂淳一, 中尾一俊, 富澤康子, 斉藤聡, 石山雅邦, 新岡俊治, 黒澤博身, 百瀬直樹. 【体外循環を安全に行うためのシミュレーション教育】 体外循環シミュレーション教育に期待される安全性の向上とシステム統一化の必要性. *人工臓器*;35(1):249-251, 2006
22. 富澤康子, 四津良平, 百瀬直樹, 安野誠, 又吉徹, 南茂, 見目恭一, 神谷勝弘. 【体外循環を安全に行うためのシミュレーション教育】 体外循環のトラブルシミュレーション ウェットラボの経験. *人工臓器*;35(1):233-236, 2006

23. 又吉徹, 百瀬直樹, 南茂, 安野誠, 見目恭一, 富澤康子. 【体外循環を安全に行うためのシミュレーション教育】 ウエットラボによる人工心肺シミュレーションの検討 技術指導者の立場から. 人工臓器;35(1):219-223, 2006.
24. 百瀬直樹, 新見能成, 西田有里, 又吉盛博, 赤地吏, 富澤康子, 又吉徹, 南茂, 安野誠, 岡庭功治, 神谷勝弘. 【体外循環を安全に行うためのシミュレーション教育】 人工心肺シミュレーション回路の作製. 人工臓器;35(1):214-218, 2006.
25. Sughiura T, Nishida H, Ishitoya H, Tomizawa Y, Saito S, Endo M, Kurosawa H. Chronic expanding intrapericardial hematoma after pericardial paracentesis. J Card Surg, 21:491-493, 2006.
26. 人工臓器 第 22 回教育セミナー 編者：富澤康子 発行：日本人工臓器学会、2006 年 7 月 p.122
27. 体外循環と補助循環 第 21 回教育セミナー 編者：富澤康子 発行：日本人工臓器学会、2005 年 7 月
28. Tomizawa Y. Clinical benefits and risk analysis of topical hemostats: a review. J Artif Organs 2005; 8:137-42.
29. 富澤康子：医師と技士の教育と連携はどうあるべきか、特集「体外循環」、人工臓器、34:238-240, 2005
30. 富澤康子. 人工血管開発の課題と展望. In: 許俊鋭, 斉藤明, 赤池敏宏, eds. 人工臓器・再生医療の最先端. 先端医療シリーズ 37. 東京: 先端医療技術研究所; 2005:122-125.
31. Komori M, Tomizawa Y, Takada K, Ozaki M. A single local application of recombinant human basic fibroblast growth factor accelerates initial angiogenesis during wound healing in rabbit ear chamber. Anesth Analg 2005; 100:830-4.
32. Komori M, Takada K, Tomizawa Y, Uezono S, Nishiyama K, Ozaki M. Effects of Colloid Resuscitation on Peripheral Microcirculation, Hemodynamics, and Colloidal Osmotic Pressure During Acute Severe Hemorrhage in Rabbits. Shock 2005; 23:377-382.
33. Nishida H, Tomizawa Y, Endo M, Kurosawa H. Survival benefit of exclusive use of in situ arterial conduits over combined use of arterial and vein grafts for multiple coronary artery bypass grafting. Circulation 2005; 112:I299-303.
34. Tomizawa Y. Endothelialization and functional neointima on vascular grafts in humans. Ann Thorac Surg 2005; 79:1465.
35. Sato M, Endo M, Tomizawa Y, Nishida H. Left ventricular true aneurysm with pseudoaneurysm detected five years and nine months following repair for oozing type free wall rupture. Jpn J Thorac Cardiovasc Surg 2005; 53:147-9.
36. 西田博, 黒澤博身, 遠藤真弘, 富澤康子：包括医療(DPC)からみた術式の選択-疾患別 IVR vs. 手術の比較- ケース 2：冠動脈疾患の治療、インナービジョン、20:19-23, 2005

37. 富澤康子：【column】 A well-known aortic surgeon-Scholarly achievements D. Craig Miller、高本眞一監修 心臓外科 Knack & Pitfalls 大動脈外科の要点と盲点、文光堂 東京 2005年3月
38. 高田勝美、小森万希子、能登谷敦子、尾崎真、富澤康子：Effects of Ulinastatin on Microcirculation during excessive hemorrhage using fluid therapy, Surgical Trauma & Immunological Responses, 14: 84, 2005
39. 富澤康子：人工臓器は開発の時代から安全をより考える時代に、人工臓器、34:129-130, 2005

この度の研究計画及び成果の概要

東京女子医科大学医療・病院管理学 上塚芳郎

はじめに

ここでは本研究の全貌の大まかな理解のために、研究計画および成果のエッセンスを簡単に説明する。同時にこの研究を始めるにあたっての背景、社会的意義や位置づけについても明らかにしておきたい。そうすることによって、この研究の意義および成果の意味を浮き彫りにすることができ、また、この研究により導かれた論文、さらに我々の参考論文を読むに際して、一層深い理解が得られると思われる。

研究の背景および目的

外傷や疾患により組織が損傷を受けると、体内では治癒、すなわち再生現象が起きる。失われた組織や臓器を再生させるためには、細胞、細胞が活発に増殖できる環境（足場）、そして増殖因子が不可欠であるが、細胞増殖が足場に依存しているため、その選択は重要である。血管壁再構築のためには天然高分子であるコラーゲン、合成高分子であるグリコール酸、乳酸系高分子などが、また骨再生には無機物質であるヒドロキシアパタイトが用いられてきた。自然には再生しない/できない臓器、組織を臨床において患者自身のあるいは同種の細胞を増殖させて利用することにより再生させ、さらに機能を回復させる事に対する期待はきわめて大きい。

細胞、細胞外マトリックス、サイトカインがすべて存在しないと治癒は促進しない。損傷を受けた生体組織や臓器を人工臓器や移植に頼らず組織再構築するために、細胞・細胞が活発に増殖できる環境(足場)・増殖因子の3要素の至適条件を求めなくてはならない。組織再構築に伴う血管新生において血管内皮前駆細胞が関係して血管芽(sprouts)が形成されるが、この血管内皮前駆細胞の血管再生医療への利用を検討し、

人工臓器・生体材料への可能性を探すことを試みた。使用する足場(scaffold)に増殖因子を積極的に組み込むことにより天然の細胞外マトリックスに近いインテリジェント細胞外環境の設計を目指した。生体における細胞外マトリックスは、多細胞生物を構成する細胞外環境因子であり増殖及び分化の制御を行う重要な役割を司っている。そのため、初期における足場は細胞外マトリックスの役割をはたし、生体内での役割終了後には吸収され、再び取り出す必要が無く、しかも材料の存在が生体組織・臓器の再生を妨げないことが好ましい。足場にリコンビナント *hbFGF* を一時的あるいは徐放するよう、または内因性サイトカインが吸着するように設計を試みた。現在、市販の *bFGF* は褥創・皮膚潰瘍治療剤として臨床で使用されており、細胞増殖に伴って著明な新生血管の侵入および創傷治癒が期待された。

この研究は自己再生能を活性化する組織工学を目指しており、新しい治療法を作り出すのに大いに貢献するものと考えた。

学術的な特色、独創的な点及び予想される結果と意義

①細胞外マトリックスに増殖因子を積極的に組み込むことによって至適のインテリジェント細胞外環境の設計を試みた。②細胞外環境として細胞親和性の良好な、生体吸収性材料の線維状アテロコラーゲンを足場(scaffold)とした。③細胞増殖促進作用を持つリコンビナント *rhbFGF* を一時的または徐放性に、あるいは足場に内因性サイトカインが吸着するように利用した。徐放には足場のアテロコラーゲンを *DDS* として利用した。④組織再構築の経過中には血管新生の客観的な評価が重要であり、それを実現した。この研究は以上の独創的な点を多

数含んでおり、得られた結果により、新しい治療法へと発展させられ大変役に立つと考えた。最先端の学問である組織工学に、現代科学の強力な武器であるリコンビナント bFGF を用い、オーソドックスな透明窓モデルを採用したことにより興味深いものとなることを予想した。この課題を克服することは、循環器・人工臓器の研究を行ってきた我々の経験および、これまでの研究成果から考えて困難ではないと考えた。

国内外の関連する研究の中での当該研究の位置づけ

組織工学は生命科学と工学にまたがる分野であり、現在の再生医学では、(1)個体レベル(クローン)、(2)臓器レベル、(3)組織レベルの3つのレベルに分かれている。(3)は人工素材に細胞を植えるといった方法で行われ、1981年に Bell が作成した人工皮膚が最初である。現在、臨床では培養した皮膚、骨および軟骨において実現している。

Arnold (1871)が透明窓内の血管新生の研究を始めた。Clark (1909)は生きたオタマジャクシの尾鰭にガラスをはめ直視下に観察した。哺乳動物の血管を初めて透明窓で観察したのは Sandison (1924)であり研究が広範囲におよんだ。最近では観察窓を用いて末梢循環への影響を評価、抗ガン剤の効果に関する観察する研究が多くみられる。

本研究の着想に至った経緯

足場として用いられた材料が吸収する過程において酸性に傾く変化が細胞にとっては多大に影響する。また、最近、遠隔期において植え込み後の退縮および癒痕形成が指摘されている。血管新生の評価方法には問題が多く、既存の血管との区別がつかない、間接的な証明のみされて、臨床応用を困難にしている。基礎研究においても材料の植え込み後に材料にのびる新生血管の三次元的関係を組織学的標本から評価することは困難である。以上の理由から我々は古典的な Rabbit ear chamber (REC)モデルを使用した。新生血管が明確に区別でき、しかも定量可能であり、植え込んだ材料と宿主

細胞および血管の位置関係が経時的に観察可能である。すなわち、観察窓の中に材料を留置すると、直接的、非侵襲的、さらに経時的に細胞親和性、異物反応、血管新生が観察可能であるという特徴を持つ。ゼラチンスポンジ、ゲル状コラーゲン、繊維状コラーゲンなどの種々の材料を足場として、またサイトカインの組み合わせにおける機能的足場としての血管新生状況を評価できると期待した。その結果、細胞外マトリックスの細胞親和性に創傷治癒および血管新生は左右され、細胞親和性の悪い材料では血管が迂回してよりよい条件の方向に伸展するという所見が得られた。REC は作成に時間がかからず、成功率が高いため、十分な実験動物数が得られ利点が多い。また、解析用ソフトウェアは多数開発され、得られた像をコンピュータで立体的に再構築できることは、血管の連続性、新生過程、細胞外基質との関係等、血管新生研究において三次元的に解明しなくてはならない項目に対して優れていると考えた。すなわち、この度用いるデザインと解析方法の組み合わせは適していると考えた。

研究計画

平成 17, 18 年度の 2 年間での研究を計画した。

インテリジェント細胞外環境の設計

1. 足場の材料: I. ①線維状アテロコラーゲン、②エポキシ架橋スポンジ状コラーゲン、③ゲル状コラーゲン、II.市販の材料 ④微細繊維状コラーゲン、⑤スポンジ状ゼラチン、⑥酸化セルロース、⑦スポンジ状コラーゲン、⑧対照として足場(-)で生理的食塩水負荷、他を用いた。
2. 足場の形状: 繊維状、ゲル状、スポンジ状などの形状による変化。スポンジ状では血管芽(sprout)の先端が、壁に接着して『玉』になることがあるが、ゲル状では先端がとがっていて伸展速度が速いことが観察された。綿状では繊維の直径と細胞親和性に関係を観察することを期待した。
3. Recombinant human bFGF (rhbFGF)の

量と投与方法：*rhbFGF* はトラフェルミン 100 μ g/ml (科研製薬)を使用し、通常の溶解では1回の噴霧で 6 μ g となる。① REC の観察窓を含め傷に噴霧、②足場を *rhbFGF* に浸す、あるいはゲル状コラーゲンは混合し DDS の条件とする、③足場のみ REC の観察窓内に留置、④対照として生理的食塩水のみ観察窓内に投与することとした。

In vitro 材料の細胞親和性およびサイトカインの評価

4. 足場の pH 測定：足場を細胞培養液に浸しインキュベートし、経時的に培養液の pH を測定した。
5. 細胞培養での足場の評価：足場上で細胞が増殖するか、あるいは細胞がコンフルエントになったところに足場材料を留置した場合の検討。市販の材料において短期間の培養では溶出する化学物質が検出される可能性を考えた。
6. DDS としての徐放効果：*rhbFGF* に浸した足場からの *rhbFGF* の溶出を時間毎に培養液を交換し、ELISA にて測定を計画した。
7. 観察窓内の内因性サイトカインの測定：ELISA 法にて *bFGF*、*TGF β* 、*PDGF*、インターロイキン-6 などの濃度を測定することを計画した。

動物実験モデル

Rabbit ear chamber モデル：家兎の耳介にアクリル板と雲母板あるいは強化ガラスの観察窓(直径:6.4mm)を作成し装着した。術後は非侵襲的経時的直視下に観察した。

血管新生と組織再構築の評価

2. 血管新生の評価【1】：顕微鏡下に、細胞侵入、血管芽の形成、足場上の細胞付着、足場の吸収を評価した。足場の種類により血管芽の形が異なった。組織再構築の速度は細胞、細胞外マトリックス、サイトカインの組み合わせである程度決まることが考えられた。サイトカインに関しては内因性および外因性が考えられ、

足場によっては内因性サイトカインを吸着および徐放し、外因性サイトカインは足場が DDS の役割を果たして良い影響を与えることを期待した。

3. 血管新生の評価【2】撮影したマクロ写真をから新生血管面積、血管侵入距離を測定することにより伸展速度を計算した。この方法により定量可能となった。
4. 組織再構築の評価：血管、軟骨、皮膚の再生の観察。
5. 摘出しての組織学的評価：摘出した REC を固定し組織標本を作成した。sprouts、新生血管及びリモデリングに参加した血管壁細胞の評価として、動脈壁の平滑筋細胞、周皮細胞の種類、配列(短軸方向 or 長軸方向)の観察を行うことを計画した。
6. Progenitor endothelial cell の評価：CD34 を評価する。
7. 血管壁の酸素分圧測定：oxygen microelectrode を用いて REC を穿刺し創内の酸素分圧の測定を計画した。
8. Nitric Oxide 検出：組織切片中の NO を Diaminofluorescein-2 (第一化学薬品)を用いて検出することを計画した。
9. 血管反応性：REC 内の細小血管の反応性を thermography にて測定した。細小動静脈によって収縮反応が異なることが考えられた。家兎が驚いて一度血管が収縮した後に血管が拡大した時には 0.85 $^{\circ}$ C 周囲に比べて低くなった。

研究成果と参考論文

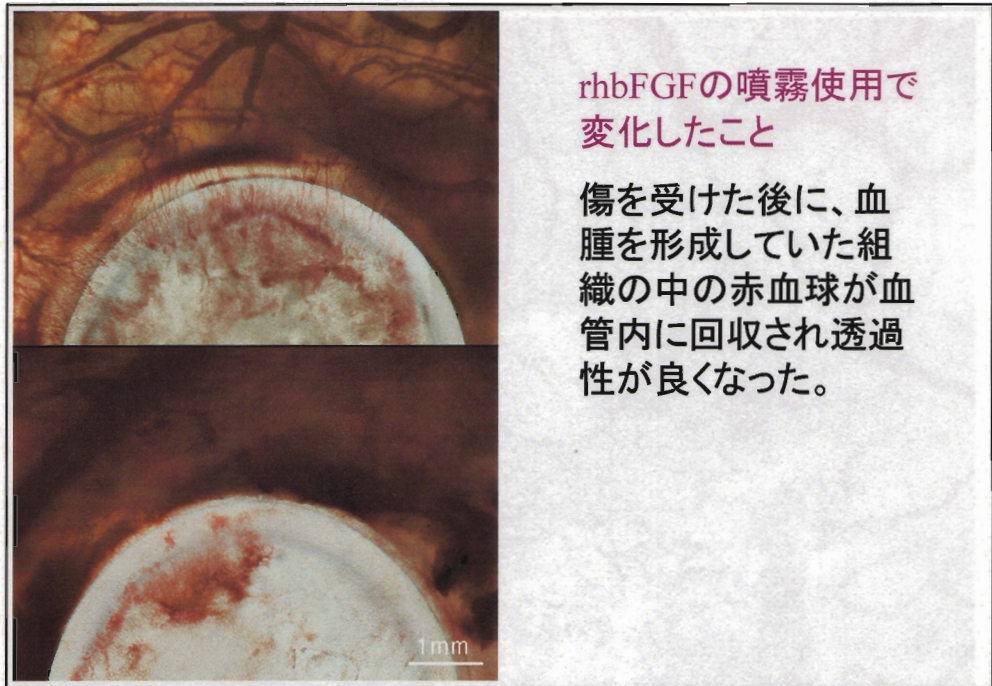
この報告書では研究成果として、本研究のために開発した観察窓について「軽量で開閉可能な家兎耳介観察窓の開発」をまとめ、*bFGF* の組織治癒に対する影響を観察し「A single local application of recombinant human basic fibroblast growthfactor accelerates initial angiogenesis during wound healing in rabbit ear chamber」とした。留置した足場に対する細胞の反応を観察するために撮影方法を工夫し、「Macroscopic sequential pictures of angiogenesis in a rabbit ear chamber」としてまとめた。

参考論文として、人工臓器の中でも人工血管に注目し「人工血管-この1年の進歩」を学んだ。心臓血管外科領域では虚血性心疾患の冠動脈バイパス術に焦点を絞り内胸動脈を1本使用したときに比べ、2本での利点を評価し「Benefit of bilateral over single internal mammary artery grafts for multiple coronary artery bypass grafting Superiority of bilateral internal thoracic artery grafting」、また糖尿病患者における動脈グラフトの利点を考え「Bilateral versus unilateral internal mammary revascularization in patients with diabetes」をまとめた。3種の動脈グラフトをin situで使用して「Coronary artery bypass with only in situ bilateral internal thoracic arteries and right gastroepiploic artery」と「Survival benefit of exclusive use of in situ arterial conduits over combined use of arterial and vein grafts for multiple coronary artery bypass grafting」において生存率を評価した。大動脈炎症候群の冠動脈病変に注目し、「Angiographic findings and surgical treatments of coronary artery involvement in Takayasu arteritis」をまとめたのち、HLAのタイピングを行うきっかけとなった。心臓に形成された血管腫自体は良性であるが、診断をつけることが困難であり、左室から切除し、左室形成術を行った症例を「Reconstruction of left ventricle in patient with cardiac hemangioma at apex」として報告した。造影剤で冠動脈バイパスグラフトが閉塞した症例を数例経験し、「Acute occlusion of coronary artery bypass graft with nonionic contrast medium」として報告した。この時、乱流が原因の1つであることが示唆された。大変珍しい慢性心嚢内慢性血腫の症例があり、「Chronic expanding intrapericardial hematoma after pericardial paracentesis」として報告した。人工臓器の多くに金属が多く使われているが、30年も体内に植え込まれていた標本を摘出して観察することは稀である。摘出されても廃棄物として捨てられることがほとんどであるステンレスの胸骨ワイヤーを分析し「Corrosion of stainless steel sternal wire after

long-term implantation」にまとめた。この結果では、アレルギー反応などなく植え込まれていたステンレスの表面は腐食していたが、それほど強くなく、強度に影響しないと思われた。前立腺肥大症を局所治療により治療し、ホルモンの全身投与による合併症を減らす試みを動物実験にておこない「Local injection of a sustained-release antiandrogen formulation into a target prostatic site: an experimental study」にまとめた。外科用接着剤をナノテクノロジーを用いて「A novel synthetic tissue-adhesive hydrogel using a crosslinkable polymeric micelle」を行った。

まとめ

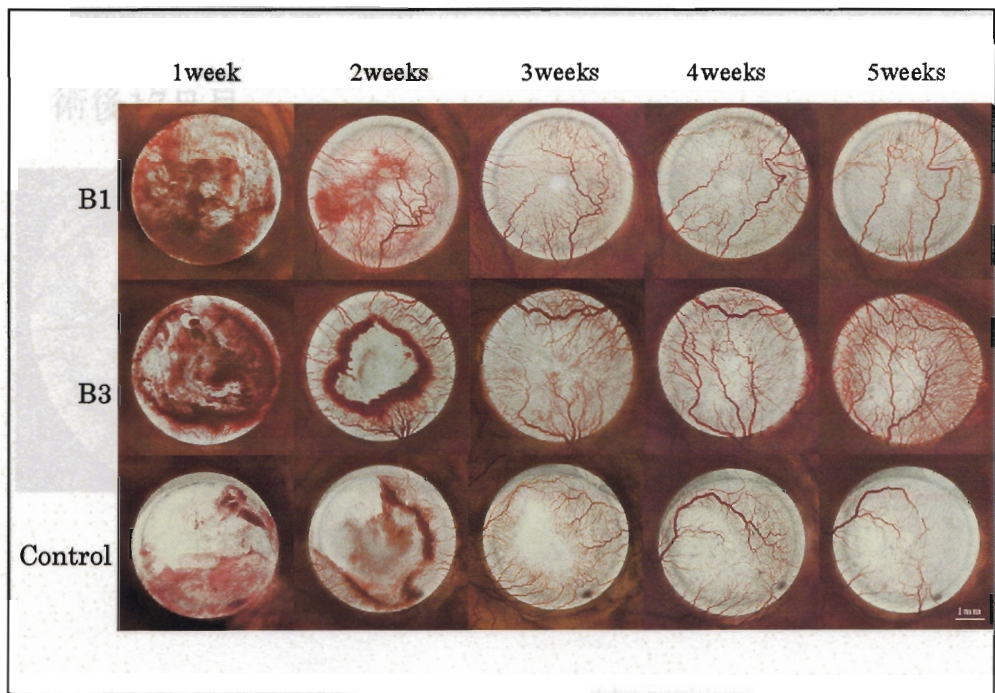
この度は『組織工学による経時的にリモデリングして血管壁が再構築する人工血管と組織再生の過程』の研究を行ったが未だ解明されていない部分は多数あり、さらに研究を進めていきたい。



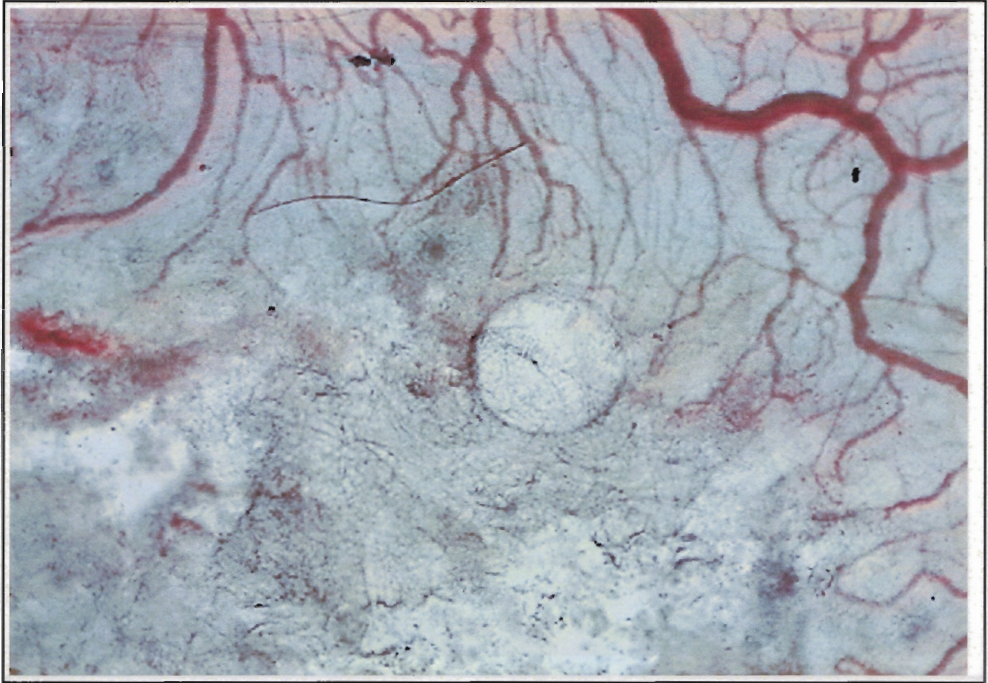
**rhbFGFの噴霧使用で
変化したこと**

傷を受けた後に、血腫を形成していた組織の中の赤血球が血管内に回収され透過性が良くなった。

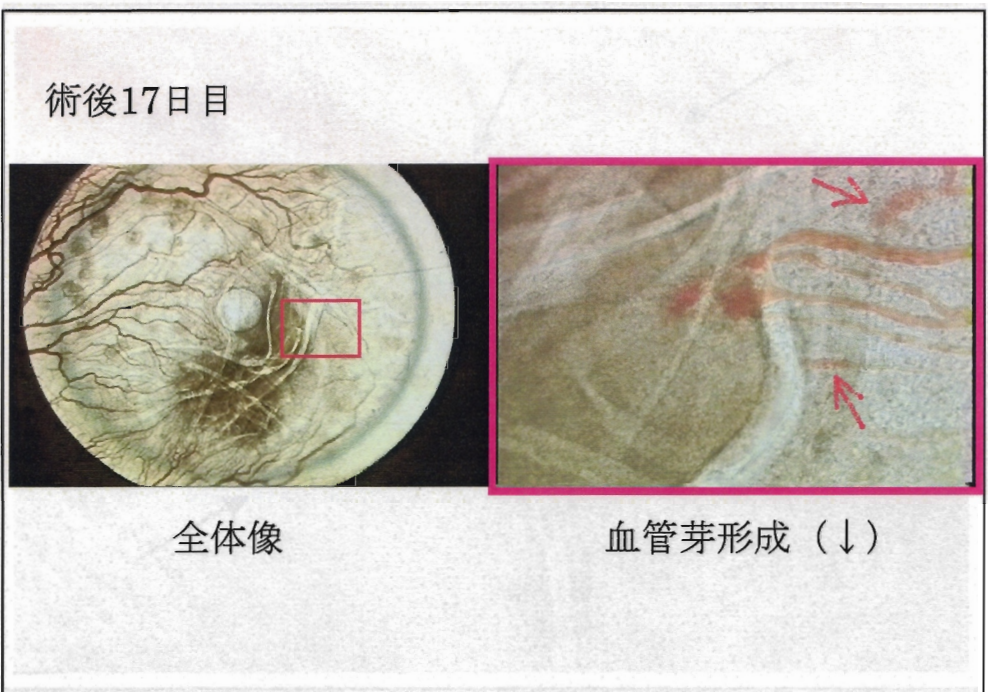
rhbFGFを用いた（上）ときの血腫の消退(術後1w)。下は対照。



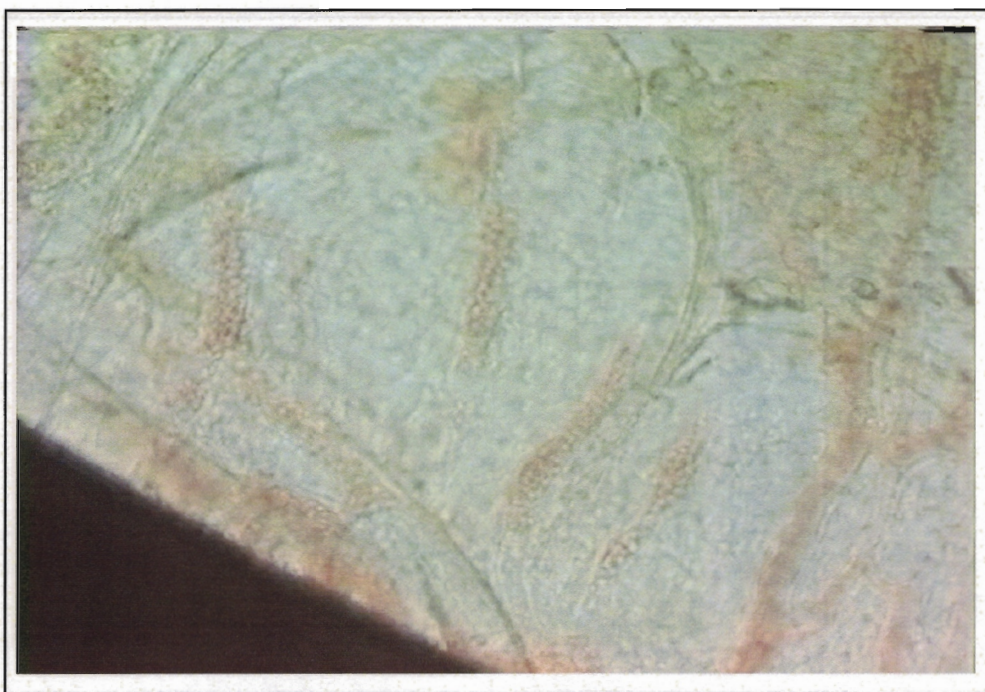
薬剤負荷したREC（術後1週間後から5週間後まで）
（B1:rhbFGF、B3:B1の3倍量、Control:生理食塩水）



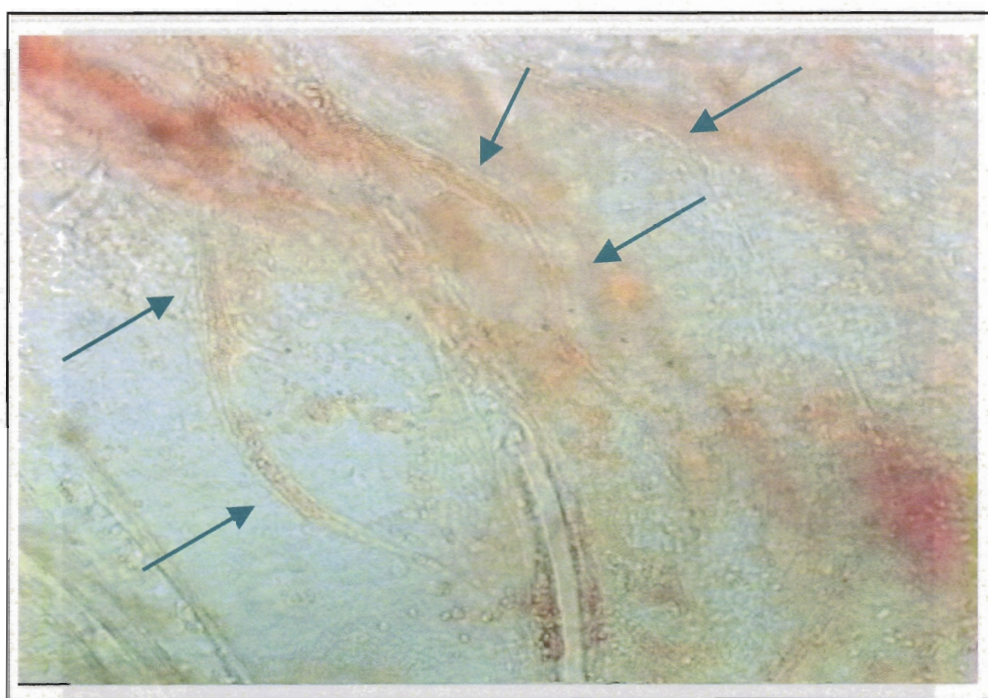
材料の細胞親和性が悪いと血管が伸展せず先細る（材料は下側に留置）。



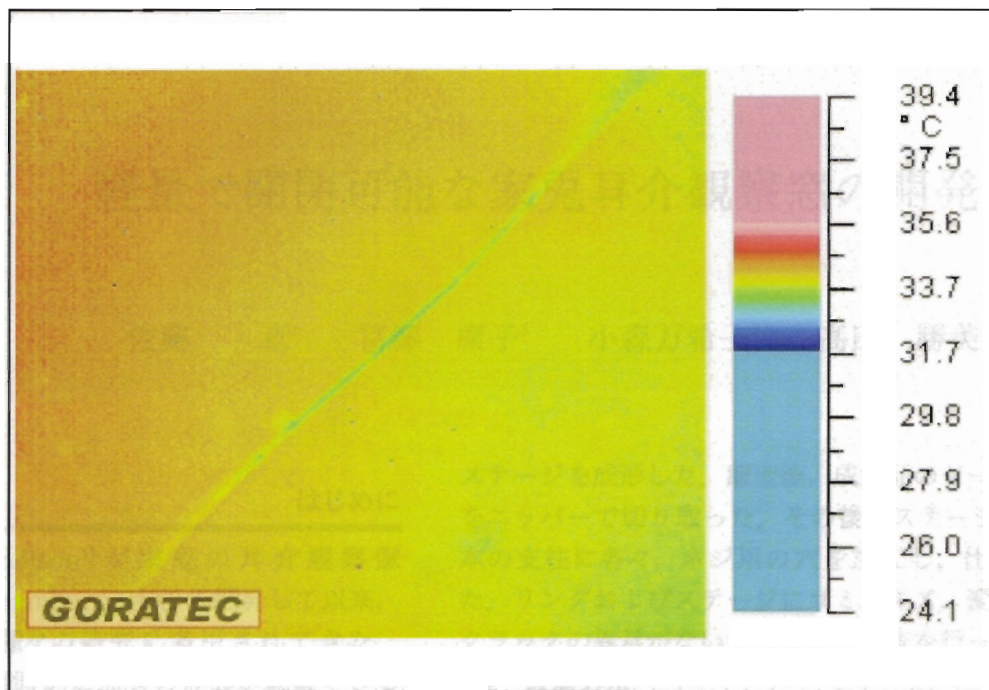
綿状アテロコラーゲン製足場を留置したRECにおける血管新生。血管芽が多数観察できる。



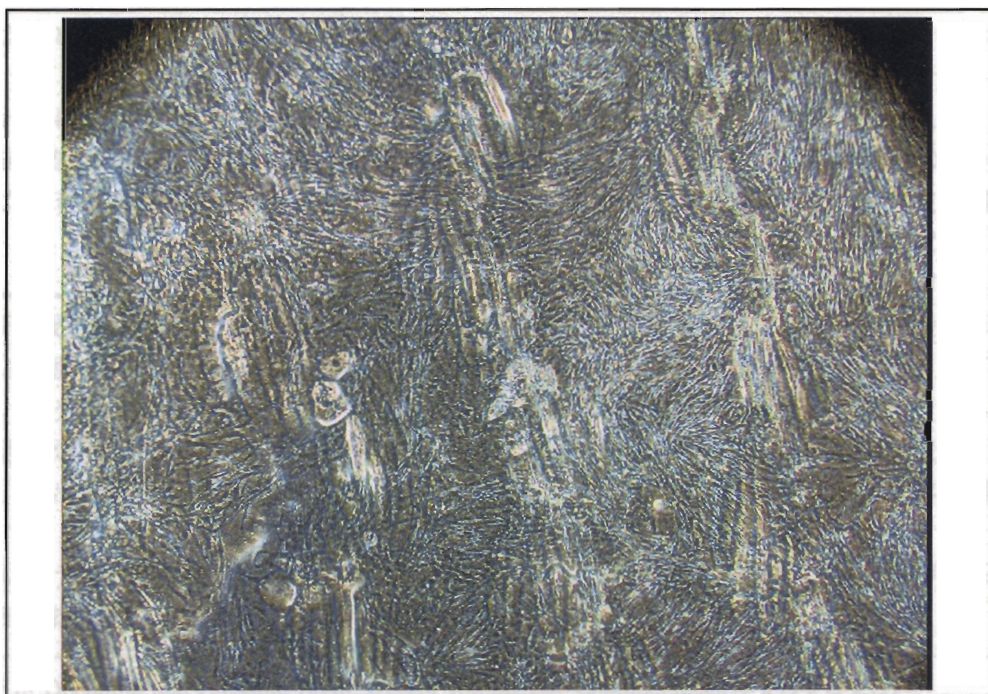
ゲル状アテロコラーゲンを足場としたREC。前日にはなかった血管芽が24時間で多数形成された。連日観察により明らかになった。



ゲル状アテロコラーゲン中の血管芽 術後7日目



Thermography検査によりREC中の細小血管が収縮した
後には周囲の組織に比べて0.85°Cの差が測定された。



細胞培養時、用いた足場が溶ける時に酸性になると細胞剥
離が起きる。