

東邦医学会賞受賞記念講演要旨 平成15年度 (I)

培養細胞播種・生体吸収性ポリマーによる
バイオ心血管グラフト

小 澤 司

東邦大学医学部外科学講座 (大森) 心臓血管外科



はじめに：全世界における再生医療研究の進歩に伴い、自家細胞由来の再生心血管組織が患者生体へ移植される時代が、現実的に訪れつつある。

この再生心血管グラフトは、先天性心奇形や虚血性心疾患の外科治療において、これまで用いられてきた非吸収性ポリマーや異種心膜、あるいはホモグラフトに、取って代わることが確実視されている。患者生体にとって、従来型の非吸収材料が移植された場合、異物として半永久的に存続し、不完全な耐久性に加えて、しばしば血栓形成、狭窄、易感染性、石灰化のリスクがつかまとう。特に先天性心疾患の外科治療では、移植された非吸収グラフトが成長性を持たないために、患児が成長するとともにサイズミスマッチを生じ、患児はもう一度、旧グラフト摘出・新グラフト移植術を受けなくてはならず、不幸な悪循環が生じている。

しかし一方で、培養自家細胞から構築された再生心血管グラフトは、血栓を作ることなしに患児とともに成長する可能性は高い。したがって心血管再生医療が克服すべき先天性疾患のターゲットとして、ファロー四徴症をはじめとする右室流出路・肺動脈狭窄疾患群、あるいはフォンタン型手術を要する単心室疾患群が挙げられる。しかしながら再生心血管グラフトを創造する際、播種する培養細胞の選択 (骨髄幹細胞、骨格筋芽細胞、あるいは血管平滑筋細胞など) もさることながら、細胞増殖の足場として、いかなる生体吸収素材が適しているかわからない。したがって、細胞増殖の良好な足場となり、外科的修復に耐えられる至適生体材料を検討すべく、①ポリ-L-乳酸ニットで強化された、L-乳酸とε-カプロラクトンからなる共重合体スポンジ (PCLA)、②ポリグリコール酸メッシュ (PGA)、③ゼラチンスポンジ (GEL) の各ポリマーシートを培養細胞の足場として選択し、比較検討を行った。

方法：[In vitro] 免疫拒絶のないラットの大動脈から

採取された血管平滑筋細胞 (SMC) 2×10^6 個をPCLA, PGA, GELの各吸収性ポリマーシートに播種し、培養した (各群n=11)。播種後1, 2, 3週において、細胞播種ポリマーシートよりDNAを抽出し、シート内部における経時的な細胞増殖を調べ、さらに播種後2週において、組織学的に比較検討した。

[In vivo] ラットの右室流出路心筋を貫壁性にくり抜き、細胞播種および非播種のPCLA, PGA, GELの各ポリマーシートを心筋欠損部にパッチとして縫着・再建し、ラットを生存させた。またポリマーシートに播かれた細胞が、右室心筋に移植された後も生存するかどうかを調べるため、各細胞播種群のポリマーシート7枚のうち2枚には、移植術前にBrdUによって細胞標識を行った。右室心筋パッチ再建術後8週にてラットを犠牲死、右室流出路のポリマーパッチ再建部の形態・組織学的検討を行った。

結果：[In vitro] 細胞播種ポリマーシートからのDNA量は、播種後1~3週にかけて3群ともに上昇した ($p < 0.05$)。α-smooth muscle actin (αSMA) を用いた組織所見では、PCLA, GELポリマーシートにおけるSMCの内部増殖は、PGAよりも良好であった。

[In vivo] すべての群で、右室流出路パッチ再建部のポリマーシートは生体吸収過程にあり、そのかわり3次元的な拡がりを持って豊富な細胞成分と細胞外マトリクス (膠原線維, 弾性線維) に置き換わっていた。

BrdU抗体を用いた免疫組織染色に関しては、シートに播種する前に標識された平滑筋細胞が、心筋に移植された後、少なくとも8週間生存したことが証明された。しかもすべてのパッチ心内膜側には一層のFactor VIII陽性細胞を認め、内皮化を呈した。

各細胞播種パッチ群は、細胞が播かれていないコントロール群に比べ、αSMAと弾性線維陽性率が有意に高く、体

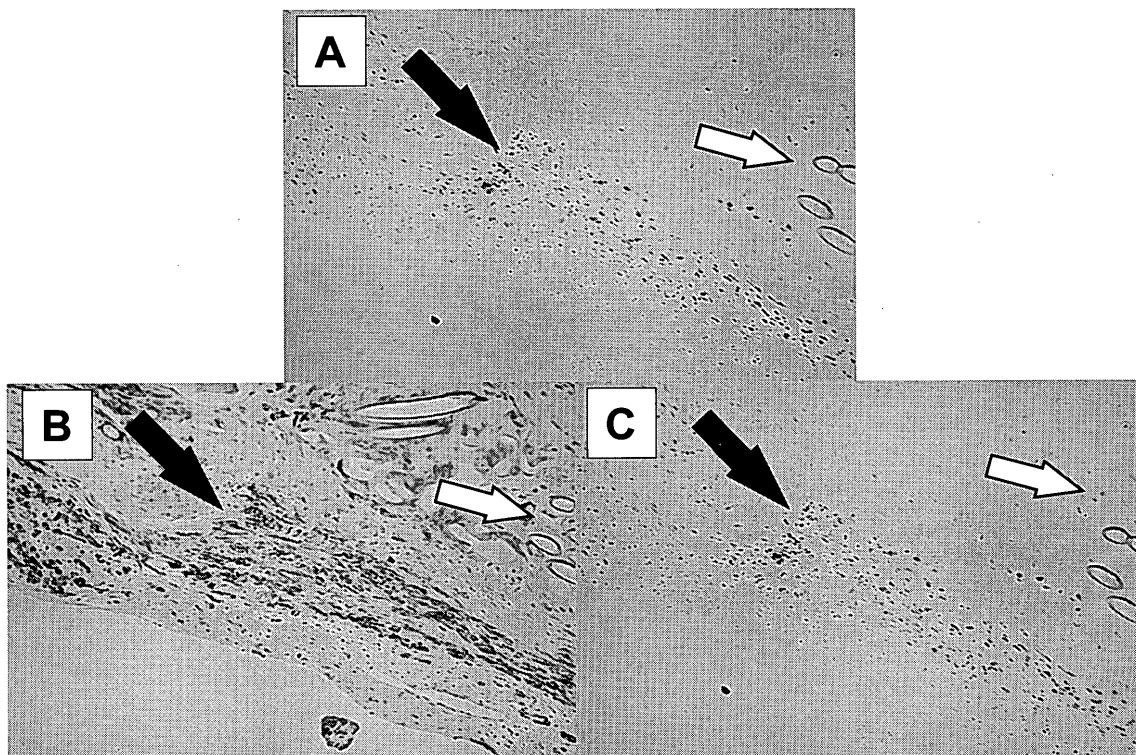


Photo 1 The distribution and localization of BrdU-labeled cells (A, black arrow, 100×) corresponded to the location of smooth muscle identified by staining with anti- α SMA (B, black arrow, 100×) and with the location of elastin fibers (C, black arrow, 100×) in the cell-seeded patches. White arrow indicates the remaining polymer fibers.

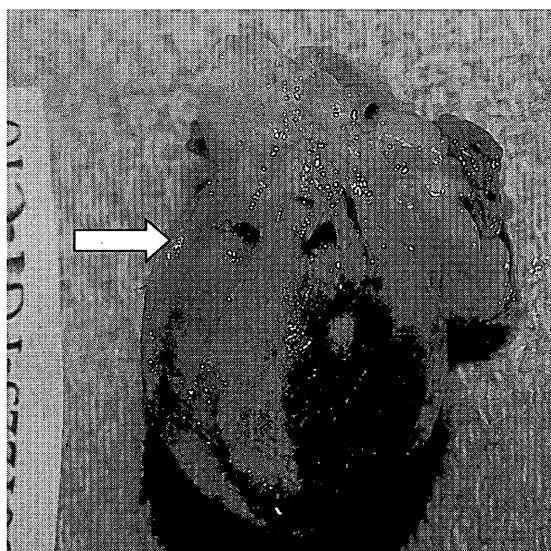


Photo 2 A long axis-sectioned specimen of a rat heart after the right ventricular outflow tract (RVOT) replacement with a cell-seeded biodegradable patch. The white arrow indicates the transmurally replaced part with the patch in RVOT.

外における細胞播種操作が、シート移植後の筋組織形成と細胞外マトリクス産生に大きく作用することが示された。

また細胞播種パッチ 3 群中、PCLA パッチ再建部が GEL, PGA と比べて、生存細胞数、 α SMA、弾性線維発現率のいずれも良好であった ($p < 0.05$)。さらにパッチ内部で生存した血管平滑筋細胞の局在が、新たに構築された平滑筋層と弾性線維層に一致したことも組織学的に証明された (Photo 1)。このことから播種された細胞が生存・増殖し、筋組織を形成、さらに弾性線維発現にも寄与した可能性が示された。

また PCLA シートによる右室パッチ再建部は他群と比べ、菲薄化・拡大化を示さず、瘤化をきたす傾向は認められなかった (Photo 2)。

結語：右室流出路パッチ再建部において、生体吸収性ポリマーシートに播種された血管平滑筋細胞は、移植術後少なくとも 2 カ月以上生存し、弾性線維の発現とともに新たな筋組織を形成した。したがって血管平滑筋細胞が播種された生体吸収性ポリマーは心筋修復用のパッチ材料として応用可能と考えられる。またハイブリッド構造を持つ PCLA ポリマーシートは、細胞増殖と細胞外マトリクス産生の良好な足場を提供し、右室壁での形状安定性をも示し

40 (40)

たことから、心大血管の再生医学的外科治療に適した生体吸収性材料と考えられた。

本講演の要旨は、*Circulation* **106** : I-176-182, 2002 に掲載された内容である。