

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 ①・論	第 720号	氏名	梅野 惟史
審査委員会委員	主査氏名	穴井 博文	②
	副査氏名	下村 剛	③
	副査氏名	小副川 敦	④
論文題目 Carotid Artery Bypass Surgery of In-Body Tissue Architecture-Induced Small-Diameter Biotube in a Goat Model: A Pilot Study (生体内組織形成術を用いて作成した細径 Biotube によるヤギ頸動脈バイパス手術のパイロット研究)			
論文掲載雑誌名 Bioengineering 2024, Volime11, Issue3, 203			
論文要旨 生体自己材料である Biotube の成山羊を用いた移植実験を行い、移植後に生じる生体反応に関して組織学的解析を行った。 成ヤギ6頭を用い、胸背部皮下に Biotube 作成用の鋳型を1-5か月埋植し、長さ50cm、内径4mm、壁厚0.85mmの Biotube を得た。Biotube を作成した同一個体の頸動脈に12cmの Biotube を用いて頸動脈バイパス手術を施行した。バイパス術後、超音波検査を行い、Biotube graft の開存、およびグラフト内の血流速度を測定した。最長6ヶ月間の観察後、グラフトを吻合部を含めて摘出し、組織学的解析を行った。 鋳型から合成され、移植に用いられた8本の Biotube はいずれもヤギの native 頸動脈の引張強度以上の強度を持っていた。1グラフトは抗凝固療法不十分による術後早期血栓閉塞をきたした。術後1週間以内にグラフト破綻による出血が見られた2グラフトは引張強度が5N以下であった。5グラフトに関しては瘤化せず、2ヶ月以上の開存を達成した。その5グラフト中3グラフトではバイパス術後約1ヶ月で内腔の狭窄が認められるようになり、狭窄が発生した位置はいずれのグラフトも吻合部より2cm程度離れた、血流の淀みを生じる場所という共通点があった。残りの2グラフトは狭窄、瘤化は認めず6ヶ月間の開存を達成した。組織学的評価の結果、2ヶ月間で Biotube のグラフト壁を scaffold にして α SMA 陽性の筋線維芽細胞が新生してきており、また内腔面全長にわたる内皮細胞を認めた。3ヶ月において内皮細胞は内腔面の一層を形成し、6ヶ月にかけて新たな血管壁としての構造を維持していた。内腔狭窄をきたしたグラフトで生じた組織学的評価で、内腔面のフィブリンの形成、修復型マクロファージの過剰な集簇、 α SMA 陽性の筋線維芽細胞の増生にともなった内膜肥厚が明らかになった。 Biotube 同種移植実験における Biotube の強度は5N以上が必要であることが明らかとなった。また適切な抗血栓薬の使用も、長期開存には必要であった。早期血栓閉塞を予防するには、グラフトの血管壁再生の過程において内膜肥厚をきたさないようにすることが長期開存に必要であった。グラフト吻合をなめらかにし、適切な壁せん断応力で健全な内皮細胞を増生させることが、血管壁再生に必要な条件であると考えられた。 本研究は、生体反応を利用した自己組織「Biotube」の生態的合成に関して大動物を用いた検証実験と組織学的解析を行いまとめたもので、人工血管や、静脈グラフトに変わりうる新たな閉塞性動脈疾患の治療法として発展可能なものである。 このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。			

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

審査区分 課・論	第720号	氏名	梅野 惟史
審査委員会委員	主査氏名	穴井 博文	(印)
	副査氏名	下村 剛	(印)
	副査氏名	小副川 敦	(印)
<p>学位申請者は本論文の公开发表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Biotubeの厚さのばらつきはないのか。鑄型の精度は保たれているのか。 2. 19本中8本で実験した。あと11本はどのような状況だったのか。 3. 植込み期間と引張強度と組織学的変化とはどのような関係があったのか。 4. 植え込み2か月が最適で、短くても長くても悪いのか。 5. 狭窄を来したことは、初期流量と因果関係があるのか、その機序は。 6. グラフトの中央部と吻合部付近、その中間で組織学的変化が異なる理由、機序について考察せよ。 7. 直線の方が、core rodの位置の精度が上がるとは思います、渦巻き状にしたのはなぜか。 8. Biotubeの移植はどのようにしたか。 9. Core rodの素材の選択理由を述べよ。 10. IBTAが応用されているものは、他にどのようなものがあるのか。 11. IBTAが実際に臨床応用されていることがあるのか。 12. Biotubeが血管壁組織に置換されて行く機序について述べよ 13. Biotubeのサイズについて、内径を4mm厚さを0.85mmに設定した根拠を説明せよ。 14. Biotubeの作成にあたって、ヤギの性別や年齢は関係あるのかどうか、ヒトで対象となるのは高齢者と考えられるが、年齢がBiotubeの形成や移植後の機能に与える影響はどう考えられるか。 15. 血流を考えると端端吻合の方が良いと思うが、端側吻合を採用した理由について説明せよ。 16. Biotube作成時、6ヶ月が最も強度が高かったが、2か月の方が移植後の機能は優れているという理由をどのように考えるか説明せよ。 17. Biotube移植後の血管内皮細胞や筋線維芽細胞の経時的な変化を説明せよ。また、PTFEなどの人工血管との違いを説明せよ。 <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 梅野 惟史

論 文 題 目

Carotid Artery Bypass Surgery of In-Body Tissue Architecture-Induced Small-Diameter Biotube in a Goat Model: A Pilot Study

(生体内組織形成術を用いて作成した細径 Biotube によるヤギ頸動脈バイパス手術のパイロット研究)

要 旨

(緒言) Biotube は生体内組織形成術によって作成された患者の生体由来の管腔状自己組織であり、臨床使用に実現可能な移植用グラフトである。今回の研究では Biotube の臨床前使用として大型動物である成ヤギモデルを用いて移植実験を行った。移植後に生じる生体反応を組織学的解析をもって検証した。

(研究対象および方法) 成ヤギ 6 頭の胸背部皮下に鑄型を所定の期間、1-5 ヶ月間埋植したのち、長さ 50 cm、内径 4mm、壁厚 0.85mm の Biotube を得た。Biotube を作成した同一個体の頸動脈に 12cm の Biotube を用いて頸動脈バイパス手術を施行した。バイパス手術後は定期的に超音波検査を体表から行い、Biotube graft の開存とグラフト内の血流速を測定し記録した。最長 6 ヶ月間の観察を行ったのち、吻合部もふくめグラフトを摘出し、組織学的解析を行った。

(結果) 鑄型から合成され、移植に用いられた 8 本の Biotube はいずれもヤギの native 頸動脈の引張強度以上の強度を持っていた。1 グラフトは抗凝固療法不十分による術後早期血栓閉塞をきたした。術

後1週間以内にグラフト破綻による出血が見られた2グラフトは引張強度が5N以下であった。5グラフトに関しては瘤化せず2ヶ月以上の開存を達成した。その5グラフト中3グラフトではバイパス術後1ヶ月を経過したあたりより、徐々に内腔の狭窄が見られ始めたが、その狭窄を生じた位置はいずれのグラフトも吻合部より2cm程度離れた、血流の淀みを生じる場所という共通点があった。残りの2グラフトは狭窄も瘤化のせず6ヶ月間の開存を達成した。組織学的評価の結果、2ヶ月間でBiotubeのグラフト壁をscaffoldにして α SMA陽性の筋線維芽細胞が新生してきており、また内腔面全長にわたる内皮細胞を認めた。3ヶ月において内皮細胞は内腔面の一層を形成し、6ヶ月にかけて新たな血管壁としての構造を維持していた。内腔狭窄をきたしたグラフトで生じた組織学的評価で、内腔面のフィブリンの形成、修復型マクロファージの過剰な集簇、 α SMA陽性の筋線維芽細胞の増生にともなった内膜肥厚が明らかになった。

(考察) Biotube同種移植実験におけるBiotubeの強度は5N以上が必要であることが明らかとなった。また適切な抗血栓薬の使用も、長期開存には必要であった。早期血栓閉塞を予防するには、グラフトの血管壁再生の過程において内膜肥厚をきたさないようにすることが長期開存に必要であった。グラフト吻合をなめらかにし、適切な壁せん断応力で健全な内皮細胞を増生させることが、血管壁再生に必要な条件であると考えられた。

(結語) 今回の組織学的評価によって、Biotubeが新たな血管壁として再生する過程を観察し、狭窄メカニズムを明らかにすることができたと考える。今後は血流シミュレーションを利用した流体力学的評価も加えること、安定した開存率を得られるよう症例数を増やしていき、臨床使用に向けてさらなる検証的試験の段階へと進みたいと考える。