



TITLE:

A novel approach for the endothelialization of xenogeneic decellularized vascular tissues by human cells utilizing surface modification and dynamic culture(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Ho, Wen-Jin

CITATION:

Ho, Wen-Jin. A novel approach for the endothelialization of xenogeneic decellularized vascular tissues by human cells utilizing surface modification and dynamic culture. 京都大学, 2023, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2023-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k24526>

RIGHT:

この論文はCreative Commons Attribution International license CC BY 4.0により使用許諾されています。 <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.ja> したがって、適切なクレジットを表示し、ライセンスへのリンクを提供し、変更があったらその旨を示す限り、どのようなメディアやフォーマットでも資料を複製したり、再配布できます。また、営利目的も含め、どのような目的でも、マテリアルをリミックスしたり、改変したり、別の作品のベースにできます。

京都大学	博士（医学）	氏名	何文晋
論文題目	A novel approach for the endothelialization of xenogeneic decellularized vascular tissues by human cells utilizing surface modification and dynamic culture （灌流システムと表面加工による異種動物由来脱細胞血管組織内皮化法の確立）		
（論文内容の要旨）			
<p>冠動脈バイパス手術は、現在虚血性心疾患に対する最も有効な治療手段の一つである。しかしながら、バイパスグラフトに用いることのできる小口径人工血管は未だ開発されておらず、自家血管の使用に制限がある場合の血行再建手術における代替手段がない。この問題を解決する一つの手段として、脱細胞化技術に着目した臨床に応用しうる小口径バイオエンジニアリング人工血管の開発が進められている。異種動物組織の脱細胞化技術を用いて異種動物細胞由来抗原を排除することにより、バイオエンジニアリング人工血管の将来的な血行再建手術における応用が期待される。</p> <p>本研究では、組織細胞外マトリクス蛋白の損傷が少ない高静水圧脱細胞法（HHP）による異種動物由来脱細胞組織を用いて、ヒト血液に対する抗血栓性を有する小口径バイオエンジニアリング人工血管の作成法を確立するため、ヒト血管内皮細胞による組織の内皮化を試みた。</p> <p>まず初めに、ゼラチンコートを行ったブタ大動脈由来 HHP 脱細胞組織に対してヒト臍静脈内皮細胞を播種し、灌流培養システム（20 cm/s）を用いて14日間までの培養を継続し、経時的な Calcein-AM を用いた生細胞評価による組織表面被覆率を確認したところ、培養日数が進むに従い内皮化効率は減少し、14日目には生細胞による表面被覆率は50%以下となった。</p> <p>この結果を受けて、ヒト血管内皮細胞に高い親和性を持つヒト組み換えラミニン411により組織表面を前処理したところ、より高効率の内皮化が得られた。14日間の培養において100%に近い表面被覆率を維持し、免疫染色により組織表面に連続的な単層内皮層が再構成されることを確認した。これらの内皮化組織に対してヒト血液を用いて血栓形成試験を行ったところ、灌流培養培養とラミニン411前処理を併用した群において、その他の群と比較して血栓形成が有意的に減少した。</p> <p>これらの結果は、灌流培養システムと組織表面前処理の併用により、異種動物由来脱細胞化組織に対する高効率のヒト細胞による内皮化が得られることを実証しており、内皮化脱細胞組織を用いた小口径人工血管による血行再建手術の可能性を示している。</p>			

（論文審査の結果の要旨）

冠動脈バイパス手術に用いることのできる小口径人工血管は未だ開発されておらず、自家血管の使用に制限がある場合における代替手段がない。低抗原性な異種脱細胞組織グラフトを開発するため、本研究では高静水圧法による異種脱細胞組織をヒト血管内皮細胞で被覆し、抗血栓性を有する血管組織の培養を確立することを目的とした。

まずゼラチンコートブタ大動脈脱細胞組織に対してヒト臍静脈内皮細胞を播種し、14日間の灌流培養で経時的なCalcein-AM生細胞評価による組織被覆率を確認したところ、14日目には生細胞による表面被覆率は50%以下に減少した。そのためヒト血管内皮細胞に高親和性のヒト組み換えラミニン411により組織をコートしたところ、14日間、20cm/s定速流の灌流培養において100%に近い表面被覆率を維持し、連続単層内皮層が再構成されることを確認した。内皮化組織に対してヒト血液を用いて血栓形成試験を行ったところ、灌流とラミニン411前処理を併用した群が有意な血栓形成の減少が示された。血管の形状を模したチューブ型容器においてもプレート型と同様に、Dynamic/hL411では高い被覆率が示された。

本研究では灌流システムとラミニン411による組織表面前処理の併用により、脱細胞化組織での高効率な内皮化を実証している。内皮化脱細胞組織を用いた小口径人工血管開発の可能性を示しており、心臓血管外科学領域における新たな手術材料の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和5年2月16日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。