

厚生労働科学研究研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

ハイブリッド型人工血管の作成に関する研究

平成14年度 総括研究報告書

主任研究者 野一色 泰晴

(横浜市立大学医学部外科学第一講座 講師)

平成15(2003)年4月

目 次

I. 総括研究報告書

ハイブリッド型人工血管の作成に関する研究	1
野一色 泰晴	

II. 研究成果資料

1. 心筋組織の欠点の活用	17
2. In vivo tissue engineering	26
3. 細胞活動の賦活化法	29
4. 人工血管開発を組織工学的に考える	31
5. Vascular prostheses transplanted with bone marrow	45
6. 細胞の本能的性質を利用する方法	59
7. 生体のもつ潜在的能力を活用して血管壁を作る試み	65

III. 参考資料

1. The long-term clinical results of vascular prostheses sealed with autologous adipose tissue fragments	72
2. 超極細繊維の人工血管領域への導入	78
3. 超極細繊維を用いた人工血管の開発の経緯	92
4. FABRIC VASCULAR GRAFTS MADE OF ULTRAFINE FIBER	100
5. ハイブリッド型人工血管の開発	115

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

	120
--	-----

V. 研究成果の刊行物・別冊

1. 人工血管の骨髄細胞による内皮化	121
2. A method for inducing the growth of new coronary arteries in the myocardium	127

ハイブリッド型人工血管の作成に関する研究

主任研究者 野一色 泰晴 横浜市立大学医学部外科学第一講座・講師

研究要旨 患者自身の治癒力を人為的に引き出し、それを人為的に誘導することで血管壁組織の自己形成を促す技術を開発し、この手法を活用して治癒力の低下した高齢者にも有利な治癒をもたらすハイブリッド型人工血管を開発する事を、3年計画の本プロジェクトの目標としている。本年度は本プロジェクトの最終年度にあたることから、過去2年間で得られた成果を基礎として、組織工学的な考え方を組み込んで更に進んだ考え方を創成した。具体的には、血管壁を心筋組織内に人為的に形成誘導する方法である。動物実験として、生体内で吸収されるハイドロゲルを用いて柔軟な紐を作り、心筋内にエラストマー針を用いて挿入した。1ないし2週間でハイドロゲルが吸収されたときには、その部位に血管が創成された。この方法によって、任意の部位に任意のサイズで任意の枝分かれなどの形態を持ち、しかも任意の長さの任意の太さの血管を創ることが可能となった。本手法は虚血性心筋障害の治療に役立つことが期待される。

A. 研究目的

組織工学の基本に則り、組織や臓器を生体内で創成するために、それに要求される3要素、すなわち、細胞、細胞外マトリックス、細胞性中因子、を満たす環境を創り、その上で、血管壁形成を行うような、すなわち、血管壁形成の誘導技術を確立する事が本研究の目的である。

生体内でこの目的を達成するには、生体の持つ特性を最大限に活用する必要がある。そして、生体の最大の特徴は「自己修復能力を持つこと」であることを勘案して、自然治癒力を最大限に活用することで、細胞組込型の血管壁を創成するように誘導する技術を確立することを本研究の目的とする。

患者自身の身体には、他の人工物、人工臓器

にない力、すなわち、自然治癒の力がある。個体を形成する細胞や組織には自己修復能力がある。これは生きている生物の特性であり、強みである。生体は一見して弱い存在であるが、この自己修復能力があるために、他の人工物にない力を持っている。

本研究では、これを活かし治癒力の方向付けを行うことによって、意図した血管壁を人為的に作らせるのである。そうすることによって、治癒力の低下した患者、高齢者においても、機能的に安定した血管壁を創り出すことが可能になる。とくに小口径人工血管を安定的に長期間開存させるには、このような自然治癒力の活用が最も望ましいと、我々は考えてきた。しかしながら我々はそれをどのようにすれば引き出せ

るのかについての技術を持っていなかったため、それを適切に使用することができなかった。

この度のプロジェクトでは、当初、我々が得てきた骨髄細胞の自家移植技術によって新たな血管壁を創成する方法を考案した。その為の技術としては、組織工学的な手法を採用した。組織工学を効率よく勧める上においては、前述したとおり、組織工学の3要素を満足させることを考えるのが、まず最初に必要な事である。そこで、初年度はその様な人工血管を作成する上に置いて、最も基本であるマトリックスとして、何を採用するかを考えた。その結果、超極細ポリエステル繊維を使用する事、e-PTFE graftの場合には、骨髄組織をトラップさせて、その場で組織工学的に培養して増殖させ、マトリックス内にて更に増殖させて新たな組織を構築させる方法を採用した。

この成果を受けて、2年度では、我々は更なる目標を高いところにおいて、チャレンジ的な研究を開始することにした。すなわち、臨床で最も期待されている領域としては、心筋梗塞などの虚血性心疾患時に使用可能な血管の創成である。これまで世界中の多くの研究者が、その創成を目指して粘り強い努力を行ってきた。しかしながらだれ一人としてなし得なかった課題である。我々はこの領域に於いて、組織工学的な手法を用いることによって、更には患者自身の治癒力を用いて新たな血管壁を創成し、その結果として、人為的に作成したハイブリッド型の血管が長期間安定して開存し続けるための条件を明らかにする事を、研究の目的とした。その結果、心筋組織内に血管壁形成を誘導する技術の創出に世界で初めて成功することが出来た。

そこで3年度では、この様な血管壁形成の誘

導を確実にを行うためには、如何なる条件が必要であるのか、どのような時に形成され、どのような時に形成されないのか、と言ったことに主眼をおいて、可能性を確実な物にするための諸条件を細かく検討し、2年度に見いだした可能性について、それを普遍的な技術として確立させ、誰が行おうとも期待した成果が得られるようなするための諸条件の解明を研究の目的とした。

B. 研究方法

1. 研究の基本的考え方

生体内で組織を創成するための基本的考え方として、我々は組織工学の3要素を準備することを常に念頭に置いてこの研究をスタートさせた。組織工学の3要素としては、細胞、細胞外マトリックス、細胞成長因子、が挙げられる。この要素を揃えると、その部位に於いて組織が自然に形成される。その時にそれらの要素に人為的に操作を加えることによって、意図的に形成される組織の形態、機能などを誘導し、目的とした組織を生体自身の治癒力を駆使させて、意図したとおりに創らせることが可能となる、と、私は考えている。これが本研究の基本的考え方である。

2. 研究の背景

人工的に血管を創ることは人類の長年の夢であった。古くは古代エジプトのピラミッドの時代に、そして中国の古書にも、いずれも4500年以上の昔に、その必要性が記載されていた。しかしながら、それを実現することなく20世紀を迎え、1945年の世界第二次大戦の終結の頃でさえ、人工血管は作られていなかった。敷かし、20世紀の後半に血液が漏れるような布を丸め

て人工の血管として動物に植え込むと、血栓によって布の編み目が目詰まりされ、血液が漏れなくなり、人工血管が開存する事が示されて以来、臨床でも使用可能な人工血管が多くの企業によって作られるようになり、これまで不幸な転帰を辿らざるを得なかった多くの動脈瘤罹患患者を救うことが出来るようになった。

しかしながら、静脈領域や四肢の末梢領域、頸動脈領域等の細い動脈において、特に心臓に栄養を与える冠動脈領域においては、安心してしゆできる人工血管の開発は21世紀における課題として残されてしまった。

我々は本プロジェクトに入る前から、このような小口径人工血管の開発を目指しており、その手法としては、組織工学的に小口径人工血管を作成する研究を行ってきた。初めはこの流れを受けると同時に、我々の本プロジェクトでの創意工夫も加えた人工血管の創成を行ってきた。しかしながら時代は急速に変わり、臨床からの要求も急激に変化している。そこで、臨床での要求を更に突き詰めることで、次世代で必須をされる要求を先取りして、血管の創成を行うこととした。

3. 心臓疾患臨床からの要求

優れた人工血管の開発における需要の高さは、年々増している。四肢においては糖尿病性の血管破綻による疾患が急増している。しかし、四肢における血管の代用物の需要よりも、虚血性心疾患における新たな人工血管の開発への期待が急速に高まっている。これは高齢化社会を迎えて需要が高まると言うよりも、現代の社会におけるストレスなど、社会的要因、食事内容の変遷など、種々の要因が重なって、社会を第一線で支える活動性の高い年齢層における虚血性

心疾患の急増が考えられる。

アメリカに於いても新たな人工血管の開発で最も需要の高いには心臓での冠動脈バイパス領域であった。これはヨーロッパでも同じであった。しかも我が国も、他の先進国に於いても数年前のそれから、徐々に「虚血性心疾患に使用可能な人工血管」自体の需要も変わりつつあった。特に冠動脈疾患では、高齢者の罹患はもとより、特徴的な事としては、働き盛りの一見健康そうに見える、しかも社会において重要な位置にある人が罹患する確立が、他の疾患に比べて飛び抜けて高いことが言える。したがって、冠動脈の閉塞性疾患患者を救うための小口径人工血管の開発が、先進国では最も高い需要の領域となってきた。

ところが、その様をしている中に、周辺技術の進歩が、人工血管開発にも、間接的に影響を及ぼしはじめてきた。すなわち、従来では単純に「冠動脈バイパス手術に使用可能な人工血管の開発」が望まれていた。しかしながら種々の外科手技の向上、自家血管の使用上の工夫、及びバルーンによる血管形成術、更には冠動脈内に挿入するステントの技術の向上、などから、実際上は、「バイパス手術もバルーン技術でも救命し得ない症例を救命するための人工血管の開発」が望まれるようになってきた。

これは実にハードルが高い要求である。ただ単に細い人工血管というのみならず、たとえ優れた製品ができたにしても、その人工血管にとっては非常に状況の悪い場での使用である。そこで、我々はこれまで行ってきた研究を全て見直し、この臨床家からの要求を満足させるための工夫と、その人工血管の設計の見直しを行った。

4. 新たな研究計画

前述の要求に関して、我々は本プロジェクトの2年目に研究計画の一部を変更し、未知の世界への挑戦を始めた。研究計画の一部の変更と言っても、基本計画における目標「患者自身の治癒力を最大限に引き出し、人工的に血管壁を創成する。」は不変である。また、患者自身の細胞の Blastogenesis を活用することも変わらない。変更点としては、応用部位を冠動脈に限定した事である。

続いて、冠動脈に応用可能な人工血管を創る事に於いて、我々は「人工血管を創る」から「人工的に血管を創る」に変更した。これは人工的に血管壁を創成するにあたって、細胞の特異性と共に、組織の特異性、すなわち、組織内の制帽の特異性の差を活用する考え方を、私どもが、この度のプロジェクトで開発した事による。

この結果、心筋壁内部に血管を創るための、世界中で誰もが思いつかなかったアイデアを、2年目に我々は創出する事に成功した。そこで、3年度では、このアイデアを確実に実現させるための条件の設定、解明を行うこととなった。

5. 人工的冠動脈の創成

度々記載するように、我々は組織内の細胞の持つ特殊性を活用して血管を創成する方法を考案し、そのパイロットスタディーに本研究の2年度に成功した。具体的には、冠動脈をそのターゲットとして選び、組織を心筋とした。ここで、私は心筋組織の特徴、欠点を活用することにした。

心臓の特異的な構造として心内膜及び心外膜付近には、結合組織が多くて、無数の線維芽細胞や平滑筋細胞などが有るが、心筋の内部に於いて最も多い細胞は心筋細胞である。次に多い

のは、心筋細胞に栄養を与えるために発達した毛細血管を構成する血管内皮細胞である。次に多い細胞というのは、ほとんどない。少し太めの血管の周囲に結合組織があって、それらが線維芽細胞等をもってはいるが、それらはごく少量である。すなわち無視できる範囲内である。このような心筋の壁内に於いて、もしも障害が起きると、まず最初に組織修復に動員される細胞は血管内皮細胞である。心筋が傷つくと、血管も傷つき、これによって、詳細には後述する Blastogenesis が惹起される。従って、無数の内皮細胞が組織修復に動員される。ここでは VEGF 等の Growth factor を使用する必要はない。この点が前述した組織内の細胞の特異性の差の活用である。

ここで強調したいこととしては、心筋組織の特異性である。すなわち、心筋組織の内部は主として心筋細胞とそれを養っている毛細血管から構成されている。ここで、前述したように、心筋細胞は分裂、増殖、遊走、といった組織修復に不可欠な行動をとることが出来ない。これは心筋組織の修復、という観点からは大変大きな欠点である。しかしながら、毛細血管を構成する内皮細胞は分裂、増殖、遊走、といった組織修復に要求される活動を行うことが可能である。そうなると、心筋組織内に障害が起きた場合、内皮細胞は心筋細胞に邪魔をされることなく修復活動を行うことが可能となる。そうであるとするならば、心筋組織内で、内皮細胞を働かせて、効率よく血管壁を創成させることが可能となるはずである。この考え方は「心筋組織の欠点を、その欠点がある、と言う特徴として捉え、その特徴を長所として活かす」考え方である。私は、この考え方を導入して、心筋組織

内に血管壁を創成させるように、自然治癒を誘導する技術の開発に取り組んだ。

しかしながら、無秩序に内皮細胞が分裂、増殖、遊走を繰り返している、それらが脱分化して、線維芽細胞のような、最も組織修復を行いやすい細胞にまで変化してしまうおそれがある。そうすると、その様になった線維芽細胞が無数に増加し、それらが活発に動いている、「瘢痕組織への治癒」と言う道筋にそって組織修復が進む恐れがある。つまりそうすると、折角内皮細胞が多く存在している、心筋細胞に邪魔されなくとも、血管壁は形成されない。そこで、私どもは、この動きを制御して、血管壁を作らせるように、細胞の活動、方向性を誘導する技術を開発することとした。すなわち、自然治癒の人為的誘導による組織の創成である。

6. 理論を実現させるための工夫

この理論を実現させるために、私は5つの工夫を施した。一つは心筋組織内に何らかの孔を穿った場合、その周辺にあって組織修復にかり出されるべき内皮細胞を破壊しないための工夫。次は、内皮細胞が修復に出てくるべき足場を確保しておくこと、次は、内皮細胞が修復を行うにおいて、その場で組織修復を促す細胞増殖因子の産生を行わせること、更に次の一つは、内皮細胞が血管壁構造を形成する間に、その管腔構造を維持するための工夫である。さらにもう一つの工夫は、内皮細胞を内皮細胞のままに活動させるための工夫である。

これらの5つの条件を満足させる事は、組織工学の考え方に則って組織創成を行うときに要求される3要素、すなわち、細胞、細胞外マトリックス、細胞成長因子、を具備させるための工夫でもある。

最初の工夫に対しては、心筋組織に孔を穿つため、私は単純に静脈留置針を用いて、心臓壁に孔を穿った。アメリカのあるグループでは1990年代に心臓壁に血管を創ると題して、レーザー光線を用いてシャープな孔を開けた事がある。彼らのグループは6000例を越す臨床での実施まで行って、その有効性をアピールしたが、結局瘢痕組織を創るだけに終わり、成功しなかった。これに対して、私は14ないし16ゲージの太さの静脈留置針を用い、手動的に心筋に孔を穿った。この操作によって、周辺にある血管内皮細胞を破壊することなく孔を正確に開ける事ができるようになった。レーザー光線では、シャープな孔が開くけれど、何処まで開けて、何処でその孔を留めるか、と言うことは不可能であるが、この単純な方法ではそのような小細工も可能である。それよりも、主義的に特殊な装置は不要であり、単純で低コストであることも合わせて得られた有益な事であった。

次の工夫に対しては、内皮細胞の足場の確保である。レーザーを用いたアメリカのグループの実験結果を観察すると、レーザー光線によって、開けられた管腔の壁は黒く焼けた炭化組織となっている。これでは細胞が付着するのに適していない。この上に内皮細胞が付着するとすれば、まずはマクロファージが無数に出現してこの炭化組織を処理し、清掃を行う必要がある。その後その部位に内皮細胞が侵入する事が可能となるが、このステップを踏むことによって、出現したマクロファージが多量のサイトカインを産生することから、この部位に無数の線維芽細胞が侵入する可能性がある。すなわち、通常の、最もポピュラーな組織修復が進行する。そうすると、その部位は瘢痕組織となって管腔は

閉塞する。アメリカのグループの研究を詳細に検討すると、全てこのような経過を辿っている。そこで、わたくしは孔を穿つのに静脈留置針を用いた。この処置によって、炭化組織は出現しなくなる。せいぜい機械的に破壊された細胞塊である。このような組織の修復は通常の臓器内で日常的に行われているので、無数のマクロファージを動員する引き金を引くことはない。そうすると、その破壊組織の表面に組織液が流れ出て、組織液内の蛋白、特にフィブリンノーゲンなどが付着すると、その上に用意に内皮細胞が付着することが出来る。この事によって、2番目の工夫は実現する。

次の工夫としては、組織修復に必要な細胞成長因子を確保することである。レーザーを用いたアメリカのグループでは、このような細胞成長因子を用いることに配慮を行っていないことが判る。私はこの事が費寿に大切であると考えて、その工夫を行ったが、結局は自然に任せることが有利で効率が良いことが判明した。すなわち、この考え方で行ったな事は、静脈留置針を用いて孔を穿つ操作である。これによって周囲の細胞には機械的な刺激が加わる。ある細胞は一部が破壊される。組織としては損傷を受ける。このような障害を受けた細胞や組織は自然の流れとして、自然治癒の機序が開始される。この過程にあつて、障害を受けた細胞からは多量の細胞成長因子が産出される。これはごく自然の動きである。しかしながら、アメリカのグループの行ったレーザーを用いた方法では、それらの細胞成長因子を出すための細胞が炭化してしまっており、因子を出すことが出来ない。私の方法では、単純ではあるが、直にそれが得られることから、この音に関する工夫は成就可

能となった。

次の工夫は、内皮細胞が血管壁の内部を覆う間の管腔形態確保である。レーザーを用いたアメリカのやり方では、この点に全く配慮していない。しかしながら、私はこの点に最も注目し、これに大きな力を注いだ。そして、ある程度の可能性をえた。しかし、まだ完成の域に達していないことから、改良を要する領域でもある。そこで、現時点での私の行った工夫を紹介する。まずは、管腔を閉塞させる最も大きな原因として、レーザーの例を見ると、出血と、その後に来る血栓による閉塞であることが判った。これは当然の事である。組織に障害がおきれば、その部位に出血し、そこに血栓が出来る。そこで、私は血栓が出来ないように工夫を行った。そして、血栓によって管腔が閉塞されない工夫も同時に行った。具体的に言うと、静脈留置針によって創られた孔の中にハイドロゲルを挿入したのである。そして、そのハイドロゲルには血栓の形成を阻止するためのヘパリンを徐放出する機能を賦与させた。この工夫によって、ハイドロゲルの存在自体が血栓の形成されるはずの部位を占拠してしまうので、その部位には血栓が創られない。更にはそのゲルからヘパリンが徐放出されるため、周囲にも血栓が形成されなくなり形態の維持が可能となる。しかしながら、内皮細胞が内面を覆った後には、このハイドロゲルの存在は邪魔となるので、私はハイドロゲルを1ないし2週間で分解吸収されるように設計した。この工夫によって、血栓が阻止され、管腔の形態が維持され、内皮細胞が内面を覆い、そして、その被覆後は管腔内からゲルが消失して、血管腔のみがのこる、という設計が完了し、

4番目の工夫が成就する事となる。

最後の工夫は、内皮細胞が線維芽細胞などの脱分化しないための工夫である。私のこれまでの人工血管の開発改良における研究過程で、私は血栓の覆い組織内の出現した、もしくは血栓組織内に埋もれてしまった内皮細胞は線維芽細胞に分化しやすいのではないかという、仮説を持っている。血栓が長時間存在すると、当然の事ながら、この部位にはマクロファージが出てくる。この時に、多量のサイトカインが出されるため、これらの化学的刺激によって、細胞の分化が進行することは大いに考えられることである。そこで、血栓組織を創らせない4番目の工夫と合わせて考えると、この5番目の工夫も難なく得られそうであろうという考え方が出てくる。その状態となれば、内皮細胞は周辺の毛細血管壁から出てくるが、この時に管腔の中には侵入の足場がないので、すなわち、血栓が存在しないので、その管腔壁の上を這って出てくるしか、侵入の足場がないこととなる。そうになると、直に管腔壁の表面に内皮細胞が出てくることとなる。ここで、私はさらに一工夫を行った。それは、ゲルの中にヘパリンがあって、その表面には血栓が出来ないので、新鮮な血液が常に存在することとなる。しかも心臓壁は常に収縮弛緩を繰り返しているため、その部位の血液は常に置き換わっていることとなる。すなわち新鮮な血液が流れていることとなる。そうになると、その部位に進出できる細胞は内皮細胞に限られてくる。なぜならば、平滑筋細胞や線維芽細胞は血清濃度の高い部位では活発な細胞活動が不可能であり、常に内皮細胞によって覆われた組織の中での活動となるからである。そうになると、その部位の表面に出てくる細胞は内皮

細胞に限られる。我々は血管外科の臨床の現場において、血管外傷後の動静脈瘻を見ることがあるが、このように組織内に創られた血流路は、常に内皮細胞によって覆われているので、この自然現象も理解できるところである。したがって、このような条件設定をおこなうことで、進出してきた内皮細胞が線維芽細胞や平滑筋細胞に脱分化する事を防ぐことが可能と予測されることから、5番目の工夫も成就出来ることとなる。

以上の5つの工夫を実際に行う事によって、私の理論を実際に実現するための条件を揃えることが出来ると思われる。

7. 理論の実証のための具体策

この理論を実施するには、2つの具体的器具が必要である。一つはハイドロゲルを挿入するための静脈留置針であり、もう一つはそれに挿入するハイドロゲルの作成である。はじめの静脈留置針としては、私は14ないし16ゲージの針を用いた。14ゲージでは外径が2mmのハイドロゲルが挿入可能であり、16ゲージでは1mmのゲルが挿入可能であった。針の長さは6ないし9cmを選択した。これは単に使い勝手の事を考慮しての選択であった。

ハイドロゲルの作成には、最も心を砕いた。このハイドロゲルに要求されるべき性質として、前述したように、生体内で吸収される必要がある。この分解吸収の期間として、私は2週間以内、という考え方を示した。それは内皮細胞の被覆が極めて速やかであることから、早く吸収されて、その部位が血管腔として活用になるほうが、その後も血管壁の完成に有利ではないかと、考えた結果である。次に要求される性質は、周囲に血栓を産生させないことである。そ

の目的のために、私はヘパリンを徐放出する工夫を行った。しかしながら、単純にヘパリンをハイドロゲルに混ぜるだけでは、ヘパリンは固定化されたり、あるいは急速に分散する事も考えられる。特にヘパリンにはスルホン基やカルボニール基が多くあって、通常では強く負に荷電している。したがって、お互いの分子同士は拡散する傾向にある。そこで、この分子をイオンのように留めておくため、私はプロタミンをゲルの中に混在させることで、ヘパリンとプロタミンのイオン結合力を利用してヘパリンの徐放出を得ることに成功した。プロタミンは強く陽荷電したアミノ酸であるアルギニンやリジンを多用に含有する蛋白質である。しかも注射薬として既に使用されている。そして、それが分解されるに従って、ヘパリンを放出することが可能であることから、徐放出の量と速度のコントロールが可能である。基礎実験の結果、私はこの方式が有用であることを明らかにしたことから、本プロジェクトに採用することにした。

次にハイドロゲルに要求される条件としては、細胞毒性のないこと、遺伝毒性のないこと、催奇形性がないこと、異物反応のないこと、等が挙げられる。この条件を満足させるには、生体内に存在する物質を使用するのが最も望ましい。そこで、生体内分解吸収性の条件を満足させるためにも、本プロジェクトではヒアルロンサンを使用した。ヒアルロンサンは生体内に既に存在しており、ヒアルロニダーゼの酵素によって分解されることが判っている。その結果、ヒアルロンサンがこれらの要求事項を満足するようであるが、問題点としては、これを如何にしてゲル状態を維持させ、心臓組織内に挿入後もゲル強度を維持させ、更には、徐放出させるか、

という問題に直面した。この問題は、実は本プロジェクトで最も大きな課題であった。これについて、私は多大の時間を使って検討した結果、電気化学工業株式会社の宮田氏の開発した、低温でヒアルロンサンを化学薬品を用いることなくゲル化する方法という、技術を、特許の検索において、見いだすことが出来た。そこでこの技術を使用させていただくために、電気化学工業株式会社の中央研究所を訪れ、共同研究を申し込んだところ、快諾を頂き、私の工夫が活かされることとなった。そして、この方式でハイドロゲルを作成すると、パイロットスタディーでは設計通り、2週間以内に生体内で分解吸収され、しかもその間にとくに顕著な異物反応などの余計な生体反応を惹起させないことが判明した。

この様な努力の結果、作成したハイドロゲルと、それを充填した静脈留置用のカテーテル、という、特別な器具を創り上げることが出来た。

8. 動物実験

本研究では、多くのパイロットスタディーを行った。その結果、正式に報告できるような動物実験を行うためのプロトコルを創ることが出来た。これに至るまでの多くの大小の実験の事は、実際にはこれを行った期間、時間、勢力、金額などが多いのであるが、これらのパイロットスタディーの紹介は省略して、論文として報告可能な動物実験について、説明する。

実験動物としてビーグル犬を用いた。体重7ないし9kg、年齢1ないし2歳のメスのビーグル犬9頭を使用した。これらの動物は人と同じように無痛的に手術を行うため、前投薬に続いて全身麻酔をかけ、その後に清潔状態で左開胸し、心膜切開を行った後に心膜を胸壁につり上げて

手術を行いやすくした。次に、左の頸部も清潔下に切開し、左頸動脈を露出させ、その後に内頸動脈と外頸動脈との分岐部あたりを切離し、頸動脈を胸腔内に挿入した。つぎに、心筋組織内に3カ所、準備していた静脈留置の針を刺し、その中の針のみを抜去して、外側のカテーテル部分を残し、このカテーテル内に準備したハイドロゲルを挿入して、カテーテルのみを抜去する事でハイドロゲルを心筋組織内に残した。つぎに、ハイドロゲルを挿入した部分の一部に、切離していた頸動脈の切断端を埋め込み、血液をハイドロゲル部分に導入するようにした。すなわち、一つの心臓に対して3本のハイドロゲルの挿入を行った。

対照実験としては、静脈留置針のみの穿刺を、一つの心臓に対して2カ所ずつ行い、ゲルを挿入しないことで、ゲル挿入の効果を見た。

このような処置を行った後に、動物には抗生物質を投与し、開いていた創部を閉じて、麻酔を覚醒させ、胸腔内の空気を抜いて、手術を終了した。手術後は通常の動物飼育を続けたが、抗凝固療法は、手術中も手術後も行わなかった。動物の飼育など、取り扱いは全て、NIHの基準に準じて行った。

また、この研究に関する動物実験は、横浜市立大学医学部動物実験委員会の倫理審査を受けた後の行っている。

(倫理面への配慮)

本研究では、これまで説明したとおり、患者自身の組織、身体の中の環境を使用して、血管壁を創成する手法であるため、臨床応用におけるハードルの高い倫理問題は生じない。もしもこの研究にES細胞などを組み込む必要があれば、倫理問題に対しての配慮が必要となるが、

我々の方法では、自己の細胞を活性化して活用しているため、問題は生じない。この自分自身の細胞を刺激して、細胞分レスを惹起させる方式は、細胞の幼弱化現象の活用、いわゆるBlastogenesis方法の活用、であるので、移植などに問題となる臨床面においての諸問題は生じない。

ただし、本研究を行う上において、動物実験を繰り返さねばならないことから、動物実験倫理への配慮は必要である。これに関しては、我々は既に横浜市立大学医学部動物実験センター倫理委員会に対して我々の研究計画を提出し、研究内容を説明することで、既に動物実験を行うことに対する倫理的な審査を受け、それに合格して動物実験の遂行に関する許可を受けている。

しかしながら、動物実験の倫理委員会を通ったからと言って、そのまま行うことは避けているすなわち、我々は可能な限り、動物実験の回数を少なくするための工夫についての努力を続けている。これによって動物を使用しなくても済むような代替え研究手段を創成し、シミュレーション実験を繰り返し、動物の使用を必要最小限に押さえる事に努力を行っている。

C. 研究成果

実験結果

術後の動物は合併症も見られず、健康に推移した。術後の体重減少も見られなかった。そこで、動物は2週間後と1ヶ月後に全身麻酔を行って、心臓を採取した。採取にあたって、心臓周囲には特別な病的反応が全く見られなかったが、心膜と心臓との間に線維性の癒着組織が見られた。

1. レントゲン検査

採取した心臓に植え込まれていた頸動脈にカテーテルを挿入し、そこに血管造影剤を注入する事で、心筋組織内に創成される新しい冠動脈の血管造影を行い、レントゲン写真を撮ることで、血管の配置、分布、長さ、形状、他の血管との繋がり、等を検討した。その結果、心筋内にハイドロゲルを挿入した部位に、挿入した長さ、太さに沿って、造影剤が流入することが判り、その部位に管腔が形成されていることが明らかとなった。更に造影剤を注入し続けると、造影剤は心筋組織内に元々存在していた冠動脈、に流れ込むと同時に、それに沿って流れている冠静脈にも流れこんでゆくことが判明した。すなわち、新しい血管が形成され、それらには血液が流れており、その血管は本来の冠動脈とも繋がりを持っており、血管としての機能を果たしていることが判明した。また、この垂れたに創られた血管は、動脈としてのみならず、静脈として、更には動静脈瘻としても機能していることが判った。

この造影の結果、2週間目に採取した6頭の動物の心臓では18本のゲルを挿入した中で14本の開存がレントゲンの的に確認された。また、3頭の動物は1ヶ月後にレントゲン撮影を行ったが、その結果では9本の中で6本の開存が確認された。

2. 切断面の肉眼的所見

レントゲン撮影後に、10%のホルマリンのバッファー溶液を注入して、心筋組織を内部から固定すると共に、心筋組織を約5mmの厚さにスライスし、その切断面を肉眼的及び実体顕微鏡を用いて観察した。その結果、レントゲン撮影によって確認された2週間目の14本と、1ヶ月目に確認された6本の他に、さらに造影で

確認されなかったが、2本の開存が確認された。その結果、27本のハイドロゲルによって22本の血管が創成されていたことが判明した。その開存率は81.5%であった。

これに対して、ハイドロゲルを挿入せずに、静脈留置針のみを刺した対照実験では、18箇所の穿刺において、全ての部位で白色の組織によって孔が置き換えられていて、閉塞していることが確認された。すなわち、開存率は0%であった。

3. 光学顕微鏡による検討

肉眼的には血栓の存在は作成した管腔の中に認められず、光沢のある表面を示していた。この部分の光学顕微鏡による検査では、内皮細胞の被覆が認められた。更に、内皮細胞のないところもみられたが、このような所は、平滑筋細胞が内面に露出しており、それらはあたかも円柱上皮のように、内腔に向かって立ち上がっているような様相を示した。又、このような場所では、平滑筋細胞層の下に、浮腫状の組織があって、その中にはさらに平滑筋細胞が浮遊し手いるような像がみられた。また、これらの平滑筋細胞の間隙には多くのマクロファージが存在していて、このマクロファージは多くの透明な物質を食食しており、その為に細胞全体があたかも印環細胞の様相を示していた。

しかしながら、内皮細胞が内面を覆っている部位では、平滑筋細胞は平坦で細長い形状を示し、内腔面に対して平行に配列し、決して円柱上皮の如き立ち上がり形状を見せることはなかった。さらには、平滑筋細胞層の下には浮腫状の組織は存在しなかった。これは、内皮細胞が液状分子や、ヒアルロンサンの溶解した浮遊液などを貫通させなかったためであろうと思われる。

る。従って、内皮細胞が覆っていない部分では、これらが細胞間隙を貫通して、平滑筋細胞層の下に多量のヒアルロンサンが侵入し、貯留したため、そこに浮腫状の組織が出来て、多量のマクロファージを呼び込んだ結果に起因すると思われる。

創成した管腔の壁には、多くの毛細血管や微細な静脈が開口しており、これらから内皮細胞が管腔の内面に張り出している様子もうかがう事が出来た。また、これらの細胞が内皮細胞であることを証明するために、PAP 法と呼ばれる第 8 因子を染め出す染色法で観察すると、心筋組織内の毛細血管にある内皮細胞は染色されていて、更には作成した管腔の内面の細胞も染色され、また、周囲の血管から作成した管腔内面に繋がる管腔、すなわち毛細血管の内面にも染色される細胞がみられた。したがって、これらは全て内皮細胞であって、作成した管腔の内面が内皮細胞によって覆われており、形態的にも血管壁と同じ構造を持っていることが確認された。

このような現象は、2 週間目の試料でほとんど全域にみられたが、内皮細胞の覆っていない領域も散見された。しかしながら、1 ヶ月目の試料では、全ての管腔の内表面が内皮細胞によって覆われており、しかも、平滑筋細胞はすべて、内腔面に平行に配列し、さらには、通常の動脈壁のように、内腔面に近いところは輪状方向に配列し、外側に近いところは長軸方向に並ぶ細胞配列が一部にみられた。これは天然の血管壁と同じ構造である。従って、このようにして作成した血管は、時間の経過と共に、生理的な働きをし、更には構造的にも生理的な血管壁構造を持つようになると考えられた。

4. 本年度の研究における結果のまとめ

前述の方針に従って、我々は心筋組織内に血管を創ることを行った。具体的方法は、心筋組織内に 16 ゲージから 14 ゲージ程度の太めのエラストマー針を挿入し、それを介して心筋組織内へ、ヒアルロンサンで作成したゲルの紐を挿入することである。

この挿入によって、結果的にはゲルの長さ、太さ、形態、位置、などに従って、任意のサイズの血管を人為的に創ることに成功した。

その考え方は Tissue Engineering の原則から考えついた方法である。すなわち、心筋内には心筋細胞とそれを養う毛細血管がある。前者は細胞分裂や遊走を行わないので、心筋が障害を受けたときには組織修復にかり出されない。しかしながら、後者には血管内皮細胞が多くあって、それらは組織修復のために遊走し細胞分裂を活発に行う。したがって、心筋内で障害を人為的に起こすことで内皮細胞をかり出すことが可能となる。これは組織内における Blastogenesis である。

さらには、心筋が障害を受けると、心筋細胞や内皮細胞が多量の細胞成長因子を出す事が知られている。したがって、組織工学の 3 要素である、細胞、成長因子、の二つはそろっている。残りは細胞外マトリックスである。そこで、管腔形態を維持した筒状のマトリックスを心筋内に人為的に作るため、我々はヒアルロンサンのゲルの紐を使用した。この処置によって、ヒアルロンサンが 1 週間ほどで分解され吸収される過程において、ヒアルロンサンの周辺に遊走してきた内皮細胞が管腔の内面を覆って、新たな血管ができるという設計によって、予期した血管腔を心筋内に創ることを実証した。

D. 考察

1. 人工的冠動脈の創成

我々の基礎実験から、心筋組織内に新たな血管が創成されることが明らかとなった。この血管は意図したとおり、希望する位置に、希望する長さで、希望するサイズで、希望する形態で、作ることが可能である。実際にイヌを用いた実験では、意図したとおりの血管腔を作らせることに成功した。

これは世界で初めての快挙であり、臨床家の要求を十分に満たすことができると思われる。これによって、心筋組織内に、自由自在に、内径 1mm から 4mm 程度の血管を創成させる原理をうち立てることに成功した。すなわち、使用したヒアルロンサンのゲルの形状によって、その通りの形態を持つ血管壁を作るように、心筋の細胞の働きを誘導することが可能となった。

心筋組織内での血管の創成は可能であったが、その機能面から考えると、未だに不十分な事も考えなければならないことがある。すなわち、作成した管腔が血管壁と同様に内皮細胞によって覆われていたことは確かである。しかしながら、このようにして作成した管腔の全てが、あるいは全ての部分が動脈として機能していたかどうかは、決して断言できない点がある。

血管造影の結果では、造影剤が作成した管腔をみだし、その後に冠動脈に流れ込み、更には冠静脈にも流れ込んでいた事実を考えなければならない。つまり、作成した管腔は、冠動脈、冠静脈、そして動静脈瘻として機能していたのではないかと考えられる。したがって、この件腔が形成され、内面が内皮細胞によって覆われ、血管壁の構造をしていたとしても、これに動脈血液が流れて、動脈としての役割を果たしてい

たかどうか、判らない。返って、その付近の動脈血の流量を減らし、静脈へ直接流してしまっているかも知れない。

本プロジェクトでは、この事を考慮に入れて、動物実験的には、左頸動脈を切離し、それを心筋組織の中に埋め込む操作を行った。このような手法は Veiberg という研究者が 1950 年代から 1960 年代にかけて行ったことがある。彼の行った臨床では、その手技によって得られる血流量は少なく、また、その血流分布範囲が限られていたため、その後は続けられなくなった。それは冠動脈バイパス手術が一般化した影響もある。その為、彼の手技は省みられることすらなくなった。しかし、本プロジェクトは、彼の手技の一部を用いることによって、心臓の外部から心筋内に血液を誘導することがかのであることから、その手技を活用する事とした。

この手法を用いると、多量の血液が創成した血管内に流れ込む。したがって、その血液の一部が静脈に流れ込んだとしても、ある部分の血液は動脈に流れ込むと思われるので、必要とする部位への血液の流量を、その総量を増やすことが可能となる。この結果、臨床面においては、冠動脈バイパス手術を行っても、バルーンを用いた血管拡張両方を行っても、さらにその他の薬剤を使用したにしても血流量を増やすことが出来なかった心筋の虚血領域への血流量を増やすことが出来ると思われる。以上の結果、現時点では、予期した結果を得ることが可能であった。

2. 今後の問題

このように動物実験的に成功を収めたにしても、まだ詳細を詰めてゆかねばならないことが多く残されている事も判明した。

まずは、現在使用しているハイドロゲルがヒアルロンサンを使用しているが、本当にこれがベストな物であるのかどうかの確認が必要であろう。現時点では、私の考えではヒアルロンサンがベストとであった。しかしながら、ハイドロゲルを研究対象としている高分子化学の専門家にみていただくと、更なる改良も可能ではないかと思われる。このハイドロゲルに要求される諸条件は既にのべたが、これに合致する物質が他にもあるはずである。したがって、これを見いだして活用させる必要があるだろう。

また、もしもヒアルロンサンを用い続けるにしても、その不溶化条件の再検討、ヘパリンの徐放出量の再検討など、いくつかの改良すべき事項が浮かび上がってきている。例えば、ヒアルロンサンのゲルが余りにも強く膨潤すると、周囲の心筋細胞を圧迫して、そのあたりの栄養障害を引き起こす可能性があることであった。更に進むとヒアルロンサンの周囲に瘢痕組織が形成されることが判った。その為、ヒアルロンサンの不溶化の程度を設定する必要がある。

このような研究成果から、もしも次のプロジェクトが認められた場合には、その様な不都合を惹起させないヒアルロンサンのゲル紐を作成し、実際にヒトの臨床に於いて使用可能であるかどうか、その効果がどのように予測されるかと言った、臨床応用のための詳細な条件設定を、犬などの比較的大きな動物を用いて明らかにしてゆく予定である。

更に、次の方針としては、この血管が虚血性の心筋障害の改善に役立つかどうかは、確認する必要がある事から、本プロジェクトは、来年度も引き続き行う必要が出てきた。しかも、ある程度の期間をおいた動物実験が必要なことから、

引き締まった研究が要求される。それはできる限り臨床応用を目指した諸条件のとりまとめであり、更にはヒトの心臓に使用しやすい様な器具の開発も合わせて必要となるであろう。

恐らく、その次の課題として、当然、平行して行われねばなら内であろうが、ヒアルロンサンの生体内での吸収機関の適正化、可能であるならば、化学修飾によるヒアルロンサンの生体内吸収速度のコントロールが必要である。又、我々はこの時にヒアルロンサンに抗血栓性を賦与すべきかどうか、考えている。すなわち、抗血栓性がある方が、効率よく血管を創ることが予測されるためである。その為、現在はヒアルロンサンにヘパリンを混ぜて、固化させる工夫を行っている。この条件設定で、ヒトのしかも虚血の心筋に於いて、適切なヒアルロンサンの持つべき性質を定める必要があるだろう。これが第3年度にも越された課題と思われる。

次にこのようなヒアルロンサンを挿入するために適切な器具の開発が残されている。これに関しては、この原理を用いてくれる企業と組む必要がある。我々大学に勤務する研究者は、このような原理の部分での仮説を立てて、それを実証し、臨床応用への未知を開くところまで行いうる。しかしながら、この技術を普遍化して、誰でも使用できるようにするには、企業の協力が必要である。適切な企業との組み合わせが得られることで、その増幅作用が働いて、アイデアから臨床まで繋がることのできる。この意味合いから、3年度は、企業の参加を呼びかけるつもりである。

3. 組み込みたい細胞活動の誘導

組織光学的に考えると、細胞が最も自由に活動できる場が必要であり、更にはその場に細胞

を誘導することが必要である。前者の課題はマトリックスの改良で可能となることを前述した。後者に於いてはどのような手段で細胞を誘導するかという大きな問題が残った。そこで、我々は細胞の本能的な性質を活用することにした。それが走性の活用である。

走性とは、自由運動の能力を持つ生物が外部からの刺激に反応して運動をおこし、この運動に方向性が認められたときに、これを走性という。走性は刺激の種類によって、化学走性、重力走性、電気走性、温度走性、流れ走性、音波走性、などに分けられ、いずれの場合にも刺激源に向かって進むときには正、刺激ゲント反対方向に進むときは負と呼ばれる。走性は下等動物の行動に於いて、極めて重要な意義を持っている。我々はその「走性」を活用することとした。

さらに、我々は細胞の持つ接触走性と言う観点から、細胞の挙動を操作する方法も採用している。

具体的に説明すると、組織内の細胞を種々の方法で刺激して、細胞が周囲の物質との接点に於いての好き嫌いを活用する方法である。

この方法も、前述した走性も、アメリカの研究者と話したときに於いて、私は「Mother Nature」という言葉を用いて説明した。この言葉について、NIHの友人は、それはScientific wordではない。という。ところが同席した研究者は、「その言葉は、非常に理解しやすい。第一、走性(taxis, 例えばchemotaxisとかphototaxisなど)は、Scientificに説明できるものではない。したがって、それも歴然とした事実であり、その様なmother natureを活用することが、Tissue engineeringの手段として使用することが、新し

い考え方だ。お前の新しい考え方は良く分かる。とってくれています。

具体的には、我々は、線維芽細胞が、太さ3ミクロン以下の細い繊維に対して、積極的に付着してくる現象を活用して、growth factorを使用せずに細胞を集め、組織修復に活用する方法を人工血管分野に使用しつつある。我々がこれまで明らかにしたのは、このようにして線維芽細胞を極めて細い繊維に集めると、それらの細胞が栄養を要求してangiogenic growth factorを産生し、自然と毛細血管が侵入してくる。そして組織修復が進むことである。この時、その組織修復の場が血管壁であれば、VEGFの様なgrowth factorを使用しなくとも、毛細血管が自然に侵入してきて、血管壁が形成されてゆく。この時、更に細胞増殖を促すことで、growth factorも多く産生されるので、細胞活動を効率よく惹起させることが可能であることが判明している。

この現象は、15年ほど前に旭化成の梅香家が、血液細胞の中で、自走能を持つ白血球のみを極めて細いポリエステル繊維を用いたフィルターで集めることに成功しており、この学術的な原理は解明されないまま臨床に導入されたが、現在の我々の考え方では、細胞のmother natureの活用である。

次に我々が使用した工夫は、成熟した細胞を用いてBlastogenesisを活用する事であるが、これについての詳細は前述したとおりである。我々は、これを有効に活用する工夫を行った。

4. 周辺の動向からの情報収集

私どもは、常に研究成果の臨床応用を考えて、その為に研究期間中における周辺の動向からの情報入手し、最も効果的な方法を模索してきたが、その為には常にそれらの臨床応用に関して、

臨床現場の要求をできる限り聞くことにしていた。その結果、我々は臨床現場での要求が少しずつ変化していることに気がついた。特に小口径人工血管の開発に置いては、一時期の要求が、下肢の閉塞性動脈に対するバイパス用人工血管の開発であったが、抗血小板剤などの開発が進み、抗凝固療法の技術と、閉塞動脈周辺の側副血行路造成のためのリハビリテーション技術も進んだため、下肢での要求が少なくなったこと、高齢化と食生活の変化によって冠動脈疾患の患者が増加し、心臓関係での要求が一番増加していることであった。

このような調査の結果、我々の独自の工夫も加味して、更に心臓関係の臨床現場の声を聞き、結果的には前述した用に、虚血性心疾患に使用可能な血管を心筋組織内に創成する、と言う研究の方向に我々の方針を変更することとした。

E. 結論

本年度は、3年計画の最終年度にあたる。そして先の2年間の成果を受けて、更に飛躍の年でもあった。これらは全て、組織工学の3要素を常に念頭に置いて思考を深めていった成果であり、世界で最も難しいとされている冠動脈の再生ともなる心臓壁での血管創成に成功した。このプロジェクトでは現時の所、動物実験レベルでは満足した結果を得ることができた。今後はこの手法が普遍化してゆくように、現実的に企業との共同作業を真剣に考える必要があるだろう。先端医療の技術を活用した治療法の開発に於いては、まずは注目すべき現象として認められる。しかし、これらの原理作りは、大学の研究者レベルで可能であって、企業との組み合わせをどのようにするかを真剣に考える必要が

出てきた。もしも更なる研究がゆるされるのであれば、このような事も含めた研究を行って、更なる成果を持った報告ができることを期待している。

F. 健康危機情報

本研究を遂行するにあたり、基本的には大きな問題点は無かった。しかしながら、実際に臨床を目指しているヒトは、これだけの情報では不十分である。判断しかねる状況も生じうる。したがって、3年度に於いてはこの件にも大いに配慮して、予測される問題点を次々と明らかにして、先取りした検討を始めるべきと思われる。

又、我が国の企業が嫌う PL 法に関して、大学の研究者もよく勉強した上で、それに対する対策を取らねばならないと思われる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 野一色泰晴:人工血管の骨髄細胞による内皮化。月刊 Heart View、6(10);321-326, 2002.
- 2) Y.noishiki: A method for inducing the growth of new coronary arteries in the myocardium.(投稿中)

2. 学会発表

無し。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

- 1) 野一色泰晴:管腔形成用材料とその製造方法。2001年、国内出願、2002年 PCT 出願。
- 2) 野一色泰晴:結合組織形成材とその作成方法。(出願準備中、弁理士と相談済み)

3) 野一色泰晴：低漏血性人工血管。（出願準備中、弁理士と相談済み）

2. 実用新案登録

無し。

3. その他

特に記すことは、現在のところ全く発生していない。

心筋組織の欠点の活用

横浜市立大学医学部外科学第一講座

野一色 泰晴

はじめに

組織工学的に心筋内に血管を創成する研究を続けてきたが、この研究を可能としたのは、心筋の持つ欠点を、「欠点を持つという特徴」として捉え、その特徴を長所として活かすことにある。これについて、考え方の詳細を、図を用いて詳細に説明しておきたい。

1. 組織工学の基本となる3要素

組織工学を行う上で、すなわち、組織や臓器を細胞によって創らせる際において、重要な事がある。それはその条件を整える上での3要素と呼ばれる必須の配慮しなければならない条件である。これは *in vivo* においても、*in vitro* においても、等しく考えておかねばならない重要な要素である。

この3要素とは、まづ第一に、組織を創るためにもっとの働かねばならない「細胞」である。これはそれぞれ目的とした組織において、最も適した、働いて貰わねばならない細胞があるはずであって、その目的に最適の細胞を選ぶ必要があることから、最初に必要な要素として、「細胞」が挙げられている。

次に挙げられる要素としては、「細胞外マトリックス」が挙げられている。細胞を準備したものの、その足場がなければ、細胞は分裂、増殖、遊走などが不可能であり、組織を形創る事はできない。そこで、意図する組織の形状に合わせたマトリックスが必要である。この時に、細胞の種類によっては、その細胞の持つ本能的な性質が直に発揮されるようなマトリックスの細部における配慮が必要である。大阪大学の関口らは、細胞ごとに接着因子を検討し、細胞外マトリックスにおける微細なインテリアとも言える必要条件の解明を行っており、その条件次第で細胞の活動を左右する、すなわち細胞活動を意図した方向に誘導する事ができると、実験例を示して、細胞外マトリックスの重要性を主張している。古くから知られていることでは、コラーゲンが細胞に良好な足場を与えることは事実として認識されているが、その中でも4型コラーゲンは血管内皮細胞に特に良好な足場を提供する。実験的には、4型コラーゲンの上では、内皮細胞はその本来持っている性質に従って、管腔形成を示すことも判明してきている。また、単純なプラスチックの上に細胞を播種した場合、ファイブロネクチン基本的細胞接着サイトとしての、RGDS という、連続した一連のアミノ酸配列が知られていることを応用して、このアミノ酸をプラスチックの上に固定することで、効率よく細胞を播種させることが出来ることも判っている。このように、細胞活動をおこさせるためには、その足場、すなわち、細胞外マトリックスが重要な要素であることが知られている。

次に重要な要素としては、「細胞成長因子」が挙げられている。細胞があって、細胞外マトリックスが存在しても、細胞に適切は刺激、指示を与えない限り、細胞は無秩序に分裂するので、期待した組織の形成は行われぬ。そこで、この細胞に適切な指示を与えるために、細胞成長因子が必須となっている。そして、その細胞成長因子には細胞ごとに特別良く作用する特異的因子が存在する。たとえば、血管内皮細胞に特別に作用して、その増殖、遊走を促す因子としては、vascular Endothelium Growth factor いわゆる VEGF が知られている。この因子は、線維芽細胞や平滑筋細胞には作用せずに、内皮細胞にのみ作用を発揮して、血管形成を促す。従って、この因子は、組織形成を人為的に勤めるためには必須の要素である。

この細胞成長因子は、別項目で述べるが、ある種の「化学走性」である。細胞には本能的な性質として、走性という特徴的な動きがある。細胞のみならず、動物も走性によってその行動が影響を受ける。特に下等動物になるほど、その影響力は強い。

走性、Taxis は、自由運動の能力を持つ生物が、外部からの刺激に反応して運動をおこし、この運動に方向性が認められたときに、これを走性、という。走性は刺激の種類によって、化学走性、重力走性、電気走性、温度走性、流れ走性、音波走性、光走性、等々、多くの種類に分けられる。そしていずれの場合にも刺激の源に向かって進むときは正、刺激源と反対方向に進むときは負、と呼ばれる。走性は下等動物の行動において、極めて縦湯女意義を持つが、高等動物でもその行動が走性で説明が付くことも多い。細胞においては特にその走性が強く現れることから、細胞成長因子が与えられると、化学走性の刺激として細胞が反応するので、細胞の動きを誘導するには最適の手段の一つとして用いられている。

以上、説明した組織工学の3要素を具備することによって、意図した組織を工学的に創成させることが可能である。本稿では、この事も考えて、血管の創生を心筋内に創る事を説明したい。

2. 心筋組織の特徴

私の考え方に基づく心筋内血管創成は単純であり、単に心筋組織内に 14 乃至 16 ゲージの静脈留置針を入れて、その管腔をかいして生体内で分解吸収されるハイドロゲルを挿入する方法を採用する。この方法によって、ハイドロゲルが吸収されると同時に、この部分に、ハイドロゲルの太さ、長さ、形状などに合わせた血管腔が形成される、という手法である。しかしながら、それがなぜ血管創成に結びつくのかを理解しておかねばならない。そしてその前提条件として、心筋組織の特性を理解しておく必要がある。

心筋組織は、主として、心筋細胞とそれに栄養をもたらす毛細血管との組み合わせによって構成される。当然、その周囲には、それらの組織を支えるために、線維芽細胞の多い結合組織が心内膜や心外膜の形で存在するし、大きな血管の周囲には通常の外膜組織が存在するので、心臓という臓器を構成する事を考えると、心筋細胞と毛細血管のみ、とはいいきれないが、心筋内部においては、ほとんどこの2者の組み合わせで構築されている。そして、この構造を詳細にみると、一つの筋細胞の周囲