

# 国循、医工連携を強化

## 機器開発へ「基盤センター」

国立循環器病研究センター(国循、大阪府吹田市)が、新たな医療機器の開発を促すため、産業界との連携を強化する。昨年の独立行政法人化を機に、窓口となる研究開発基盤センターを新設。30年超の臨床研究から得た知的資産と国内の技術力を結び、早期に医療機器を事業化する態勢づくりを目指す。

(編集委員・多賀谷克彦)



補助人工心臓「エヴァハート」の埋め込みトレーニング 国循提供

## 設備と実績強み

「ポンプスピードを下げ」。1月下旬の土曜日、国循の手術室に執刀医の声が響いた。牛を使った訓練手術は2時間半を過ぎていた。体内に埋め込む国産の補助人工心臓としては、初めて製造・販売承認を受けたサンメディカル技術研究所(長野県諏訪市)の「エヴァハート」。執刀医が指示していた「ポンプスピード」は、テニスボール大のポンプ内にある羽根の1分間の回転数。指示を繰り返して、血液を送り出すポンプの機能を確かめていた。

動物を使った補助人工心臓の訓練手術ができる施設は国内に数カ所しかない。設備と経験を積んだ医師、看護師らスタッフが求められるためだ。国循には国内初の体外設置型の補助人工心臓を東洋紡と共同開発し、臨床応用の実績もある。新設されたトレーニングセンター長の武輪能明

### 国立循環器病研究センター

循環器病が専門の最先端医療機関。国立がん研究センター(東京・築地など)と同じ国立高度専門医療研究センターの一つとして1977年7月に設立された。研究機関を併設しているのが特徴。心臓

医師は「この訓練を引き受けられるのが国循の強み」と言う。今夏には新たな訓練棟が完成、施設外からの引き受け態勢を強化する。

医療現場の声をメーカーに伝える役割を担うのも、基盤センターの大きな役割だ。

妙中義之・基盤センター長らが模範とする米ミネソタ州ロチェスター市のメイヨー・クリニックには世界各国から患者が訪れる。最先端、手厚いサービスを支えるのは、臨床

現場のニーズをメーカー、関連企業に伝える専門スタッフの存在だ。同州では医療関連産業が数百家を数え、世界有数の集積地に成長している。医学部付属病院を抱える国

移植の実施は35件に上り、国内の約3分の2を占める。人工心臓の開発は設立当初から始まり、90年に世界で初めて政府の承認を得て、補助人工心臓の製品化に成功した。現在も単2乾電池ほどの大きさで超小型の埋め込み型人工補助心臓を開発中だ。

内の大学にも産学連携を促進する組織はある。だが、特許出願数、知的財産の管理を優先するあまり、市場性を踏まえた事業化にまで踏み込めていない。基盤センターは大阪大、大阪商工会議所などと連携して、医療機器に特化した知的財産の評価指標づくりを始めている。

医療機器の分野では、欧米からの大幅な輸入超が常態化している。ようやく大手電機メーカーが関心を寄せ始めたが、医療現場と企業との壁は高い。製造物責任に対する警戒心も小さくない。いかに国内の企業がもつ要素技術を医療に生かすか。国循の大きなテーマでもある。

3 目の前で、医師が手術台に横た

得た後も大変で、研修の教材は計

「前」ア「二」基米 マソン 番組な なたけ 入した 79(ル)始 有料会 料など え、約 番組を 濃美 し元十 ホールニ 肺炎で死 のみで(す)キ ルティン 1・500

○井村 (専務) 子、寺家 西安樹 鈴木秀敏 山路孝真、 取締役山 財務経理 長山本

## H22年度厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）

### 分担研究報告書

#### 循環器病治療機器の医工連携による研究開発・製品化・汎用化を 実現するための基盤整備に関する研究

#### 臨床研究・治験に関する基盤整備：人材育成と教育プログラムの策定と実施に関する研究

分担研究者 北風 政史 国立循環器病研究センター 臨床研究部長  
山本 晴子 国立循環器病研究センター 先進医療・治験推進部長

研究要旨 昨年度までの人材雇用と育成により、自主臨床研究への支援体制が軌道に乗り、今年度は本格的に支援を開始した。研究者を対象とした教育プログラムについては、従来の講義型セミナーに加えて参加型セミナーを行った。また、近隣施設の研究者および研究支援者に対してもセミナーを開放した。いくつかのグローバル共同臨床試験参加依頼を受け、参加準備を開始した。

#### A. 研究目的

国立循環器病センターは生活習慣病を専門とする唯一のナショナルセンターであり、医薬品のみならず、侵襲性の高い医療機器の治験の経験も多い。また、多施設共同で行う臨床研究の実施件数も多い。研究所で開発された先進医療技術を活用したトランスレーショナルリサーチや治験推進研究事業による医師主導治験を実施している実績を有する。さらに2007年度より「次期治験活性化五カ年計画」の中核病院に選定され、治験及び自主臨床研究の推進を担い、自主臨床研究の支援を行う臨床研究コーディネーターやデータマネージャーの養成を進めているところである。これらの支援人材、さらに研究者等も含めた幅広い臨床研究関連人材に対する教育プログラムの開発をめざした。

#### B. 研究方法

H22年度より組織が国立から独立行政法人となったことを受け、新たに研究開発基盤センターが設置された。臨床研究開発部は臨床研究部と先進医

療・治験推進部の2部構成となった。これまでの臨床部門が臨床研究部に、統計・データマネジメント部門、研究コーディネート部門が先進医療・治験推進部に所属することとなったが、2部が有機的に連携して活動を行うこととなった。

中核病院機能の整備の一環として、グローバル自主臨床試験や、革新的な医療機器など革新的でリスク予測の困難な新規医療技術等への対応が可能となるよう支援体制を強化する一方、研究者に対して臨床研究実施計画書作成のためのセミナーや医学統計学セミナー、研究倫理に関するセミナー等の教育計画を立て実行することとした。

#### （倫理面への配慮）

本研究は人材育成と教育プログラムの構築を目的としているため、倫理面の問題は発生しない。しかし、臨床研究に関わる人材育成において、各研修者がヘルシンキ宣言、各種研究の倫理ガイドライン、GCP等に加え、生命倫理一般に関する基礎的知識を修得するよう配慮した。

## C. 研究結果

### I. 研究コーディネート部門

研究コーディネート部門では、4名の臨床研究コーディネーター(CRC)が自主臨床研究支援を担当している。研究計画段階から実施段階に至る様々な支援活動を、同意説明文書作成支援、CRF策支援等のセントラル支援と、被験者対応や同意説明補助といったサイト支援の2種の支援に大別し実施した。医療機器の第IV相試験の支援依頼が増加したことを受け、今年度はサイト支援を多く行った。

治験関連では、22年度の独立行政法人化に伴い、医薬品治験、医療機器治験の両方のポイント表を改訂したことで、特に医療機器の企業治験における契約金額が実態に合わせて適正化された。

### II. 統計・データマネジメント部門

統計・データマネジメント部門では、前向き観察研究6課題、介入研究2課題、計8課題のデータマネジメント支援を実施している。今年度はさらに、介入研究の割付プログラムの制作と準備などの支援も開始した。また、昨年度に導入した複Microsoft Office Project Server2007により、複数課題の進捗状況を効率的に管理することができている。

### III. 研究者等を対象とした教育

臨床研究の実施を目指す研究者等を対象とした毎年、臨床研究セミナーを1ヶ月に1回の頻度で行い、臨床研究に関するトピックや生物統計関連の講義を行っている。今年度は、臨床研究の計画、実施、解析の3つのシリーズに分割し、それぞれ4回のセミナーを開催することで、さらに参加しやすくした。また、今年度から近隣の研究者や研究支援者にも参加を募ったところ、毎回40人程度が参加した。

昨年度にひきつづき、研究計画書を実際に作成するセミナーを実施したが、今年度は週末2日間

に集中的に行うこととし、院外参加者も参加しやすい環境を整えた。

### IV. グローバル共同臨床試験への対応

米国サウスカロライナ医科大学の生物統計学教授で循環器疾患の臨床研究データセンターを主宰するパレシュ教授と、国際臨床試験実施への体制整備に関する共同研究を開始した。パレシュ教授がコーディネートセンターをしている超急性期脳梗塞に対する医療機器を用いた臨床試験(米国NIHがスポンサー)を題材として、日米共同で臨床試験を実施する際の問題点等を議論する場として、サンフランシスコで日米共同ワークショップを開催した。日米の研究者、規制当局、NIH等からの参加があり2日にわたって討議を行い、現在実施中の研究計画を日本向けに改訂することを決議した。また、パレシュ教授の主宰するデータセンターを訪問し、人員構成、設備、予算、教育体制等を視察した。

### D. 考察

昨年度までの人材雇用と育成により、自主臨床研究への支援体制が軌道に乗った。今年度は支援課題の数や難易度を上げることができた。教育プログラムについては、従来の講義型セミナーに加えて参加型セミナーを行った。また、週末2日間セミナーの開催などを行うことで、院内、院外からの参加がしやすい環境を整えた。グローバル共同臨床試験の実施における支援体制については、日米共同ワークショップの開催に加え、米国のアカデミックデータセンターを視察し、人員構成や予算規模、教育体制等を学ぶことができた。

### E. 結論

3年間の研究活動を通じ、医療機器を用いた臨

床試験の支援体制、人材養成、教育体制等を充実させた。また、グローバル共同臨床試験の実施についても、準備を開始することができた。

F. 健康危険情報

健康危険に該当する情報はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）

平成22年度分担研究報告書

循環器病治療機器の医工連携による研究開発・製品化・汎用化を  
実現するための基盤整備に関する研究

心臓・自律神経電気刺激による循環器病治療における人材育成  
（分担課題名）

分担研究者 杉町 勝（国立循環器病センター研究所 部長）

**研究要旨：**

心不全のデバイス治療の開発に必要な基盤として、人材育成のため20年度からおこなった教育プログラム（講義）に関し、その後も継続して開発に携わった企業担当者を対象に講義の有用性についてアンケート調査を行った。アンケートの結果、講義に関して改善すべき点が見出され、今後のプログラムに反映させる予定である。特に、開発内容に直接に関連のない基礎的内容については関連を示しつつ講義を行うことの重要性、理解の悪い研究者への個別的なフォローが必要であることが示唆された。

**A. 研究目的**

高齢化や生活習慣の欧米化にともない慢性心不全患者は劇的に増加している。慢性心不全の治療においてデバイス治療の果たす役割は大きいことが繰り返し示されてきた。臨床医にとっても、薬物治療の限界が見られるなかで、ICD（植え込み除細動器）やCRT（心臓再同期治療装置）などのデバイス治療の果たす役割はますます増加している。デバイス治療は治療の効果（Efficacy）は高いが治療の質（Quality）が低いことがその限界であるが、心不全の進行予防をたとえば迷走神経の電気刺激によって行うことができれば、治療の質の改善にも資することができる。迷走神経刺激についても注目が集まり一部で臨床応用が始まっている。本研究ではこれらの治療法に関して実用化を推進するために必要な人材育成に関して検討した。

**B. 研究方法**

ICD（植え込み除細動器）やCRT（心臓再同期治療装置）など治療デバイスにおいては、その開発、PMDAとの事前相談、非臨床試験、治験、承認申請、

販売、メンテナンス、市販後調査、不具合報告などすべての過程で十分な知識をもつ人材が必要となる。必要な知識は現場に即したものであるだけでなく、基礎的な知識に立脚していなければその知識は限られた能力となってしまふ。心臓電気生理学の基礎および臨床双方の知識の習得が必要である。

心臓ペースメーカやICD、CRTは最も成功した循環器病の治療装置である。その成功の鍵は、自律的に治療を行う装置であったことである。またペースメーカやCRTでは、生体興奮膜の特性を利用することでわずかな電力で心臓全体を制御でき、省電力と長期動作を可能にした。

しかしながら、これらの機器は改良が加えられるに従って複雑化し、多数の設定項目がプログラム可能となっている。すべての設定項目の意義と設定方針は不整脈専門医によって理解されているが、同等の知識がデバイス治療に関わるあらゆる人材に必要なことである。特に設定項目についてはその意義に立ち返って理解しなければならない。

このことから私たちは平成20年度から、ICD開発に資する人材育成のために、その教育プログラム

を策定し、実際に教育訓練を行ってきた。現時点ではICDの開発に携わる研究者を対象とした。受講者はその後もICD開発を継続した。ICD開発の過程を反映しさらにアンケート調査について検討した。

1. 生理学や病態について医学系研究者による講義を受けることは機器開発の上で意味があると思いますか？
2. 今回は20時間の講義を行いました。全体としての講義内容は多かったですか？少なかったですか？
3. 月に1~2回の開催を行ってきましたが、講義の開催間隔は如何でしたか？
4. 国立循環器病研究センター職員の勤務時間が終わった後の 17:30 または 18:00 から講義を開始しましたが、開始時間は如何でしたか？
5. 1回の講義時間を2時間に設定しましたが、講義時間の長さは如何でしたか？
6. 今回はTV会議システムを用いて講義を行いました。TV会議システムを用いることにはメリットとデメリットのどちらが大きいですか？
7. TV会議システムの音声は聞き取りやすかったですか？
8. TV会議システムのスライドは見やすかったですか？
9. TV会議システムで動画は問題なく表示されていたと思いますか？
10. 今回の講義では、ICDに関することや重点を置きながら広く不整脈学を網羅するように講義内容を組みました。機器(ICD)開発では、どのように講義内容を配分することがよいと思いますか？
11. 今回の講義では、やや臨床に重点を置きながらも、基礎の内容も含めて講義を行いました。機器(ICD)開発では、基礎の内容と臨床の内容をどのように配分することがよいと思いますか？
12. 今回は講義の直後に質問を受け付けましたが、質問をしたいと感じるのは講義の後どれくらいですか？
13. 参考となる教科書を示しましたが、講義の前や後に参考書を自習することはありましたか？
14. 講義のスライドおよび理解確認問題で復習することはありましたか？
15. 今回、不整脈についてのみの講義を行いました。他に循環器病に関する講義を聞きたいと思いませんか？講義を聞きたいテーマがあればお書きください。

図1 アンケート質問内容

アンケートでは図1のような質問を行ったが、さらに各講義項目についての理解度を検討した。

### C. 研究結果およびD. 考察

各講義内容について講義前後での理解度を比較して図2に示す。理解度ごとの人数をヒストグラムで示し、各パネルは各講義内容に対応する。紫色で示す系列は講義前、水色で示す系列は講義後の理解度であり、理解度1は0-30%、理解度2は30-60%、理解度3は60-75%、理解度4は75-90%、理解度5は90-100%の理解をそ

れぞれ意味する。

いずれの講義内容についても講義前に比し講義後の理解がすすんでいる。一方、理解度のばらつきは増加しており、学習者により講義内容の理解の程度が大きく異なることが明らかになった。これは、研究開発にすでに相当の年数にわたり関わっている研究者、当該研究に関わり始めて間もない研究者のちがいと考えられる。これらのちがいは予備知識の多寡、講義に対するモチベーションの多寡の双方によると考えられた。

講義内容の中で講義後の理解度が最も低いものが「徐脈性不整脈と上室性不整脈」であり、次いで「心室性不整脈」と「病態と不整脈」であった。

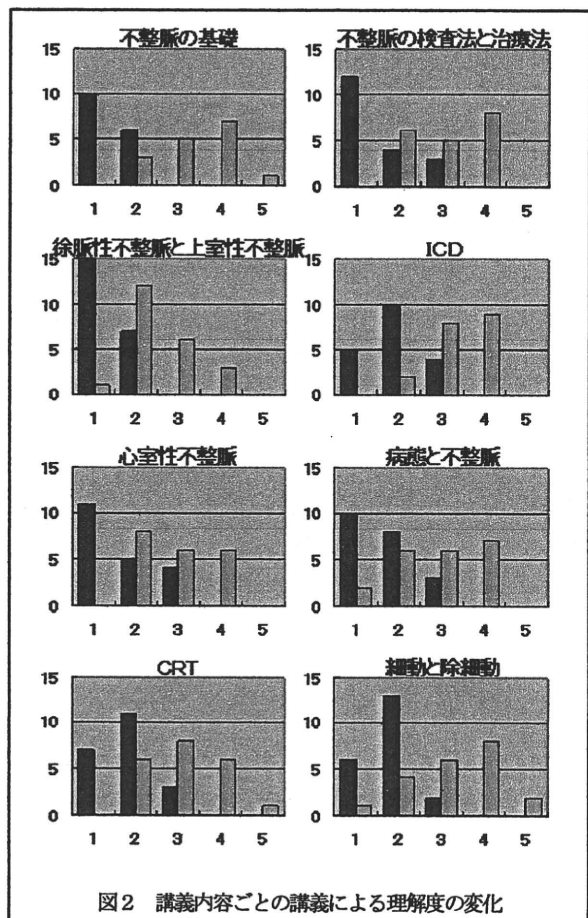


図2 講義内容ごとの講義による理解度の変化

一方、デバイス治療の内容に直結する「ICD」と「CRT」については理解度が高かった。このことは、デバイス治療の開発には病態などの心臓電気生理学の基礎的理解も必要ではあるものの、デバイス開発治療との関連性を示しつつ講義を行うなど講義への

モチベーションを高める工夫が必要であることが示唆される。

アンケートの回答からは基礎と臨床をバランスよく講義することが望まれてはいることから、必要性は認めつつ開発内容との関連についての理解がすすみづらいことが考えられる。

## E. 結論

心不全のデバイス治療の開発に必要な基盤として、人材育成のため20年度からおこなっている教育プログラム（講義）に関し、その後も継続して開発に携わった企業担当者を対象に講義の有用性についてアンケート調査を行った。アンケートの結果、講義に関して改善すべき点が見出され、今後のプログラムに反映させる予定である。特に、開発内容に直接に関連のない基礎的内容については関連を示しつつ講義を行うことの重要性、理解の悪い研究者への個別的なフォローが必要であることが示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### G-1. 論文

1. **Estimated venous return surface and cardiac output curve precisely predicts new hemodynamics after volume change.** Sugimachi M, Sunagawa K, Uemura K, Kamiya A, Shimizu S, Inagaki M, Shishido T. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2010; 1: 5205-5208.
2. **Automated drug delivery system for the management of hemodynamics and cardiac energetic in acute heart failure.** Uemura K, Sugimachi M, Kawada T, Sunagawa K. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2010; 1: 5222-5225.
3. **Physiological significance of pressure-volume relationship: A load-independent index and a determinant of pump function.** Sugimachi M,

Sunagawa K, Uemura K, Shishido T. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2010; 1: 3553.

4. **Development of artificial bionic baroreflex system.** Sunagawa K, Sugimachi M. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2010; 1: 3446-3448.
5. **Parallel resetting of arterial baroreflex control of renal and cardiac sympathetic nerve activities during upright tilt in rabbits.** Kamiya A, Kawada T, Mizuno M, Shimizu S, Sugimachi M. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010 Jun; 298(6): H1966-H1975.
6. **Open-loop dynamic and static characteristics of the carotid sinus baroreflex in rats with chronic heart failure after myocardial infarction.** Kawada T, Li M, Kamiya A, Shimizu S, Uemura K, Yamamoto H, Sugimachi M. *J Physiol Sci.* 2010 Jul; 60(4): 283-298.
7. **Early short-term vagal nerve stimulation attenuates cardiac remodeling after reperfused myocardial infarction.** Uemura K, Zheng C, Li M, Kawada T, Sugimachi M. *J Card Fail.* 2010 Aug; 16(8): 689-699.
8. **Dynamic characteristics of heart rate control by the autonomic nervous system in rats.** Mizuno M, Kawada T, Kamiya A, Miyamoto T, Shimizu S, Shishido T, Smith SA, Sugimachi M. *Exp Physiol.* 2010 Sep; 95(9): 919-925.
9. **Dynamic characteristics of baroreflex neural and peripheral arcs are preserved in spontaneously hypertensive rats.** Kawada T, Shimizu S, Kamiya A, Sata Y, Uemura K, Sugimachi M. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2011 Jan; 300(1): R155-R165.
10. **Involvement of the mechanoreceptors in the sensory mechanisms of manual and electrical acupuncture.** Yamamoto H, Kawada T, Kamiya A, Miyazaki S, Sugimachi M. *Auton Neurosci.* 2011 Feb 24; 160(1-2): 27-31.

## G-2. 学会発表

1. **Rapid baroreflex neural arc compensates for blunted arterial pressure response to sympathetic nerve activity in chronic heart failure rats** Toru Kawada, Meihua Li, Shuji Shimizu, Atsunori Kamiya, Kazunori Uemura, Toshiaki Shishido, Hiromi Yamamoto, Masaru Sugimachi. 第74回日本循環器学会総会・学術集会
2. **Medetomidine, an  $\alpha_2$ -adrenergic agonist, directly activates cardiac parasympathetic nerve** Shuji Shimizu, Tsuyoshi Akiyama, Toru Kawada, Toshiaki Shishido, Atsunori kamiya, Masashi Inagaki, Mikiyasu Shirai, Masaru Sugimachi. 第74回日本循環器学会総会・学術集会
3. **最優先の医療ニーズは何か？先進ICTでどうそれを解決するか？** 杉町 勝 電子情報通信学会 2010年総大会
4. **心筋梗塞ラットにおける迷走神経を介する交感神経活動抑制の欠如** 川田 徹、清水 秀二、神谷 厚範、宍戸 稔聡、杉町 勝 第87回日本生理学会大会
5. **心臓交感・副交感神経活動に対する $\alpha_2$ アゴニストの影響** 清水 秀二、秋山 剛、川田 徹、神谷 厚範、宍戸 稔聡、白井 幹康、杉町 勝 第87回日本生理学会大会
6. **急性期からの迷走神経の慢性電気刺激は心筋梗塞ラットの致死性不整脈と心臓リモデリングを抑制する** 李 梅花、稲垣 正司、鄭 燦、川田 徹、上村 和紀、宍戸 稔聡、杉町 勝 第31回日本循環制御医学会総会
7. **A new intelligent technique of fluid restriction in small animals** 鄭 燦、李 梅花、杉町 勝、佐藤 隆幸 第31回日本循環制御医学会総会
8. **心筋梗塞後ラットにおける迷走神経を介する交感神経抑制作用の消失** 川田 徹、李 梅花、清水 秀二、上村 和紀、神谷 厚範、宍戸 稔聡、杉町 勝 第31回日本循環制御医学会総会
9. **徒手および通電鍼刺激に対する循環応答における機械受容器の関与** 山本 裕美、川田 徹、神谷 厚範、宮崎 俊一、杉町 勝 第31回日本循環制御医学会総会
10. **Dynamic characteristics of the arterial baroreflex in spontaneously hypertensive rats** 川田 徹、清水 秀二、神谷 厚範、宍戸 稔聡、佐田 悠輔、杉町 勝 第49回日本生体医工学会大会
11. **Continuous monitoring of cardiac output by pressure and doppler velocity profiles of easily accessible peripheral artery** 上村 和紀、杉町 勝 第49回日本生体医工学会大会
12. **Difficulty in physician-engineer collaboration may arise from their partial involvement in separate phases of device development** 杉町 勝 第49回日本生体医工学会大会
13. **Medetomidine, an  $\alpha_2$  adrenergic agonist enhances acetylcholine release from cardiac vagal nerve endings through central action** Shuji Shimizu, Tsuyoshi Akiyama, Toru Kawada, Masashi Inagaki, Atsunori Kamiya, Toshiaki Shishido, Shunji Sano, Mikiyasu Shirai, Masaru Sugimachi. *European Society of Cardiology Congress 2010*
14. **重回帰分析を用いた致死性不整脈検出アルゴリズムに関する検討** 阿部 誠、テルマ ケイコスガイ、吉澤 誠、清水 一夫、後藤 萌、稲垣 正司、杉町 勝、砂川 賢二 生体医工学シンポジウム 2010
15. **Slow head-up tilt causes lower activation of muscle sympathetic nerve activity: loading speed-dependence of orthostatic sympathetic activation in humans** Atsunori Kamiya, Toru Kawada, Shuji Shimizu, Masaru Sugimachi. *Cardiovascular System Dynamics Society*



2010

16. **Autopilot system enables simultaneous hemodynamic normalization and cardiac protection** Masaru Sugimachi, Kazunori Uemura, Toshiaki Shishido, Shuji Shimizu, Kenji Sunagawa. *Cardiovascular System Dynamics Society 2010*
17. **Vagal stimulation markedly suppressed arrhythmic death prevented cardiac dysfunction in rats after acute myocardial infarction** Meihua Li, Masashi Inagaki, Can Zheng, Toru Kawada, Kazunori Uemura, Toshiaki Shishido, Masaru Sugimachi. *Cardiovascular System Dynamics Society 2010*
18. 高血圧に伴う動脈圧反射系の変化—圧反射系への介入治療に与える影響— 佐田 悠輔、川田 徹、杉町 勝 第25回生体・生理工学シンポジウム
19. 中枢投与したグレリンは麻酔科ウサギの心臓迷走神経活動を亢進させる 清水 秀二、秋山 剛、川田 徹、神谷 厚範、白井 幹康、杉町 勝 第103回近畿生理学談話会
20. システム工学的視点による高血圧の病態解明 佐田 悠輔、清水 秀二、川田 徹、杉町 勝 第103回近畿生理学談話会
21. 長期の迷走神経刺激による慢性心不全の進行抑制 杉町 勝 第63回日本自律神経学会総会
22. 迷走神経刺激による心不全治療 杉町 勝 第48回日本人工臓器学会大会
23. **Centrally administered ghrelin enhances acetylcholine release from cardiac vagal nerve endings** Shuji Shimizu, Tsuyoshi Akiyama, Toru Kawada, Takashi Sonobe, Atsunori Kamiya, Toshiaki Shishido, Takeshi Tokudome, Hiroshi Hosoda, Mikiyasu Shirai, Kenji Kangawa, Masaru Sugimachi. *American Heart Association, 2010*
- 24.
25. 除細動器・心臓再同期装置に組み込み可能な、心拍出量モニターシステム 上村 和紀、稲垣 正司、清水 一夫、根本 和人、杉町 勝 第48回日本生体医工学大会
26. 迷走神経を、3日間電気刺激するだけで冠再灌流された心筋梗塞後の心臓のリモデリングを改善できる 上村 和紀、鄭 燦、李 梅花、杉町 勝 第48回日本生体医工学大会
27. アンジオテンシンIIが動脈圧反射系の開ループ静特性に及ぼす影響 川田 徹、清水 秀二、水野 正樹、宍戸 稔聡、杉町 勝 第48回日本生体医工学大会
28. 心臓マイクロダイアリス法による洞房結節における交感・副交感神経活動の定量化 清水 秀二、秋山 剛、川田 徹、宍戸 稔聡、神谷 厚範、杉町 勝 第48回日本生体医工学大会
29. 心磁計測による心筋興奮伝導異常の検出 高木 洋、杉町 勝、鎌倉 史郎 第24回日本生体磁気学会大会
30. 運動時周期性呼吸変動の発生機序に関する検討：周期性呼吸は換気量と呼気終末二酸化炭素濃度の Lag time が消失する時点と一致して消退する 高木 洋、杉町 勝 第30回日本循環制御医学会総会
31. 迷走神経を、冠虚血再灌流後の3日間電気刺激するだけで心筋梗塞後左心室リモデリングを劇的に改善することができる 上村 和紀、鄭 燦、李 梅花、川田 徹、杉町 勝 第30回日本循環制御医学会総会
32. 心筋梗塞後心不全ラットにおける開ループ動脈圧反射特性 川田 徹、李 梅花、上村 和紀、宍戸 稔聡、杉町 勝 第30回日本循環制御医学会総会
33. アセチルコリンエステラーゼ阻害薬（ドネペジル）投与による心筋梗塞後重症心不全治療における  $\alpha 7$ -ニコチン性アセチルコリン受容体 ( $\alpha 7$  nAChR) の関与 李 梅花、川田 徹、上村 和

紀、宍戸 稔聡、杉町 勝 第30回日本循環制御医学学会総会

34. 重症心不全症例における phosphodiesterase 3 阻害薬投与の血行動態改善効果は予測できるか？ 馬場 裕一、宍戸 稔聡、清水 秀二、上村 和紀、加藤 倫子、橋村 一彦、安村 良男、杉町 勝 第30回日本循環制御医学学会総会
35. Effects of angiotensin II on open-loop carotid sinus baroreflex function Toru Kawada, Shuji Shimizu, Kazunori Uemura, Toshiaki Shishido, Masaru Sugimachi. *The 36th International Union of Physiological Societies, 2009*
36. Early short-term vagal nerve stimulation attenuates myocardial structural remodeling after reperfused myocardial infarction Kazunori Uemura, Can Zheng, Meihua Li, Masaru Sugimachi. *The 36th International Union of Physiological Societies, 2009*
37. Right heart with relatively preserved pump function is necessary to improve hemodynamics with milrinone in patients with advanced heart failure. Yuichi Baba, Toshiaki Shishido, Kazunori Uemura, Tomoko Kato, Kazuhiko Hashimura, Yoshio Yasumura, Yoshinori Doi, Masaru Sugimachi. *European Society of Cardiology, 2009*
38. Preliminary study on the detection of cardiac arrhythmias based on multiple simultaneous electrograms. Telma Keiko Sugai, Makoto Yoshizawa, Makoto Abe, Masashi Inagaki, Masaru Sugimachi, Kazuo Shimizu, Kenji Sunagawa. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2009*
39. 重症心不全に対する迷走神経刺激療法 宍戸 稔聡、李 梅花、鄭 燦、上村 和紀、川田 徹、杉町 勝 第24回生体・生理工学シンポジウム
40. 右心機能が比較的保たれた重症心不全症例では、

PDE3 阻害薬による血行動態改善が期待できる 馬場 裕一、宍戸 稔聡、加藤 倫子、橋村 一彦、安村 良男、土居 義典、杉町 勝 第57回日本心臓病学会学術集会

41. Beneficial effects of electrical vagal stimulation on heart failure progression may involve central mechanism. Masaru Sugimachi. 第13回日本心不全学会学術集会
42. システム生理学によって、自律神経系および心循環器系の動態を予測する試み 神谷 厚範、川田 徹、杉町 勝 第55回日本宇宙航空環境医学会大会
43. Donepezil markedly suppresses ventricular dysfunction and improves neurohumoral states on top of losartan in rats with extensive myocardial infarction Can Zheng, Masaru Sugimachi. *American Heart Association, 2009*
44. Blockade of  $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptors attenuates cardio-protective effects of donepezil in rats with extensive myocardial infarction Masaru Sugimachi. *American Heart Association, 2009*

### G-3. 新聞報道

なし

### H. 知的所有権の取得状況

1. 海外特許「超小型一体化心臓ペースメーカ及び分散心臓ペーシングシステム」欧州分割出願 2005年2月4日出願、2011年4月13日登録、2047887号；米国 2005年2月3日出願、許諾済（他に7ヶ国登録済、1ヶ国分割出願審査中）
2. 海外特許「心疾患治療システム」欧州 2007年6月18日出願、2010年3月30日登録、2020248号；中国 2007年7月18日出願、許諾済（他に1ヶ国登録済、2ヶ国審査中）
3. 海外特許「生体調節機能代替を用いた治療用システム並びに該システムに基づく心臓ペース

ングシステム、血圧調節システム及び心疾患治療システム」米国 2005 年 2 月 3 日出願、2010 年 11 月 16 日登録、7835791 B2 号および分割出願許諾済；イスラエル 2005 年 1 月 30 日出願、許諾済（他に 4 ヶ国登録済、2 ヶ国審査中、1 ヶ国分割出願審査中）

4. 海外特許「心臓酸素消費量自動最小化システムおよびこれを用いた心疾患治療システム」日本 2006 年 2 月 16 日出願、2010 年 9 月 10 日登録、4581050 号（他に 1 ヶ国審査中）

厚生労働科学研究費補助金 (医療機器開発推進研究事業)  
(分担) 研究報告書

循環器病治療機器の医工連携による研究開発・製品化・  
汎用化を実現するための基盤整備に関する研究

(分担) 研究者 山岡 哲二  
独立行政法人  
国立循環器病研究センター研究所  
生体医工学部

研究要旨 国立循環器病センター研究所生体工学部と同センター心臓血管外科との連携により、脱細胞組織を利用した人工血管の開発を進めてきた。超高压法による脱細胞システムを開発してきたが、人工血管の移植実験において、低頻度ではあるが血栓や石灰化形成が認められている。そこで迅速な内皮化形成を目指し、コラーゲン結合性オリゴペプチドを用いた脱細胞組織修飾法の開発を進めた。

#### A. 研究目的

ePTFE (expanded polytetrafluoroethylene) や Dacron で作製された大口徑 (10cm 以上)、中口径 (6-8cm) の人工血管は、臨床に耐えうる性能を有する。しかしながら、直径 5 mm 以下の小口径血管治療では、血栓形成や再狭窄といった問題が指摘されており実用化には至っていない。さらに、これらの人工血管は成長に伴って再移植する必要があるため小児患者への適応が難しい。

これまでに多くの研究者により、新たな再生型血管の研究が進められている。例えば、Shinoka らは分解性高分子でできたグラフトに内皮細胞を播種して小児患者の肺動脈へ移植することで、移植 7 か月においても良好な開存性を報告した。このような再生医工学的アプローチは、低血栓性や石灰化抑制が要求される小口径人工血管開発のブレークスルーとなると期待されている。

われわれは、これまでに水を圧力媒体

として等方圧力を加える超高压印加処理法を開発した。ミニブタより動脈血管を摘出し、PBS に浸漬した後、980MPa の圧力を 30°C 下で 10 分間加え、続いて洗浄処理を行い細胞除去する方法である。多くのタンパク質や酵素は 300MPa 程度の高圧処理によって変性し、酵母や芽胞を持たない細菌は 500MPa の処理で細胞膜が破壊され、ウイルスは 600MPa の処理で不活化される。また、超高压処理では脱細胞化に加え滅菌効果もあった。さらに、界面活性剤では、処理時間によって組織の強度、弾性率とも増加する傾向に合ったが、超高压処理法では、力学的特性の変化は観られなかった。

超高压印加処理法により作製された人工血管をブタ大動脈へ移植した結果、最長 1 年にわたり良好な開存性を示した。しかしながらごく稀に移植血管の内腔に、血栓形成や石灰化が観察されている。このようなインシデントを完全に抑制することは、脱細胞化血管の臨床展開を図る

上で極めて重要な課題である。

そこで、脱細胞化組織に対して迅速な内皮化を誘導する手法として、細胞接着ドメインとコラーゲン結合ドメインからなる28量体のオリゴペプチドを用いた新たな表面修飾法を開発した。超高压処理された血管組織をオリゴペプチド溶液に浸漬することで、内皮細胞の接着性を向上させられるか共焦点レーザー顕微鏡ならびに蛍光分光法により検討した。さらに *in vivo* における脱細胞化血管のペプチド修飾効果について検討するため、ラット下行大動脈への移植実験により評価した。

## B. 研究方法

### B-1. *In vitro* でのペプチド修飾効果の検討

ブタ肺動脈を8×8mmに細切し、超高压処理 (UHP 処理) を施した。その後、10 μM のペプチド溶液に対して UHP 処理された組織を60℃、60分間浸漬した。その後、室温まで徐冷しPBSで洗浄した。Q-dot 625により標識された正常ヒトさい帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を脱細胞組織へ播種し、37℃で24時間インキュベートした。PBSにより組織を洗浄し、共焦点レーザー顕微鏡により表面に接着した細胞を観察した。さらに細胞接着量を定量的に解析するため、接着した細胞をLysis bufferにより溶解し、蛍光分光光度計によりQ-dot 625の蛍光発光量を定量した。検量線から脱細胞組織に結合した細胞量を算出した。

### B-2. ペプチド修飾した脱細胞血管の移植とMRI、組織染色による開存性の評価 同系同種移植により、ペプチド修飾し

た脱細胞化人工血管の組織再生能を *in vivo* で評価した。7-8週齢のSprague-Dawley rat (SD rat) の下行大動脈約10mmを摘出し、超高压印加処理装置によりUHP処理を施した。その後、B-1の実験方法と同様に、UHP処理された血管をペプチド溶液に浸漬することで表面処理を施した。8-0 proline 縫合糸を用いて表面処理された脱細胞化人工血管 (長さ3.5mm, 内径1mm) を7-8週齢のSD ratの下行大動脈へと置換した。止血時間はおよそ50分から1時間程度であった。移植から1か月後、MRIならびに組織染色により移植血管の開存性ならびに組織再生能について評価した。

## C. 研究結果

### C-1. ペプチド修飾の効果 (*in vitro*)

ペプチド溶液に浸漬した脱細胞化組織に対して細胞を播種した結果、コラーゲン結合配列 (POGの7回繰り返し配列) と内皮細胞接着配列 (REDV) からなるオリゴペプチド (POG<sub>7</sub>G<sub>3</sub>REDV) で処理された組織において多くの内皮細胞が接着している様子が観察された (図1)。一方で、コラーゲン結合配列の繰り返し数を少なくした配列や、スクランブル配列の場合では、細胞の接着数が著しく減少した。接着細胞数を定量的に解析するために、細胞溶出液の蛍光量を定量した結果、POG<sub>7</sub>G<sub>3</sub>REDVにより処理された組織では播種した細胞の半分程度が接着していた。しかし、他のコントロール配列の場合では、接着細胞数が5-10%程度であった (図2)。以上の検討から、コラーゲン結合配列と細胞接着配列からなるオリゴペプチド溶液に脱細胞化組織を浸漬させることで、内皮細胞の接着能を

向上させることができた。また、POG 7 回繰り返し配列の配列特異的に細胞接着能が示されたことから、このペプチドは、コラーゲンへ選択的に結合していることが示唆された。

## C-2. ペプチド修飾した脱細胞血管の移植と MRI、組織染色による開存性の評価

内皮細胞接着性オリゴペプチドにより表面修飾された脱細胞化人工血管を SD rat の下行大動脈へ移植した (図 3(A))。移植 1 か月後における MRI 像では、移植部位付近の動脈ならびに静脈において、血流に由来する MRI シグナルが観察された (図 3(B))。また、取り出して内腔を観察した結果、血栓や石灰化の様子は確認されなかった (図 3(C))。さらに、H&E, EVG, Vimentin, Kossa, vWF,  $\alpha$  SMA による組織染色の結果、内腔に内皮形成が観察され、血管組織が再生している様子が認められた (図 4)。コントロールとして、オリゴペプチドにより表面修飾をしていない群においては、血栓形成や血管の閉塞が比較的多く認められた。以上の結果より、脱細胞化組織に対して内皮細胞接着性配列を有するペプチドにより表面修飾することで、内皮細胞の誘導による迅速な組織再生を誘導できることが明らかとなった。

## E. 結論

本研究では、コラーゲン結合配列と内皮細胞接着配列からなるオリゴペプチドによって脱細胞化組織表面を修飾でき、また内皮細胞を効率的に界面へ接着させることができることを示した。また、人工血管の移植実験においても、オリゴペプチドにより表面修飾された人工血管は、内皮化形成を促進できる

可能性が示唆された。以上の結果より、コラーゲン結合性配列を含むオリゴペプチドは脱細胞化組織の表面を迅速に修飾でき、組織再生を積極的に誘導できることが示された。

## F. 健康危惧情報

現在までのところ、本研究は人間を対象としたものではないため、健康に対する害は生じない。

## F. 研究発表

### F-1. 論文発表

- 1) S. Kakinoki and T. Yamaoka, Stable modification of poly(lactic acid) surface with neurite outgrowth-promoting peptides via hydrophobic collagen-like sequence, *Acta Biomaterialia*, 6, 1925-1930 (2010)
- 2) A. Mahara and T. Yamaoka, Antibody-immobilized column for quick cell separation based on cell rolling, *Biotechnology Progress*, 26(2), 441-447 (2010)
- 3) A. Miskon, A. Mahara, H. Uyama, and T. Yamaoka, A suspension induction for myocardial differentiation of rat mesenchymal stem cells on various ECM proteins, *Tissue Engineering Part C*, doi:10.1089/ten.tec.2009.0218 (2010)
- 4) A. Mahara and T. Yamaoka, Continuous separation of cells of high osteoblastic differentiation potential from mesenchymal stem cells on an antibody-immobilized column, *Biomaterials*, 31, 4231-4237(2010)
- 5) T. Ehashi, A. Nishigaito, T. Fujisato, Y. Moritan, and T. Yamaoka, Peripheral nerve regeneration and electrophysiological recovery with CIP-treated allogeneic acellular nerve, *J. Biomat. Sci.* 22, 627-640 (2011)
- 6) Y. Tachibana, J. Enmi, A. Mahara, H. Iida, and T. Yamaoka, Design and characterization of a polymeric MRI contrast agent based on PVA for in vivo living-cell tracking, *Contrast Media and Molecular Imaging*, 5, 309-317(2010)
- 7) S. Kakinoki, S. Uchida, T. Ehashi, A. Murakami, and T. Yamaoka, Peripheral nerve regeneration using PLA nanofiber conduit modified with neurite outgrowth promoting peptide-oligo(lactic acid)conjugates in the rat, *Peptide Science*, 2009, 409-410 (2010)
- 8) Y. Tachibana, T. Hashimoto, H. Nozaki, A. Murakami, T. Yamaoka, Timing-controlled Decompaction of Polyplexes In Vivo Greatly Enhances Transgene Expression, *Chem. Lett.*,

- 39, 1238-1239 (2010)
- 9) Agudelo CA, Tachibana Y, Noboru T, Iida H, Yamaoka T. Long term in vivo MRI tracking of endothelial progenitor cells transplanted in rat ischemic limbs and their angiogenic potential. *Tissue Eng Part A*. 2011 Apr 6. (2011) [Epub ahead of print]
- 10) S. Kakinoki, S. Uchida, T. Ehashi, A. Murakami, T. Yamaoka, Surface modification of poly(L-lactic acid) nanofiber with oligo(D-lactic acid)-bioactive-peptide conjugates for peripheral nerve regeneration, *Polymers*, in press

## F-2. 総説

- 1) 山岡哲二、「ナノファイバー膜への細胞親和性の付与と神経誘導管への応用」、膜 (MEMBRANE)、35(3), 128-133 (2010)
- 2) T. Yamaoka, A. Mahara, Cell rolling column in purification and differentiation analysis of stem cells, *Reactive and Functional Polymers* 71, 362-366 (2011) DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2010.11.019
- 3) T. Fujiwara, T. Yamaoka, and, Y. Kimura, Thermo-responsive biodegradable hydrogels from stereocomplexed poly(lactide)s, in *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook* (Kinam Park and Teruo Okano eds.) 2010, Part 2, 157-177, DOI: 10.1007/978-1-4419-5919-5\_9

## G. 学会発表

- 1) 山岡 哲二、山口 晴加、江橋 具、森反 俊幸、藤里 俊哉、脱細胞化血管の長期埋入時に生じる石灰化反応の抑制、第 59 回高分子学会年次大会 (横浜)、2010. 5. 28
- 2) 柿木 佐知朗、田中 聖也、藤里 俊哉、山岡 哲二、 $\beta$ -シート型 In situ ペプチド水ゲルの設計とその評価、第 59 回高分子学会年次大会 (横浜)、2010. 5. 28
- 3) Sachiro Kakinoki and Tetsuji Yamaoka, PLA nanofiber conduit modified by the conjugates composed of neurite outgrowth promoting peptide-oligo lactic acid for peripheral nerve regeneration, 第 49 回日本生体医工学会大会 (大阪)、2010. 6. 25
- 4) 柿木佐知朗、山岡哲二、神経再生を目指した温度応答性細胞外基質の遺伝子工学的合成とその評価、第 39 回医用高分子シンポジウム (東京)、2010. 7. 27
- 5) 山岡哲二、湊谷謙司、田中裕史、山口晴加、森反俊幸、荻野均、姜貞勲、藤里俊哉、脱細胞ブタ大動脈移植後

の石灰化に対する脱細胞処理液組成の影響、第 39 回医用高分子シンポジウム (東京)、2010. 7. 27

- 6) 馬原 淳・山岡哲二・Kristi, L Kiick、心筋組織の再生を目指したペプチドゲルマトリックスの創成、第 39 回医用高分子シンポジウム (東京)、2010. 7. 27
- 7) Atsushi Mahara, Linqing Li, Tetsuji Yamaoka and Kristi L Kiick, Three-dimensional culture of mesenchymal stem cells encapsulated in resilin-like polypeptide hydrogels, *ACS Meetings, Conferences & Expositions* (ボストン), 2010. 8. 23
- 8) 柿木 佐知朗、山岡 哲二、人工タンパク質によるポリ乳酸系スキャホールドの機能化と神経再生への応用、第 42 回日本結合組織学会・第 57 回マトリックス研究会合同学術集会 (秋田)、2010. 8. 19
- 9) T. Yamaoka, H. Tanama, K. Minatoya, A. Kishida, H. Ogino, T. Fujisato, Suppressed vascular calcification in the porcine acellular bioscaffolds prepared by ultra high pressure treatment, 5th WCPMR (The World Virtual Institute and the World Federation of Preventive and Regenerative Medicine) (ドイツ), 2010. 10. 6
- 10) 馬原 淳、Kristi L Kiick、山岡 哲二、生体内 ECM 機能を再現したタンパク質からなる人工血管の作製、第 48 回日本人工臓器学会 (仙台)、2010. 11. 19
- 11) 江橋具、柿木佐知朗、由井伸彦、石原一彦、山岡哲二、皮下に埋入したバイオマテリアル界面に対する生体応答の遺伝子網羅解析、第 32 回日本バイオマテリアル学会大会 (広島)、2010. 11. 30
- 12) 鈴木彩香、柿木佐知朗、中島元、木村良晴、山岡哲二、構造の異なる PLLA-PEG ブロック共重合体界面と血小板との相互作用、第 32 回日本バイオマテリアル学会大会 (広島)、2010. 11. 30
- 13) 山岡哲二、田中裕史、鈴木彩香、森反俊幸、湊谷謙司、岸田晶夫、荻野均、北村惣一郎、姜貞勲、藤里俊哉、ブタ大動脈超高压脱細胞効率に及ぼす洗浄液組成の影響の検証と胸部下行大動脈置換 6 ヶ月所見、第 32 回日本バイオマテリアル学会大会 (広島)、2010. 11. 30
- 14) Sachiro Kakinoki, Tetsuji Yamaoka,

- Construction of elastin-like peptide expression vector using Bbs I restriction enzyme for neural regeneration, 5th International peptide symposium(47th Japanese peptide symposium) (京都), 2010.12.8
- 15) Tetsuji Yamaoka, Sho Uchida, Sachio Kakinoki, Atsushi Mahara, Cell adhesion and tissue regeneration on poly(lactic acid)-based scaffolds modified with oligo(lactic acid)-oligo peptide amphiphilic conjugates 5th International peptide symposium(47th Japanese peptide symposium) (京都), 2010.12.9
- 16) T. Yamaoka, T. Ehashi, T. Fujisato, Acellular bioscaffold for nerve tissue regeneration, PACIFICHEM 2010 (2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies)(ハワイ), 2010.12.18
- 17) N. Mihashi, A. Mahara, T. Moritan, T. Fujisato and T. Yamaoka, Endothelial cell compatibility of decellularized blood vessel, 第20回日本MRS学術シンポジウム(横浜), 2010.12.21
- 18) 山下敦、段孝彰、中沖隆彦、山岡哲二、P19CL6細胞の心筋分化誘導における培養基質表面特性の影響、第10回日本再生医療学会総会(東京)、2011.3.1
- 19) 馬原淳、鈴木彩香、姜貞勲、田中裕史、荻野均、森反俊幸、藤里俊哉、山岡哲二、石灰化抑制を目指した脱細胞化血管組織作製法の検討、第10回日本再生医療学会総会(東京)、2011.3.2
- 20) 柿木佐知朗、山岡哲二、両親媒性オリゴ乳酸-神経再生性ペプチド複合体によるポリ乳酸ナノファイバーの機能化と神経誘導管への応用、日本化学会第91春季年会(横浜)
- 21) 高崎健輔、柿木佐知朗、平野義明、山岡哲二、SUS316L表面への血管内皮細胞接着性ペプチド修飾法の検討とその機能評価、日本化学会第91春季年会(横浜)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



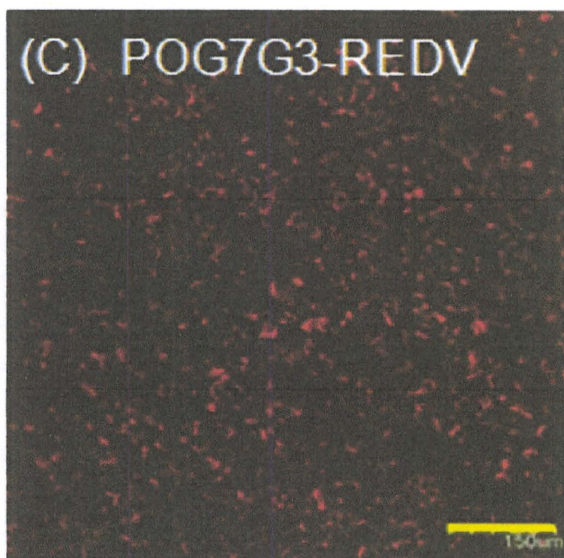
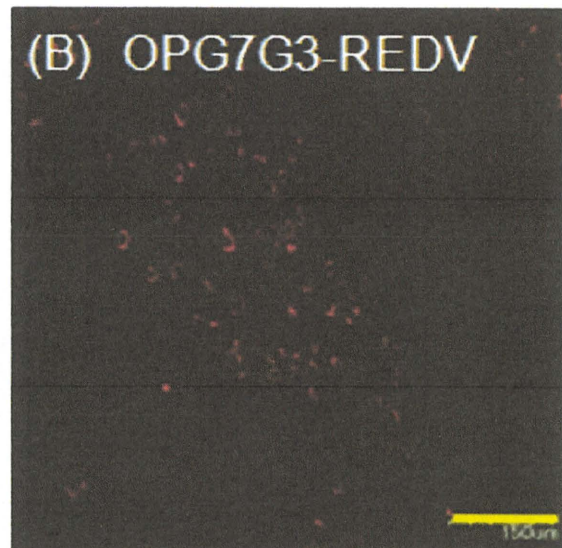
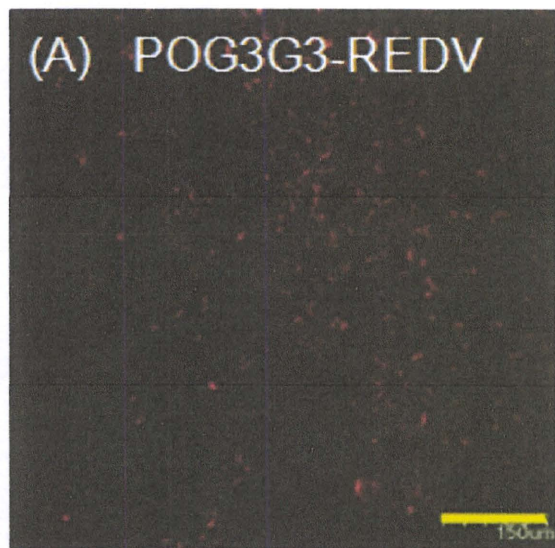


図1 ペプチド修飾した脱細胞化組織表面に接着している HUVEC の様子。共焦点レーザー顕微鏡により観察した。スケールバーは  $150\mu\text{m}$  を示す。

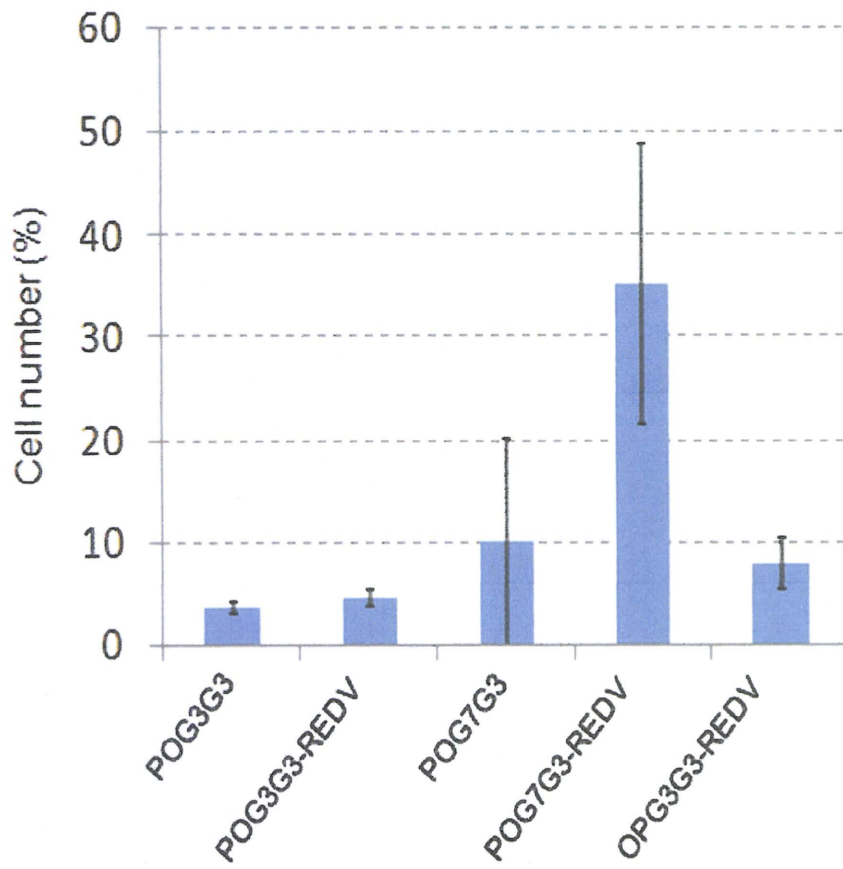


図2 表面修飾に用いたペプチド配列と組織に接着した HUVEC の数 (脱細胞化組織に播種した初期細胞数を 100%とした。)

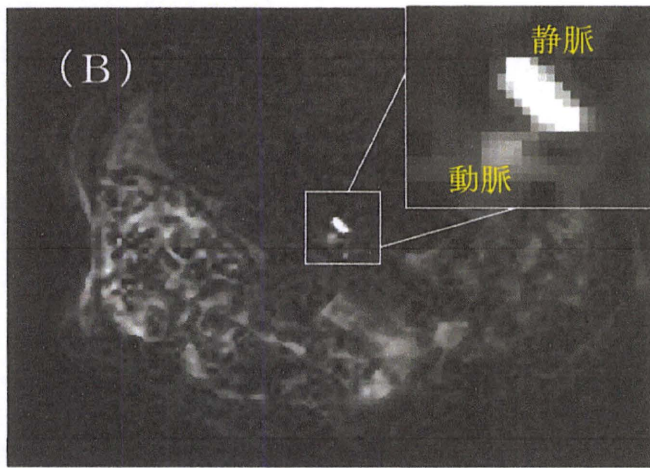
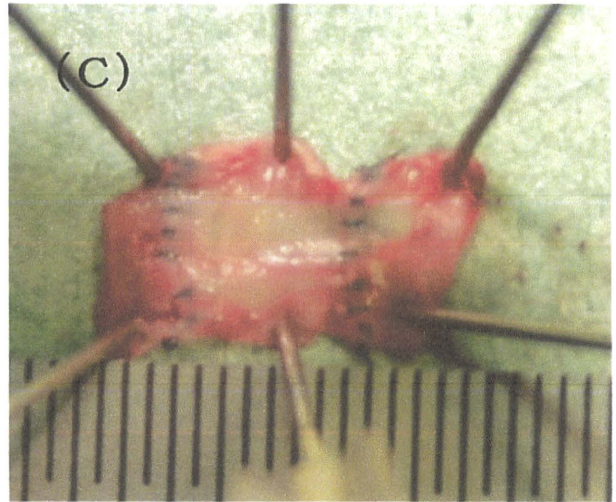
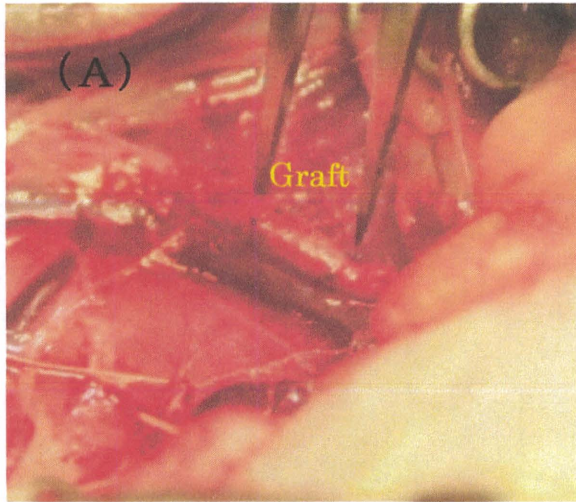
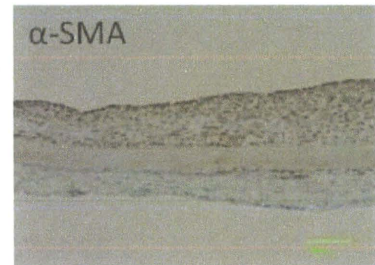
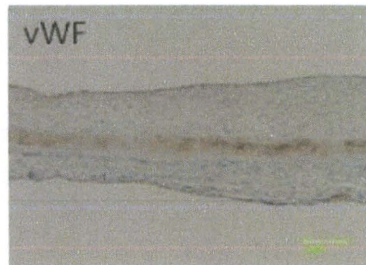
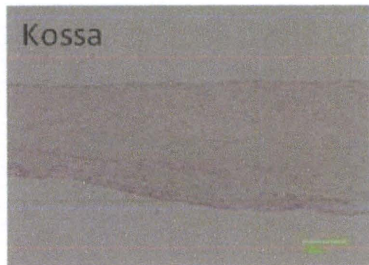
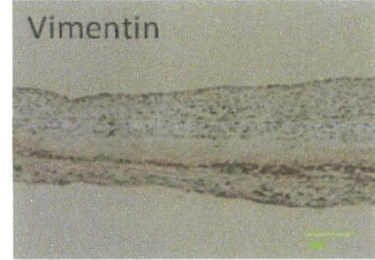
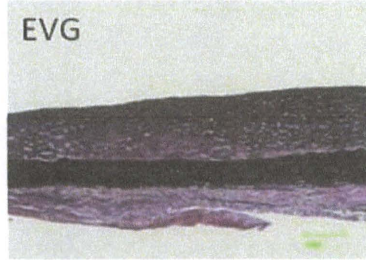
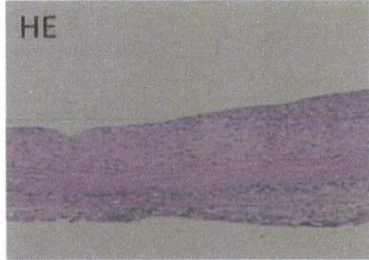
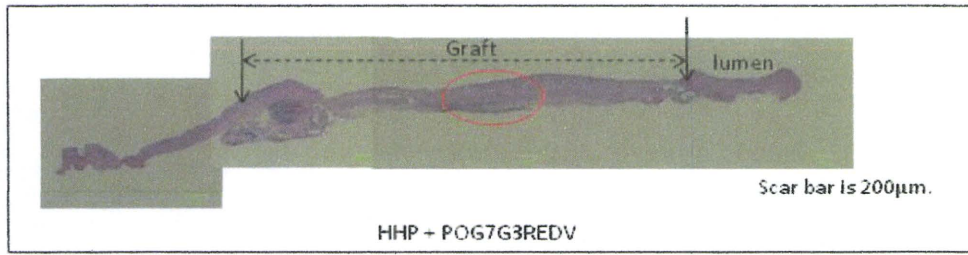


図3 POG7G3REDV 配列を有するオリゴペプチドにより修飾された人工血管の *in vivo* 評価 (A) 移植直後のグラフトの様子 (B) 移植1か月後におけるMRI像 (ラット腹部のサジタル画像) (C) 移植1か月後に取り出したグラフトの内腔の様子



Scar bar is 100µm.

図4 移植後1か月における組織染色の結果（図3（C）で示した血管の長軸方向へ切り出し染色した。写真上側が血管内腔を示す。）