

能な状態で倉庫に保管してあるとのこと。

一方、織物を作成したあとの処理において超極細繊維を基材から起毛させる必要がある。このための装置は繊維業界で一般的に使用されている起毛機械の一部を小型化するなどの改良をすることで可能となる。もしも新たに作るならば、それなりの費用はかかるであろうが、それらの構造は単純であるため汎用機で製造することとなるので、かかる費用はそれほどではないと見込まれる。その他、極細繊維を絡ませるための Water Jet 装置、乾燥装置、蛇腹を付ける装置等も必要であるが、これらに関しては東レ株式会社で使用していた装置をそのままスクラップとして野一色が譲り受けている。

7. 製造開始から販売できるまでの概算年数および必要事項（許認可事項、臨床試験等）

トレグラフトのデッドコピーを作るなら製造の条件設定に1年は必要であろう。そして厚生省の許可をもしも 510K で申請を出すならば容易に製造許可は得られると思われる。しかし新たな設計に基づいて作りなおすならば動物実験などで性能評価を行うために2年程度必要と思われる。さらに臨床治験をやり直すとするればそれに加えて2年は必要かも知れない。これらを並列にしてやるとすれば3年程度であろうか。

コラーゲンやゼラチン被覆を人工血管に行うならば 510K では許可は下りないため、それなりの臨床試験も必要となる。その期間は試験の計画にもよるが、やはり3年程度必要であろう。

8. 極細繊維の今後の有用性。ステントグラフト等

超極細繊維は通常の繊維を細くしたのであるから、おそらく強度的には弱いものとなっているであろうと考えられがちである。たとえば、通常の繊維の5分の1に繊維を細くすれば強度も5分の1に落ちるのではないかと考えられがちである。しかし繊維の特性として、その様にはならない。

繊維において、繊維の特徴として、細く引く時に内在する個々の高分子が引かれる方向に配列する性質がある。この時強く引けば引くほど、細くなるように引けば引くほど分子の配向は規則正しくなる。そしてその分子の配向の規則性に従って強度が対数的に増加する特徴がある。この性質を利用したのがケブラーの名前でしられる超強度繊維であり、防弾チョッキや航空機の翼などに使用されている。超極細繊維にあっても、極めて細く引き延ばして製造するために、内在する個々のポリエステル分子は規則正しく配向するために、強度的には極めて強くなる。従って、細くなると弱くなるということはない。この超極細繊維のもつ優れた特性は今後利用価値が高まると期待されている。

その一例としては、ステント型のグラフトが今日広く臨床で使用され始めているが、この分野では容易に超極細繊維製人工血管は使用可能であり、その特性を顕著に生かすことが可能である。通常はステント型のグラフトに用いる人工血管の布は多くの場合、通常の繊維の太さのポリエステル繊維が用いられている。しかしながら、ステント型人工血管ではできる限り細いシース内に挿入する事が望まれているため、人工血管布の厚みを薄くする工夫が行われている。しかし、通常の太さの繊維で布を薄くすると高有孔性となり、あるいは単純な構造となって血液の漏れが心配となる。また、単純な構造のため繊維の織り構造の型くずれが生じやすい。さらにまた強度的にも弱くなり、大動脈に使用

するには耐久性の点から何十年という長期間にわたる保障をいかにつけるか、問題となってくる。

このような問題点は超極細繊維を使用することで解決がつく。前述のように超極細繊維は細くて丈夫であり、布となった場合には薄い構造となる。しかも、もしも超極細繊維が絡まれば、たとえ薄くても型くずれし難くなり、シース内に挿入して強い力で押し込まれる際に生じるかも知れない布への傷害を最小限に防ぐことが可能である。また、布が薄くなるため、細いシースを使用することができて、あらゆるタイプのステント型人工血管として使用することが可能となる。

一般の太さの繊維を用いた人工血管をむりやり細いシースに挿入すると、しばしば繊維に傷が付くことがある。ポリエステル繊維も合成高分子材料であり、一般に合成高分子材料は引っ張り強度に強くても、引き裂き強度は弱いものである。とくに繊維の一部に小さな傷が付いていると、引っ張り強度が傷の部分で引き裂き強度に変わり、容易に裂けてゆく。丈夫なナイロンのザイルが岩場で傷が付いて切れる現象はこのようにして生じる。したがって、人工血管においてもシース内を通過させるときに繊維に小さな傷が付いたとすれば、将来その部から繊維の断裂が生じることが起こりうる。通常の太さで作成した人工血管では、実際にシース内を通過させた場合、繊維に無数の傷がついているのが走査型電子顕微鏡による観察で明らかとなっている。しかしながら、超極細繊維を用いると、繊維への圧迫は分散されて、更に繊維が柔軟であるために個々の繊維への傷は付き難くなり、繊維の断裂の可能性は低くなる。実際にシースを通過させた超極細繊維製の人工血管では、繊維の傷はこれまでは認められていない。このような利点は他にも活用可能であろう。

9. 問題点：極細繊維の入手

超極細繊維製人工血管を製造するに置いて最も大きな問題点はその超極細ポリエステル繊維を何処からいかにして入手するかである。超極細繊維は東レ株式会社の岡本によって約30年前に開発された。その製造方法の特許は既に切れているので、どの繊維メーカーでも製造可能である。また、岡本による製造方法と異なる製造方法をもって超極細繊維を作るメーカーも多い。このように日本生まれという超極細繊維の生い立ちから、超極細繊維を製造しているメーカーの多くは日本国内にある。すなわち、日本の繊維メーカーはほとんど超極細繊維を作る技術を持っており、それらのメーカーと提携関係を持つ韓国や台湾の繊維メーカーも同様に超極細繊維を作っている。これらは多くは衣料用や靴、シート、壁布等、一般に使用されている繊維を製造しているが、医療に関係した分野では、一時的に体外で使用される血液フィルターに用いられている程度である。

これらの繊維メーカーはDuPont社が出したアナウンス以来、植え込み用の医療材料に極細繊維を使用することに前向きではない。これは超極細繊維のみに限らず、あらゆる材料を植え込み用の人工臓器の素材としては使用したくないということである。したがって、現在の所、これらのメーカーから超極細繊維を入手することは難しいとおもわれる。

しかしながら最近植え込み型人工臓器に関する考え方も変化を見せつつある。

それは、アメリカにおいて、「Science on Trial」という本が1997年に出版されたからである。

この本の著者は New England Journal of Medicine という医学界では非常に権威ある雑誌の編集長である Marcia Angell, MD であって、彼女はこの本のなかで Daw Corning 社に関するシリコーンの医療裁判について、その経過を事実に照らし合わせ、科学的に、FDA の立場、Daw Corning 社の立場、そして裁判の実状、学術的な Evidence 等を詳細に、時間を追って記載し、論理的な解説をつけて、実状を紹介した。この本は実に説得力があり、アメリカの裁判、特に陪審員制度における裁判の実状、学術的な事実の取り扱いと、弁護士活動等が詳細に書かれており、真実を一般の人が知るきっかけとなった。

この本が出版されて以来、医療裁判にも影響を与えているという。そして、徐々に素材メーカーの考え方も変わりつつあると聞いている。このような状況にあることと、さらに前述したように、ポリエステル繊維は生体内で極めて安定しており、劣化も少なく、発癌性等の副作用もこれまで 100 万例以上の人工血管のみならず、縫合糸、心臓弁の台座を始め多くのポリエステル繊維性の製品の臨床例において生じていない事から、その安全性には問題はないと考えられ、メーカーとの交渉次第では超極細繊維は出荷して貰える可能性は高くなった。

10. その他 ; FDA、厚生省認可等

既にトレグラフトが FDA, 日本の厚生省での認可を得ているので、510Kでの申請ならば困難はないと思われる。さらに高級な modification を行う場合、たとえばコラーゲン被覆や細胞播種型人工血管などを作る場合には、それなりの認可が必要となる。それらは工夫次第で他の追従を許さない製品の開発が可能となるので、許認可も早いことも考えられるが、問題点も出るかも知れない。この点については、新たな人工血管を作成した時点で再提出市、厚生労働省との協議が必要であろう。

超極細繊維を用いた人工血管の開発 開発研究に至った経緯

横浜市立大学医学部 外科学第一講座
野一色 泰晴

I. 人工血管についての概要

1. 人工血管の必要性

一般に臨床で用いられている市販の人工血管は通常の太さのポリエステル繊維製布で管を作り、屈曲性を持たせるために蛇腹加工を施している。そのプロトタイプは1952年に報告され、1958年から今日まで臨床で使用されている。当時の設計思想は生体内で異物反応を起こさないとか、発癌性がない、いわゆる「ステルス性」を持つ材料で人工血管を作るもので、今日までその考え方は受け入れられてきている。そして破裂の危険性のある大動脈瘤患者や太い動脈の閉塞患者の治療に人工血管は「血液の代用導管」として大きく貢献している。

一般にコラーゲンを被覆していないポリエステル繊維製人工血管では繊維間隙からの血液の漏れを防ぐため、植え込み前に血液に触れさせて、繊維間隙を血餅で目詰まりさせる手技、いわゆるプレクロッティング操作を行う。それでも抗凝固療法を併用する手術では出血の危険性があるため繊維間隙の詰まった低有孔性人工血管が使用されるが、その様な人工血管では布が硬くなり手術操作に不便が生じている。この様な不都合を解消するために最近ではコラーゲンを被覆した人工血管が臨床では多用されている。

この度の試験研究ではまずプレクロッティング操作をしなくても血液が漏れないほどに極細繊維が絡まった人工血管を目指す。極細繊維であれば緻密に織られてもそれほどの硬さにはならないばかりか、繊維間隙にクモの巣状に極細繊維が絡まることで漏血防止効果が得られることが既に明らかにされているので、柔軟な取り扱い性の優れた安全な製品が得られることと期待している。

また、さらにコラーゲンを被覆した人工血管をも製作予定である。この時コラーゲンの処理法方の工夫で、コラーゲン本来の持つ特性をも活用する考えである。

2. 今日の人工血管の置かれた立場。

人工血管が開発されてわずか40年あまりであるが、この間に人工血管は多くの医療に大きく貢献し

てきた。そして今日ではさらに期待が寄せられている。しかし従来型の人工血管ではその期待に対応できない状態になってきた。すなわち、近年の外科手術では患者管理技術、麻酔技術の進歩で以前では不可能と思われていた領域にまで手術が可能である。そしてその治療をささえる周辺の医療器具、人工臓器にはそれに対応できる改良が要求されている。

人工血管は大口径の動脈での血液導管としての役割は十分に果たしている。しかし今日の要求を満たすには、人工血管内面から血栓付着を完全に、しかも永久に阻止しなければならない。この目的のためには完璧な抗血栓性材料を開発するか、あるいは内面に細胞親和性を持たせて、内皮細胞を一面に被覆するように誘導する必要がある。当該研究ではこのうちの後者を選択する考えである。

一方、今日の外科手術では麻酔や患者管理の進歩によって高齢者にも全身状態の悪い患者にも大胆な治療が可能となり、すべての医療材料や人工臓器はそれに応じた改良が要求されている。人工血管における改良目標は血栓を内面に付着させないこと及び内面に内皮細胞をいち早く被覆させることである。このため培養内皮細胞を用いたハイブリット型人工血管も真剣に研究されてきた。しかし我々は緊急時において使用できないことから当該研究には採用しなかった。また近年高分子化学の進歩で種々の素材が分子設計され、細胞親和性を高めるために薬剤を徐放出する技術も進歩してきた。しかし人工血管は永久的に植え込まれる必要があることから薬剤の永久的な徐放出は望めない。そこで当該研究では新規材料を用いずに、1958年から安全に使用され続けているポリエステル繊維の実績を活用する考えである。

3、市販の人工血管

今日の人工血管の持つ不都合は使用するポリエステル繊維が患者自身の細胞に悪影響を及ぼさないと同時に細胞に好影響をも与えないことから、人工血管壁内に細胞は侵入し難く、よそよそしい不安定な状態のままであることに起因している。そのため天然の血管壁内面を被覆している内皮細胞が人工血管内面にも被覆するのが好ましいのに、手術後10年以上経過しても被覆しないことから、人工血管内面は血栓が常に付着している状態となって、患者の状態がひとたび悪化すると血栓性閉塞を起こす危険性が高いという欠点を今日の人工血管は抱えている。

また血栓の被覆したままの状態は細菌感染に極めて無防備で、血中に細菌が流れるような異常事態になると感染しやすく、ひとたび感染すると致命的な結果となる。さらに最近は細い動脈の手術が頻繁に行われるようになり、血栓が被覆したままの人工血管では閉塞しやすい。したがって従来型の人工血管は患者が良好な状態にあるときに太い動脈領域で治療に貢献しているものの、それ以外の条件では心配しつつ使用しているのが現実である。

4、最近の人工血管を取りまく諸研究との関連性

人工血管内面にいち早く内皮細胞を付着させ、被覆させようとする研究は1980年代に活発に行われた。そして、内皮細胞を培養しておき、人工血管に付着させる、いわゆるハイブリット型人工血管も

真剣に研究されてきた。しかし我々は緊急時において、これらの方式は活用が難しいことから当該研究には採用しない。

一方、近年高分子化学の進歩で人工臓器用の種々の素材が分子設計され、合成されている。またいろいろな薬剤が人工臓器材料から徐放出されることも可能となり、細胞親和性材料の利用に関する研究が本格化した。また細胞親和性を高めるために薬剤を徐放出する技術も進歩した。しかし人工血管は生体内に40年と50年も植え込まれる必要があることから、1950年代から安全に使用され続けているポリエステル繊維の実績を何者にも代え難いと考え、できることなら素材は変更したくないと考えている。

5、極細繊維が使用されるようになった経緯

この様な時に我々は東レが開発した極細ポリエステル繊維を人工血管に応用する機会を得た。そして動物に人工血管として植え込んだところ、細胞が積極的に繊維に付着し、人工血管内部に細胞が侵入し、内面は内皮細胞に被覆されるという現象を期せずして得た。そこでこの現象を理論的に説明するため種々の検討をした結果、細胞が極めて細い繊維や物の角などにそって寄り添うように付着する自然現象「形態追従効果、Contact guidance」によるものであることが判明した。次にこの現象を追試した結果、細胞が断面直径で3ミクロン以下の繊維であれば付着し始めることを明らかにした。この研究をしていた頃、旭化成の梅香家らは白血球を選択的に取り除くフィルターの開発をしていて、やはり3ミクロン以下のポリエステル繊維で作成した血液フィルターに白血球が積極的に付着することから白血球フィルターを開発した。これは我々が認めた細胞の持つ「形態追従効果、Contact guidance」が白血球でも発揮されたものと我々は理解している。

このようなことから、我々は素材をポリエステルから変更することなく、ただ単にそれを極めて細くする事で細胞が積極的に繊維に付着するという、細胞の本能的な性質を利用する極めて生理的かつ確実な細胞誘導能をポリエステル繊維に持たせる技術を得ることとなった。この技術はさらに東レ株式会社の研究員と共に人工血管に応用するためのいくつかの特許申請の後にトレグラフトとして臨床に使用される人工血管の誕生の基礎となった。しかしながらトレグラフトは発売直後にDuPont社が生体内への植え込み用人工臓器の素材となるダクロンとテフロンを出荷しないと決定したことから、東レ株式会社もトレグラフト人工血管の製造販売を中止した。

6、トレグラフト人工血管の製造販売中止後の動き

その後厚生省や学会を通じて東レ株式会社への人工血管の製造販売の再開を求めたが東レ株式会社の意志は固く、この度これに関する特許すべてを野一色泰晴医師と共願とし、その維持は東レ株式会社が行き、その他東レ株式会社の所有する特許で人工血管に使用するのはすべて野一色泰晴医師が使用できるという取り決めが行われた。この様な経緯の後に野一色泰晴医師とトノクラ医科工業とは独自に極細繊維を人工血管に絡める技術を開発し、特許出願をおこなった。この度の超極細ポリエステル繊維を用いた治癒力賦活化型人工血管の製作にはこの特許技術を使う予定である。

7、当該試験研究との関係

以上の経過から、トレグラフトの設計及び従来型の人工血管の実績から、当該試験研究でのポリエステル製人工血管は基本的には長期にわたる信頼性、安全性があると理解している。トレグラフト設計の問題点は、ポリエステル繊維の生体内での劣化であった。カナダの Dr. M. King は「19年間植え込まれていたダクロン製人工血管の繊維を解析したところ繊維は劣化し始めていたが、それは10%以下であった。」と報告した。そこでポリエステル繊維が繊維周囲から劣化するとすれば極めて細い繊維では容易に劣化する可能性があると考えられたことから、トレグラフトの設計では通常の太さの繊維と極細ポリエステル繊維を同時に人工血管内に組み込むことを試みた。しかしその後、極細ポリエステル繊維を5年間動物の体内に入れて解析したところ、全く劣化していないことが判明した。従って現在の知識ではたとえ極細ポリエステル繊維を人工血管に使用しても強度的には劣化しないと考えられている。

当該試験研究ではこの度出願した新しい特許の技術を用いて極細繊維を交絡させる方針である。そのためまず現在市販され、安全に使用されている人工血管と同等の構造を通常の太さのポリエステル繊維で作成し、次に極細繊維を交絡させることにより力学的な強度問題を解決する考えである。

8、当該研究での留意点

このような人工血管を作成するにあたり我々は以下の点に留意して設計を進める。

基材の人工血管の基本的構造

――いかなる構造が最良かを設定する

人工血管では輪状方向に張力がかかるため、輪状方向には丈夫な繊維を配置する。特に、生体内で極細繊維が劣化することが無いとも限らないことから、(これまでの基礎試験では、5年間の *in vivo* での試験で劣化が生じない事が明らかにされているが)トレグラフトの構造としては平織りの単純構造で、輪状方向の横糸には極細繊維は使用しない方針である。当該人工血管ではまず現在臨床で使用されている人工血管と同等の構造を持つ人工血管を通常の太さのポリエステル繊維で作成し、それに極細繊維を絡ませる方針を採用する。これにより極細繊維の生体内での劣化に関係なく人工血管の強度上の問題は解消する。

通常の太さの繊維に対する極細繊維の交絡度合いの適正化

――最良条件の解明、高水圧による絡まりの各種条件の設定

以前に野一色泰晴医師と東レが共同で極細繊維を用いたトレグラフトを作成した時は極細繊維を予め人工血管内に組織的に組み込み、さらに起毛したのちに高水圧をかけて絡ませていた。しかし我々は基材と極細繊維とを別々に用意して、これを高水圧により一体化する方法を開発した。この時の両繊維の交絡程度および通常ポリエステル繊維と極細ポリエステル繊維との混合比率は高水圧

の圧力と作用時間、圧変化、水量と角度、回数等で決まる事から、適正な交絡度合いおよび比率を設定する事が可能となる。

製造コストの適正化

――製造工程の合理化

上記の方法では、経済的な製造コストにはならず、商業化には新たな方法が必とされるため、新しい製造工程を考案・思考する。

ポリエステル繊維に対する異物反応発生機序解明

――製造工程での汚れの解消

本来、ポリエステル繊維には異物反応は生じないとされているが現実には輸入人工血管のほとんどすべてに年単位の長期にわたる異物反応が見られる。これは製造工程でのポリエステル繊維の汚れであろうと我々は考えている。これを考慮して予防策を立てる。この異物反応は高齢者に非常に不利な状況を生じさせていることが判明してきており、この対策には我々は力を入れる。

II. コラーゲン被覆人工血管

1、コラーゲン被覆人工血管の必要性

今日ではヘパリンを多量に用いた抗凝固療法併用の心臓血管手術を行うことが多いが、その様な時にも漏血を完全に防いだ人工血管として、コラーゲン被覆人工血管が使用されている。しかしコラーゲンを架橋化するために用いられるグルタルアルデヒドやフォルムアルデヒドなどの細胞毒性のため副作用や合併症の発生がみられる。過去5年間の日本人工臓器学会や日本心臓血管外科学会、日本血管外科学会などでの研究発表を見ると輸入したコラーゲンやゼラチン被覆した輸入人工血管の植え込みによる副作用、合併症が報告されている。（参考資料添付）

2、コラーゲンと細胞との関係

元来コラーゲンは細胞に良好な足場を提供するとされ、細胞培養などでも多用されているので、この様に人工血管に関して、細胞の侵入に良好な足場をなぜ提供しないのかを検討した結果、我々はその原因がコラーゲンやゼラチンを架橋化するために用いるグルタルアルデヒドやフォルムアルデヒドの細胞毒性ほかに人工血管製造工程でのコラーゲンの汚染も関与していることを確認した。この問題を解消するため、我々は株式会社高研から汚れのないコラーゲンを入手し、我々の開発したコラーゲンを130～140度の加熱処理をする事によりグルタルアルデヒドやフォルムアルデヒドに代わる架橋化方法を採用して人工血管を試作したところ異物反応もなく、良好な細胞の人工血管壁内への侵入を観察することができた。

3、当該コラーゲン被覆人工血管のもう一つの利点

またさらにこの様にして作成した人工血管の治癒過程を詳細に観察した結果、我々は予期していない現象を発見した。それは従来コラーゲンが細胞侵入に良好な足場を提供するために細胞侵入が良くなると考えられていたが、我々の研究では汚染のないコラーゲンを用いると手術時に傷害を受けた人工血管周辺の多くの細胞が一時的に大量に産生するサイトカインを自然に吸脱着、その後徐々にそれを放出する事により、組織治癒に最も活躍する繊維芽細胞と毛細血管がこのサイトカインで強く呼び込まれる作用が働いている事が判明した。従来のコラーゲン被覆のない人工血管ではちょうど禿げ山のように、一度に雨水を流してしまっただけに役に立たないように、きれいなコラーゲンではコラーゲンがサイトカインを吸脱着出来る細胞外マトリックスとして働き、細胞の遊走、増殖、分化等を促進させることを明らかにした。そしてこの効果を利用すると人工血管の新生内膜形成に貢献する線維芽細胞、平滑筋細胞、毛細血管等を強く誘導する線維芽細胞増殖因子(bFGF)や血管内皮細胞増殖因子(VEGF)を積極的に、すなわちアフィニティークロマト的にコラーゲンに吸脱着させることが可能となった。

当該試験研究では前述した極細ポリエステル繊維を絡めた人工血管に更に汚染のないコラーゲンを組み込むことにより、コラーゲンおよび極細ポリエステル繊維の両方の細胞誘導能の相乗効果で細胞を人工血管壁内に呼び込み、内面には内皮細胞が侵出して完全に被覆することを期待している。

4、当該人工血管を作成するための留意点

基材の人工血管構造の設定

――いかなる構造がコラーゲンを被覆するのに最良か

通常のとさのポリエステル繊維のみで作成した人工血管ではその内面での新生内膜形成は著しく悪いことが判明している。極細ポリエステル繊維を組み込むことにより極細繊維が独特の細胞親和性を発揮するため、極細ポリエステル繊維を使わない一般の人工血管に比べると内膜治癒は有利であろう。しかし極細ポリエステル繊維製人工血管に単純にコラーゲンを被覆すればそれでよいかどうかはまだ分からない。極細ポリエステル繊維が緻密過ぎるとコラーゲンは絡まりにくくなると同時に、細胞も侵入しにくくなることが予測されるため、ある程度の緩い緻密さに極細ポリエステル繊維を絡め、その繊維間隙をコラーゲンで目詰まりさせるほうが植え込み後にコラーゲンが吸収されるて、患者自身の細胞が通過できる繊維間隙が得られるため、予期した内膜治癒が得られると思われる。このための適正な基材の人工血管構造の設定が必要であり、われわれは細胞挙動を指針としてこれらを決定していく予定である。

通常のとさの繊維に対する極細繊維の交絡度合いの適正化

――コラーゲン被覆を前提としての最良条件の解明

コラーゲンが絡まったときにはどの様になるのかを前もって想定した極細繊維の絡まりを決

定する必要がある。コラーゲンにも極細繊維にも患者の細胞を誘導する能力がある。この両者の交絡度合いと混合比率の変化で極細繊維とコラーゲンの細胞誘導能における相加効果を得るか、相乗効果を得るか、その条件設定を決める考えである。

コラーゲンに対する異物反応発生機序解明

――コラーゲンの架橋化方法の改良

化学薬品を用いずに、物理的方法を採用する

市販のコラーゲン被覆人工血管では強度の異物反応が生じている。我々はその原因として、人工血管用のポリエステル繊維の汚れ、コラーゲンの汚れ、製造工程における予期せぬ汚れ、コラーゲンの架橋化に用いる化学物質に対する毒性、などを考えている。コラーゲンではひとたび汚れが付着すると、コラーゲンがあたかも吸着材のようになって、その物質を吸着して離さなくなる。そのため後でいくら洗浄しても落ちない。そこで、すべての工程中は汚染があってはならない。また細菌感染を極力防ぎ細菌の繁殖を抑制するようにしなければならない。人工血管は最終的には滅菌するのではあるが、細菌感染があると細菌は短時間のうちに2倍2倍と増殖するため容易に億単位の細菌数となる。これを消毒時に死滅させると細菌の壁から猛毒であるエンドトキシンが出る。これが非常に強力な異物反応を惹起させる。われわれはこのことが輸入品で生じていることを突き止めた。そこで、このような知識を持って製造工程を管理する予定である。

コラーゲンの吸収性の解明

――コラーゲンの吸収と宿主細胞の関連性解明

コラーゲンの架橋化には我々は前述したとおり、化学薬品を使用せずに、物理的な方法を採用する。これによって異物反応を回避でき、コラーゲンと患者自身の細胞との素直な対応が見られる。さらにコラーゲンにサイトカインが自然に吸着され、その後自然に徐放出されて、それにしたがって患者自身の細胞がコラーゲン線維網内に侵入し、そこで分裂増殖し、そして細胞から出されるコラーゲナーゼによってコラーゲンが吸収され、その産物を貪食するためにマクロファージが侵入して新たなサイトカインを産生して細胞の侵入を促し、その細胞によって新たなコラーゲン網が形成されて、患者自身の組織となる。この過程がいかに自然に移行するかを観察し、製品が目的とした生体機能賦活化型であるか否かを検討する。このテストには前述した動物実験と細胞培養を用いた実験とコラーゲナーゼを用いた試験管内実験とを採用する。

完成品の動物植え込み実験および臨床治験

――あらゆる現象を詳細に観察するために少なくとも6カ月以上の観察が必要である。

コラーゲンの吸収と細胞侵入との関連は動物実験での最大の関心事である。さらに異物反応の

最終確認のためには動物実験は必修である。臨床試験に関してはすべての評価が満足できる結果として明らかになった時点で行えるものである。これに関してはかなり慎重に行う必要があるが、我々はこれまでに培ってきた人脈を活用して、輸入品での副作用を経験した、信頼のおける医師に委託するつもりである。

FABRIC VASCULAR GRAFTS MADE OF ULTRAFINE FIBERS

Yasuharu Noishiki, M.D., Ph.D.

1. Toray Graft History

Background

In 1952, A.B. Voorhees reported for the first time that a porous tube made of a synthetic fabric material could be applied as a blood vessel substitute. The tube became the model for the fabric vascular grafts used at the present time. Before that, waterproof polyethylene or polyvinyl chloride, or human and animal natural blood vessels had been used as blood vessel substitutes. Voorhees showed in his animal experiments that a tube made of synthetic polymer fabric could be used as a vascular graft even though it was not waterproof. Later, Edwards and Tapp reported that a fabric vascular graft having a crimped structure was easy to handle for implantation because of its flexibility which prevented the kinking.

In 1957, the Committee of American Society of Vascular Surgery of which O. Creech was the Chairman reported that, the synthetic polymer materials which many chemical companies including DuPont were actively developing at that time, Dacron and Teflon had less deterioration in the living body, and were superior as materials for vascular grafts because they showed less foreign body reaction, cytotoxicity and carcinogenesis in the human body. Accordingly, the committee recommended them as raw materials for vascular prostheses. As a result, production of Dacron and Teflon vascular grafts began. Dacron, which was superior in handling as a fiber, was finally used for fabric vascular prostheses. Teflon was not frequently used for fabric grafts, but later it was used for expanded PTFE grafts. A Dacron vascular graft was used clinically in 1958 for the first time by Dr. M.E. DeBakey. He successfully used a Dacron fabric prosthesis for replacement of an aortic aneurysm.

In 1962, S.A. Wesolowski showed in animal experiments that in tightly-knitted vascular grafts (less porous fabric vascular grafts) from which blood did not leak, there was difficulty in forming neointima to cover the luminal surface of the vascular grafts after implantation, but that in loosely-knitted vascular grafts (highly porous vascular grafts) from which the blood could leak, neointima was formed more quickly and was maintained without degeneration such as calcification or necrosis due to metabolic problems. So he recommended the use of highly porous vascular grafts. In order to prevent blood leakage, a preclotting technique was developed, i.e, fresh blood was poured on highly porous fabric grafts, so that fresh thrombi were

formed on the outer and inner surfaces of the prosthesis and also occupied the interstices of the Dacron fibers. L.R. Sauvage and his colleagues reported their own method of preclotting for highly porous vascular grafts. After these successes, highly porous vascular grafts were generally used in clinics.

However, bleeding problems occurred with highly porous fabric vascular prostheses after implantation. Thrombi formed on the vascular prosthesis surface and in the interstices of the textile fibers were dissolved by fibrinolysis. Unexpected bleeding occurred in some cases after implantation of the highly porous fabric prostheses. Especially in case of the thoracic aortic surgery, the bleeding was sometimes uncontrollable. Moreover, systemic heparinization was recognized as a useful supporting method for prevention of unexpected thrombus formation during cardiac and vascular surgery, and heparin was frequently used during vascular prosthesis implantation. So even though preclotting was used, it became evident that the danger of bleeding from highly porous fabric prostheses could be avoided. Accordingly, since the safety of the patient at the time of the implantation is more important than healing of the neointima in aortic surgery. Fabric vascular grafts of low porosity were recommended for the replacement of large arteries, especially for thoracic aortic surgery.

In 1972, K. Burger reported that fabric vascular prostheses implanted in humans did not heal. Even though the prostheses maintained their patency, the luminal surfaces were not healed and neointima did not form after a long time implantation. Thus, if neointima healing cannot be expected, it is better that there be no danger of bleeding and the surgical procedure be safe, and vascular grafts of low porosity were favored particularly for surgery of the thoracic aorta.

However, there was still strong need for neointima healing, and since low porosity vascular grafts were usually tightly knitted like tent cloth, it was difficult to handle. Accordingly, the need for softer vascular grafts was stressed by many surgeons. In order to meet those demands, development of moderate porous vascular grafts temporarily sealed with biologically absorbable materials such as collagen, gelatin, etc., was begun. With these sealed grafts, there were no bleeding problems after implantation without preclotting, and they were soft and easy to handle during implantation. However, in the beginning around 1965, many problems had to be solved, such as how to immobilize and insolubilize the coated collagen on the prosthesis surface, how to sterilize the coated grafts, how to maintain flexibility and humidity of the collagen and gelatin, how to preserve the products after the manufacture, how to maintain a clean environment during the process of the coating, etc. Therefore, the development of the vascular graft coated with biologically absorptive materials was temporarily

suspended until the middle of 1980.

However, Meadox Co. Ltd. began again to develop collagen-coated vascular grafts with the cooperation of M. Chvapil, who was a vascular surgeon and biomedical chemist and worked for the University of Arizona, and developed a coated product named "Hemashield" which could be clinically used after 10 years of testing.

Teflon was also recommended as raw material for blood vessel prostheses by the Creech Committee, but Teflon fabric vascular grafts were slippery due to the low friction ratio in the fiber state. The grafts made of Teflon fibers easily lost their original shape, and therefore were not used very much. But Teflon again appeared in a new shape in the vascular graft field. These were the e-PTFE grafts. Testing of e-PTFE vascular grafts started in 1972 and drew much attention because they could be used for veins and small arteries field of about 4 - 8 mm in internal diameter.

In e-PTFE vascular grafts, even though preclotting was not done at the time of implantation, bleeding from the vessel wall did not occur. Because of its non-adhesiveness, which is a characteristic of Teflon, thrombi did not easily adhere to the e-PTFE surface. Expansion of the PTFE caused numerous cracks, resulting in flexibility, elasticity, and high porosity, so that there was superiority in bending and handling the product at implantation. Therefore, the use of the products in large veins and small diameter arteries with an inner lumen of 4 - 8mm has been increasing worldwide.

Problems of Clinically- Used Vascular Grafts

Vascular grafts which were clinically used for the thoracic aorta around 1985 were tightly-knitted low porosity ones so that bleeding did not occur at the time of implantation. As mentioned above, these were stiff and were unsatisfactory in terms of handling. It is difficult to suture stiff low porosity vascular grafts, particularly to arteriosclerotic blood vessel walls or weak and thin blood vessel walls that are about to rupture. There were many cases that required special techniques for implantation. The operation is getting more difficult, resulting in longer operation times and bent needles. At this time, collagen coated vascular grafts had already begun to be developed, but had not yet been perfected. Also remarkable foreign body reactions appeared when collagen and gelatin coated vascular grafts were used and there were few vascular grafts which could be said to be ideal and safe.

Furthermore, most of these vascular grafts had a plain woven structure, so that they frayed easily at the cut edge. Vascular grafts are cut on a slant and a slightly curved and sharply cut edge is formed depending on the

operation. When such special cutting methods are used the cut edge becomes frayed in grafts with a plain woven structure. As a result, the sutured threads can come loose from the cut edge of the graft, which is dangerous. To preventing this, it is necessary to insert the sutures far from the cut edge. This causes a lump in the vascular graft at the anastomotic part, resulting in slight stenosis. Therefore, a vascular graft which can be easily sutured, is soft, does not fray, and does not bleed even without preclotting is required.

Development of the Toray Graft (Ultrafine Polyester Fiber Vascular Graft)

(1) To solve the problems

Y. Noishiki undertook the development of new vascular grafts together with Mori Y. Their purpose was to solve the problems concerning vascular grafts for the thoracic and abdominal aortae. Namely, they wanted a graft that would not bleed even though it was not coated with tissue absorptive materials such as collagen, etc., did not need preclotting procedures, was soft, and did not fray no matter how it was cut. e-PTFE produced favorable results in relatively small vascular grafts with an internal diameter of about 6mm, and so vascular grafts in this range were not targeted.

(2) Deterioration of Ultrafine Fiber

To accomplish those purposes, we obtained the ultrafine polyester fibers which Toray produces. We obtained cloth fabricated from ultrafine polyester fibers, and sutured it into the form of a tube. The advantage in using ultrafine fibers is that even though the weave is tight, the cloth does not become stiff. So it seemed that one problem could be solved. However, when a graft is manufactured only from ultrafine fiber, there could be a problem if deterioration of the fiber progressed year by year. In other words, the fiber would corrode from the outer surface, so that it would suddenly weaken at a certain period of time after implantation, resulting in the possibility of a rupture. Accordingly, the quantity of ultrafine fibers was limited such that the form of the vascular graft could maintained even when all the ultrafine fibers deteriorated; normal sized fibers were used to fill out the weave. That is, the idea of a hybrid polyester fabric of normal and ultrafine fibers was established.

However, we thought that for vascular prostheses, highly crystallized polyester fibers should be adopted in order to prevent deterioration during implantation. Therefore, we evaluated our ultrafine polyester fibers.

The ultrafine polyester fibers for our vascular prosthesis were implanted into the subcutaneous layers of

experimental dogs for three years. We found that the deterioration of our ultrafine polyester fibers was negligible during the observation period. There was no change in molecular weight of the polyester polymer in the ultrafine polyester fibers when compared with unimplanted controls. From this in vivo experiment, we concluded that highly crystallized ultrafine polyester fibers were safe as far as deterioration was concerned.

Just at that time, M. King, a polymer chemist in Quebec, Canada, reported that the deterioration of Dacron fibers of a vascular graft which had been implanted in a human body for 19 years was less than 10%. The Dacron fibers were polyester fibers made by DuPont Co. Ltd., and their crystallization was not changed by their use as a vascular graft. It was the same Dacron as is clothes. The deterioration of these fibers was extraordinarily small, and the ultrafine polyester fibers which we used also had such small deterioration that it could not be measured even after three years. Accordingly, it was concluded that a vascular graft fabricated from ultrafine fibers only would be safe from rupture.

(3) Countermeasures against fraying of the cut edges

Regarding the countermeasures against the fraying problem, which was the next target, it was proved from a sample vascular graft which we manufactured, that fraying could be effectively prevented by making the ultrafine fibers entangled with each other. Any fibers, including polyester can get entangled, but since the ultrafine polyester is extraordinarily soft, it is especially easy to entangle the fibers. We used a water jet method, i.e., high pressure water is jetted from fine nozzles so that the ultrafine fibers become completely entangled. To accelerate the entanglement automatic fluffing of the ultrafine fibers inside the wall of the vascular graft was done in advance. We used this method for making a complicated structure of ultrafine polyester fibers inside the graft wall. Details such as the size of the nozzles, water volume, water pressure, speed of the nozzle movement, repetition of the procedure, and other appropriate conditions were determined by trial and error. A method of weaving which facilitated fluffing was also adopted. These measures were successful in preventing fraying.

(4) Countermeasures against bleeding problems

The next problem was preventing bleeding without the use of preclotting or collagen and gelatin coating. Even if serious fibrinolysis occurs, the bleeding need to be controlled by the prosthesis.

The problem was successfully solved by using the ultrafine polyester fibers. The water jet procedure

effectively produced tight matting of the ultrafine fibers. The porosity of the prostheses, i.e., water permeability, was then measured. Water at a pressure of 120mmHg was forced through the graft cloth and the volume passed per cm² per minute was measured. It was 1500ml to 4000 ml per minute for high porosity grafts, 500ml to 1500ml for medium porosity grafts, and less than 300ml for low porosity grafts. Less than 100ml is desirable for the grafts when heparin is used systemically. The water permeability of the ultrafine polyester vascular grafts was about 90ml. As a result of those efforts, vascular grafts having less bleeding could be manufactured.

(5) Low porosity vascular graft

However, when our low porosity grafts were actually implanted inside the human body, it was found that the blood leakage was even less than anticipated. This is because innumerable ultrafine fibers were twisted and entangled in the graft wall, so the overall surface area of the polyester fiber is extraordinarily large, and when this large area touches fresh blood, blood platelets adhere easily to the surface of the fibers. Furthermore, since a fibrin net easily becomes entangled, small thrombi occur everywhere in the blood vessel walls, producing favorable hemostatic. Thus, even though the water leak is 100ml, blood leak does not occur at all. Therefore, even when the vascular graft is used in an operation where heparin is used, bleeding does not occur and a very safe vascular graft can be implanted.

(6) Discovery of cellular affinity of ultrafine fiber

While the vascular grafts were being implanted in animals during development, an interesting phenomenon became evident at the cellular level. That is, neointima healing inside the vascular graft was more favorable than expected. Initially, it was unclear why this phenomenon occurred. However, it was found that host cells such as fibroblasts, which play the most important role in healing of a wound, adhered along each ultrafine fiber. Also, such cells easily gather at the site where the ultrafine fibers exist, and migration of the cells was accelerated at the sites where there were ultrafine polyester fibers. Cell migration to the areas without ultrafine fibers was always delayed.

Why does this phenomenon occur? Because cells characteristically adhere along a very thin fiber, sharp edges, etc. For example, when cells are cultivated in a petri dish, if there is a crack at the bottom of the dish, the cells form a line along the edge of this crack at first. This phenomenon is called "contact guidance", which

is the instinctive nature of many kinds of cells.

When we were developing the vascular grafts, there was a hypothesis that blood platelets might acknowledge the size of minute microspheres. In other words, microspheres of about 1 micron are not taken up by blood platelets, but microspheres of less than 0.5 micron are. Also, there was a study which examined whether or not white blood cells acknowledge the thickness of fibers. It was found that blood cells could be selectively removed from the blood if the blood was passed through a filter whose fibers were less than 3 microns. Accordingly, we tested various sizes of ultrafine polyester fibers to see whether or not contact guidance could be observed. We finally found that cells adhered to fibers of less than 3 microns in diameter. As a result, it was decided to use fibers of less than 3 microns in all vascular grafts to be manufactured. For reference, the weight of the polyester fiber used for normal vascular grafts is from 1.2 to 2.0 deniers, and the cross section diameter of the fiber is 16 to 20 microns. In contrast, the ultrafine fibers for vascular prostheses are less than 3 microns in thickness and less than 0.5 denier in weight.

(7) Introduction of Endothelial Cells into Vascular Graft Walls

When this kind of vascular graft is used, the host cells migrate into the vascular graft walls along the thin fibers at early stage after implantation, actually in one to two weeks after implantation. After migration of these host cells such as fibroblasts, numerous capillary blood vessels follow for their nutrition supply. It is assumed that at first, many blood vessel growth factors are produced by the cells which migrate, but later, innumerable cells and capillary vessels infiltrate the vascular graft walls, so that a new blood vessel network starts to formed. Capillary blood vessels are made up of numerous endothelial cells. They make a tube and infiltrate into a new tissue. Therefore, infiltration of capillary vessels into the vascular graft walls causes introduction of innumerable endothelial cells into the vascular graft walls. Therefore, the graft wall can create a neointima covered with endothelial cells quickly.

M. B. Herring and his colleagues reported in 1979 that seeding of endothelial cells into the vascular graft walls accelerated neointima formation. After the report, there was many endothelial cell seeding experiments in the 1980s, but it was finally found that there were problems with the stability of these cells. Most of the endothelial cells seeded on vascular prostheses did not survive after implantation. They were washed away by bloodstream. But in the graft which we made, endothelial cells are introduced naturally into the vascular graft walls without artificial seeding. As a result, contrary to our expectations, good neointima could be formed

after implantation of the grafts.

(8) Birth of Toray Graft

As development progressed, Toray applied for patents for the various technologies developed by Y. Noishiki and Toray engineers including Dr. Y. Mori, and the patents have also been obtained in the U.S. Vascular grafts for clinical use started to be manufactured with this technology and Toray called them "Toray Grafts".

Since the results of the animal experiments were very favorable, they were reported at the Annual Meetings of the American Society for Artificial Internal Organs. They were also reported in Japan and drew the attention of many researchers and clinical doctors. U.S. evaluation was made by Dr. M. E. DeBakey at Baylor College of Medicine and he was very satisfied with the results. With these results, Toray Co., Ltd. obtained the U.S. FDA approval (\$10K). Then the company applied to MHW for the manufacturing approval in Japan and obtained it without problem.

Clinical use started at University Hospitals with which Noishiki was associated as a part-time lecturer at that time: Kyoto Prefectural University of Medicine, Tokyo Women's Medical College, and Yokohama City University School of Medicine. As a result, Toray grafts were used for more than 400 clinical cases. There have been no clinical problems in the results in terms of the clinical use for about 10 years, although the vascular graft field is generally prone to problems. This is proof that the product is safe and easy to handle.

2. Why Toray decided to halt sales because of DuPont's announcement

DuPont made the following announcement on January 15, 1993.

As of January 15, 1993, DuPont will begin to phase out sales of materials to customers using our materials in medical articles intended for permanent implantation in the human body or in permanent contact with internal body fluids or tissues. The firm intends to complete the phase-out as soon as possible, but not later than January 31, 1994.

This announcement was made in light of the fact that Dow Corning was subjected to many lawsuits due to problems with tissue-implantable silicone for breast implants, and lost many of them. If there is a problem with medical materials, there is a possibility of a lawsuit even against a manufacturer of the raw materials. If a large company supplies some particular raw materials, a suit may be filed against it in the hopes of financial

gain. Accordingly, DuPont was against implanting Teflon or Dacron in the body for more than 30 days, or using them as medical devices which would have contact with body fluids.

With this announcement, materials manufacturers all over the world followed DuPont's policy. Therefore, Toray Co. Ltd., immediately halted the manufacture and sales of the vascular grafts. They had just started to manufacture Toray grafts at that time, and were about to sell them because they had obtained MHW approval. However, Toray Co., Ltd. suddenly canceled everything as orders from the president.

3. How Dr. Noishiki, one of the joint developers, received all patents related to the manufacture of vascular grafts from Toray.

The decision to halt the manufacture and sales of the vascular grafts by Toray severely upset Dr. Noishiki, one of the developers, and cardiovascular surgeons of Tokyo Women's Medical College, Kyoto Prefectural University of Medicine, and Yokohama City University, which had used Toray grafts. They could not imagine that a superior vascular graft like should be taken out of use. After the report of O. Creech, Chairman of the Committee of American Society for Vascular Surgery in 1957, more than one million Dacron vascular prostheses were safely implanted into the human body. There was no problem in implanting Dacron fibers inside the human body. Despite the fact that there has never occurred even one case of complications caused by Dacron fibers, their use is prohibited. Suspension of the delivery of Dacron fibers created a big stir regarding other implantable artificial organs as well.

Therefore, Profs. H. Koyanagi, Y. Imai, and M. Hashimoto of Tokyo Women's Medical College, Prof. A. Matsumoto of Yokohama City University, and Prof. T. Oka of Kyoto Prefectural University of Medicine petitioned Mr. Maeda, President of Toray Co., Ltd. To resume manufacture and sales. They also requested MHW to speak to Toray on their behalf. As a result, a responsible person in MHW repeatedly called the person in charge at Toray, and asked him to cooperate in providing safe and superior medical devices to the Japanese people.

This movement was well understood by any cardiac surgeon who had ever used Toray grafts. However, Toray refused all requests, commenting that it was company policy. However, the request was so strong that Toray proposed to supply of Toray grafts free of charge for one year to the three Universities. The professors accepted this proposal in order to use the products for the time being, and the products were supplied as promised. (It seems that they were actually supplied for nearly two years.)