

厚生労働省科学研究補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）

平成14年度
総括・分担研究報告書

ナノテクノロジーによる機能的・
構造的生体代替デバイスの開発
(H14-ナノ-002)

主任研究者：砂川 賢二
(国立循環器病センター研究所)

平成15（2003）年3月

目 次

I. 総括研究報告書	
ナノテクノロジーによる機能的・構造的生体代替デバイスの開発	1
国立循環器病センター研究所 循環動態機能部	
砂川 賢二	
II. 分担研究報告書	
バイオニック医学による心不全治療戦略の確立	15
国立循環器病センター研究所 循環動態機能部	
砂川 賢二	
バイオニック医学による重症起立性低血圧治療の実用化に向けた研究	30
国立循環器病センター研究所 循環動態機能部	
杉町 勝	
バイオニック超小型分散型ペースメーカーの基本仕様検討に関する研究	41
国立循環器病センター研究所 循環動態機能部	
高木 洋	
バイオニック医学による重症起立性低血圧治療開発に関する基礎研究	51
国立循環器病センター研究所 循環動態機能部	
川田 徹	
バイオニック動脈圧反射装置の臨床開発に関する研究	60
高知医科大学 第二生理学講座	
佐藤 隆幸	
バイオニックナノインプラント・ナノペーシングシステムのための 情報通信技術の研究開発	77
横浜国立大学大学院工学大学院 知的創造の創生部門	
河野 隆二	
体内無線通信に関する研究	92
株式会社 日立製作所中央研究所	
小久保 優	
On Surface テクノロジーの開発に関する研究	117
国立循環器病センター研究所 生体工学部	
中山 泰秀	
ナノ分子操作技術による血液界面代替デバイスの開発研究	138
国立循環器病センター研究所 人工臓器部	
妙中 義之	
薬物代謝機能発現環境の最適化	144
国立成育医療センター研究所 移植・外科研究	
絵野沢 伸	

機能性プロテオリポソームの開発	156
大阪大学大学院 基礎工学研究 久保井 亮一	
薬物代謝機能発現環境の最適化	166
大阪大学大学院 工学研究科 大政 建史	
薬物トランスポーター機能発現環境の最適化	175
自治医科大学 臨床薬理学 藤村 昭夫	
リポソーム微細構造の検討	180
独立行政法人 産業医学総合研究所 人間工学特性研究部 三枝 順三	
Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	187
Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷	194

ナノテクノロジーによる機能的・構造的生体代替デバイスの開発

主任研究者 砂川 賢二（国立循環器病センター研究所 部長）

研究要旨：

医学の進歩によってもなお治療が困難な疾患が数多く存在する。これまでの「原因追求型」の研究では治療の目的を達成できない難治性の疾患に対して生体の機能を代替する、または異常になってしまった生体機能を正常化するための人工の医療機器を用いる新しい治療法の実現が必要である。このいわば「機能再建型」の治療に関する研究は、高齢者の増加や疾患の重症化にともないますますその重要性を増すものと考えられる。

本研究では、①ナノテクノロジーを駆使した高機能 LSI、生体内通信、生体燃料電池による循環調節機能の植込み代替医療機器「神経制御システム」プラットフォームの開発および高機能ペースメーカー「超小型分散ペースティングシステム」の基盤技術開発、②多くの循環器系植込み機器の血液界面に必要な生体のもつ抗血液凝固性や種々の特性をナノ分子操作技術を用いて代替し実現する方法の開発、③生体細胞の必要な機能のみを抽出し脂質膜上で代替する非細胞性ナノ生化学系の開発を行うことを目的とする。

本年度の研究では下記の成果を達成した。

①バイオニック神経制御システムおよび超小型ペースティング素子の基本仕様と分散ペースティングシステムの構築方法を明らかにした。バイオニック心不全治療によって心室リモデリングの抑制、心機能低下の抑制、生存率の向上が認められた。また閾値下フィードバックペースティングによる低電力除細動の可能性を示した。

②ナノメーター制御が可能なナノ構造化表面を作成するための基盤プロセス技術として表面グラフト重合（On Surface テクノロジー）を開発した。To Surface テクノロジーのひとつとして新たな分子設計のヘパリン表面固定技術を施行することで、ガス交換性能、抗血栓性のいずれにおいても優れた人工肺の可能性を示した。

③非細胞系バイオ人工臓器の中心であるプロテオリポソームを調製し、タンパク配向性の一方向性が確認された。プロテオリポソームの大量調整系を開発し、薬物代謝面でもリポソーム化の基礎検討系が確立できた。

分担研究者

杉町 勝	国立循環器病センター研究所 循環動態機能部
高木 洋	国立循環器病センター研究所 循環動態機能部
川田 徹	国立循環器病センター研究所 循環動態機能部
佐藤 隆幸	高知医科大学 第二生理学

河野 隆二	横浜国立大学大学院工学大学院 知的構造の創生部門
小久保 優	㈱日立製作所中央研究所 情報 システム研究センタ通信システ ム研究部 699 研究ユニット
中山 泰秀	国立循環器病センター研究所 生体工学部
妙中 義之	国立循環器病センター研究所

人工臓器部

絵野沢 伸 国立成育医療センター研究所
移植・外科部門

久保井 亮 一大阪大学大学院基礎工学研究科
化学系専攻

大政 健史 大阪大学大学院工学研究科 応
用生物学専攻

藤村 昭夫 自治医科大学 臨床薬理学

三枝 順三 (独)産業医学総合研究所 人間
工学特性研究部

A.研究目的

医学の進歩によってもなお治療が困難な疾患が数多く存在する。これまでの医学の流れは疾患の原因を明らかにしてその原因を早期に排除することにより疾患を治療する「原因追求型」の研究が主流を占めてきた。しかしながら原因を特定してもその排除ができない場合や疾患が完成して後遺症が残ってしまう場合には原因追及をすすめても治療の目的を達成できないことがある。このような難治性の疾患に対して生体の機能を代替する、または異常になってしまった生体機能を正常化するための人工の医療機器を用いる新しい治療法の開発が必要である。このいわば「機能再建型」の治療に関する研究は、高齢者の増加や疾患の重症化にともないますますその重要性を増すものと考えられる。

本研究では、①ナノテクノロジーを駆使した高機能 LSI、生体内通信、生体燃料電池による循環調節機能の植込み代替医療機器「神経制御システム」プラットフォームの開発および高機能ペースメーカー「超小型分散ペーシングシステム」の基盤技術開発、②多くの循環器系植込み機器の血液界面に必要な生体のもつ抗血液凝固性や種々の特性をナノ分子操作技術を用いて代替し実現する方法の開発、③生体細胞の必要な機能のみを抽出し脂質膜上で代替する非細胞性ナノ生化学系の開発を行うことを目的とする。

A-1. バイオニックナノメディスンによる循環器調節機能デバイスの開発研究

重症心不全は高度な現代医療をもってしてもなお予後の不良な疾患である。近年の調査によれば、重症心不全の5年生存率はこの40年間にわずか10%しか改善していないことが報告されており、心不全患者の治療にはさらに画期的な治療法が必要である。

重症心不全の画期的な治療法として心臓移植や人工心臓植え込みが行われるようになってきたが、おのおの心臓ドナー数の不足や生体との協調性の問題を残している。

これら2つの先進治療法はいずれも悪化した心臓そのものを置換する発想の治療法である。しかしながら、心不全は心臓だけの病気ではなく、循環器系の調節系にも大きな変化がもたされていることが明らかになっている。この循環調節系の異常は心不全の病態の維持、重症化に関与していることも次第に明らかになっており、循環調節系に人工的に介入することで心不全の進行や重症化を阻止できるのではないかと考えられる。この全く新しい治療法（バイオニック治療戦略）を実現するために、本研究では、現在は体外のコンピュータで行っているバイオニック治療論理を体内の植込み治療装置で実現するためのシステム設計を行った。またバイオニック心不全治療のための治療論理の検討も行った。

一方、ペースメーカーは徐脈性不整脈患者の生活の質の向上に大きな役割を果たしてきたが、電極リードのないペースメーカーが実現できればさらに大幅な生活の質向上が期待できる。電源以外の電子回路を超小型化するのは比較的容易であるので、ペースメーカー本体全体を超小型化して経カテーテル的に心筋内に植え込む可能性は十分に考えられる。このような超小型ペースメーカーを実現するために必要な基盤技術「生体燃料電池の開発による電源の超小型化」および「複数の超小型ペースメーカーが同期して動作するための生体内通信」の開発を行う。

同時に本ペースメーカーが実現した場合の医学的な応用範囲についても検討する。

A-2. ナノ分子操作技術による血液界面代替デバイスの開発研究

循環器系組織は常に血液にさらされているため、それらの機能を代替するデバイスの長期維持は、血液凝固の回避能に大きく依存している。血液適合性はデバイスのナノメートルレベルでの極最表面層の物性と構造で決定される。我々は、本年度においてデバイスの表面設計研究に特化し、秩序だてて表面ナノ構造化させることにより、高度な生体適合性や機能性の獲得をめざす On Surface テクノロジー（表面上でのナノ構造操作）と予め精緻に構造設計されたナノ構造体をデバイス表面にカセット化する To Surface テクノロジー（表面へのナノ操作）の両方向からナノ分子アーキテクチャー技術の確立をめざしている。これらのテクノロジーを最大限に利用することにより、既存のマクロやマイクロ技術の組み合わせのみでは不可能であった以下に示す再生医療デバイスから低侵襲治療に関わる高機能治療デバイスが実現可能となり、広いスペクトルで萌芽的な高度先端医療の推進が加速されると考えられる。

A-3. ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発研究

血液濾過透析や血漿交換を組み合わせた血液浄化法は1980年代の中空糸カラムの出現により急速に発展し、現在も劇症肝炎をはじめ様々な疾患に対する治療法の基幹をなしている。しかしながら、ひとりの患者に対し大量の血漿が必要であることや亜急性劇症肝炎では昏睡からの一時的な覚醒効果はみられるものの最終的な救命率の向上は得られないなど問題点も多い。このような現行の血液浄化法の限界の背景には、中空糸カラムによる血中物質の除去が単に膜の孔径（30kd-0.5 μ m）にのみ依存し、生体にとって要不要の別なく排除してしまうという原因が考えられる。

工学的手法を補う目的で肝細胞あるいは腎細胞を利用したバイオ人工肝・人工腎の開発がなされているが、生細胞を用いる場合、医療機器としての品質管理や安全性確保が難しい。そこで細胞全体から、バイオ人工臓器の構成に必要な機能だけを選択・抽出し、ナノメートルスケールの人工膜上に生理機能を構築するという戦略が考えられる。細胞表面に存在し、細胞内外の物質輸送を行うチャンネルタンパク分子を人工膜に固定化するという新規な発想による血液浄化システムを開発する。こうして再構成された人工合成膜により生きた細胞のように統合した選択的・能動輸送を実現させることが目標である。

B. 研究方法

B-1. バイオニックナノメディスンによる循環器調節機能デバイスの開発研究

B-1-1. バイオニック神経制御システムの設計

バイオニック治療戦略では生体の機能を再現（または改変）するために、生体の調節機能を人工の機器で再現する必要がある。近年のデジタル処理の進歩により、デジタル処理で簡便で柔軟的な処理が可能になっているが、履歴、多入力、非線形、分布定数系システムなどの複雑性がある生体機能の模擬にはデジタル処理の利点が重要である。この考察をもとにバイオニック神経制御システムの基本仕様の検討を行った。

B-1-2. バイオニック心不全治療の治療論理検討

8週令のオス SD ラットを1%ハロセン麻酔下に開胸し、左冠状動脈の基部から2~3mmの部位をナイロン糸で結紮して急性心筋梗塞を作った。高率に心室細動を起こすため、可能な限り機械的に除細動した。1週間後、生き残った心筋梗塞ラットを2群に無作為に分け、一方の群は迷走神経刺激群、他方を非刺激群とした。再度ハロセン麻酔をかけ、血圧テレ

メトリ装置、無線で遠隔に操作できる電気刺激装置とこれに接続した右側迷走神経刺激用電極の植え込み手術を行った。2度目の手術からさらに回復させ1週間後まで生存したラット26匹のうち、刺激群にはバイオニック心不全治療を6週間続けた。1分間に10秒だけの間欠刺激で平均心拍数を10~20%低下させるようにバイオニック心不全治療を行った。結果的に刺激条件は刺激電流0.1~0.13mA、刺激パルス幅0.2ms、刺激頻度20Hzであった。

同様のラット52匹で迷走神経の電気刺激を6週間行い、その後も140日(20週)まで観察を続け、生存率を計算した。

B-1-3.超小型分散ペースティングシステムの設計

徐脈性不整脈の治療以外に超小型分散ペースティングシステムが心室同期性向上による収縮性向上、心室興奮のばらつき減少による催不整脈性の低減、分散配置した素子を用いた低電力除細動に応用可能か検討した。超小型ペースティング素子の基本仕様と分散ペースティングシステムの構築に関する検討を行った。

B-2.ナノ分子操作技術による血液界面代替デバイスの開発研究

B-2-1.On Surface テクノロジーの開発に関する研究

光反応性高分子フィルムに対し表面光グラフト重合を行なった。窒素置換したビニルモノマーのメタノールあるいは水溶液内で光反応性高分子フィルム表面に窒素を吹き込みながら紫外光を照射した。光源には250W超高压水銀灯と石英製光誘導ファイバーを用いた(照射強度5mW/cm²)。表面ブロック・グラフト共重合は表面グラフト重合した光反応性フィルムを別のモノマー溶液中で紫外光照射することにより行った。紫外光照射中、照射領域を連続的に拡大させグラフト重合膜厚傾斜表面を作成した。

グラフト重合の進行は水晶振動子を用いて観察した。表面グラフト重合フィルムの表面形

状はコンタクトモード原子間力顕微鏡で観察した。水濡れ性は表面水接触角測定により、表面化学組成はX線光電子スペクトル測定により分析した。細胞接着性は牛血管内皮細胞で評価した。

B-2-2.To Surface テクノロジーの開発に関する研究

血液凝固で活性化されるトロンビンの阻害物質アンチトロンビンⅢにより不活化される。ヘパリンはアンチトロンビンⅢと複合体を形成することでトロンビンとアンチトロンビンⅢとの結合を触媒的に促進させ抗凝血剤として働く。ヘパリンのアンチトロンビンⅢ特異的結合部位に如何に自由度を与えてやるかがヘパリン固定化技術のキーポイントになる。従来の共有結合固定化ではヘパリンの自由度が制限され十分な抗血栓性を確保することができない。イオン結合方式では早期にヘパリンが溶出した。本研究ではアンモニウム塩のアルキル基の炭素鎖長を制御することによって低疎水性と高疎水性のアンモニウム塩を組み合わせることでヘパリンを結合させることで長期間にわたり極めて高い活性を維持可能な新しいヘパリン固定化技術を開発した。本年度は人工肺の抗血栓性とガス交換性能について検討した。

B-3. ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発研究

B-3-1. プロテオリポソームの調製と誘電分散解析による評価

リン脂質のクロロホルム溶液から溶媒を除去すると脂質薄膜が得られる。これを水和し振とうさせ多重層リポソームを得る。脂質の相転移温度以下(-80℃)で急速冷却しゲル状態で凍結したものを、相転移温度以上(37℃)で解凍した。冷却により崩壊した脂質膜どうしが融合してより大きなリポソームを得た(凍結融解法、5サイクル)。50-200nmの細孔フィルターでMLVs溶液を押し出して均一粒径のリポソーム溶液を得た(extrusion法)。さらに

界面活性剤で可溶化した Na⁺/K⁺-ATPase 溶液とリポソーム溶液を混合し、ゲルろ過でプロテオリポソームの画分を回収した。

誘電分散解析はリポソームを溶液の周波数ごとの比誘電率をインピーダンスアナライザーで測定した。1MHz から 100MHz の範囲のものについて以下に示す Debye の式

$$\epsilon' - \epsilon_b = \frac{\Delta\epsilon_1}{1 + (f/f_{c1})^2} + \frac{\Delta\epsilon_2}{1 + (f/f_{c2})^2} \dots (1)$$

にあてはめて緩和幅 $\Delta\epsilon_1$, $\Delta\epsilon_2$ および緩和周波数 f_{c1} , f_{c2} を求めた。

B-3-2. PCTL-MDR細胞からのMDRタンパクの精製とバキュロウイルスと昆虫細胞を用いたMDR1タンパクの大量精製

アニオントランスポーターMDR1 遺伝子 (ヒト由来) を導入し強発現させたウサギ腎近位尿細管由来細胞 PCTL-MDR を MDR1 タンパクの精製ソースとし MDR タンパクを精製した。強発現株の PCTL-MDR 細胞を培養し、10⁸ 細胞 3 ロットから既報に従い MDR1 を粗精製した。

バキュロウイルスと宿主細胞であるシロナ夜蛾卵巣由来細胞株 Sf9 を用い、MDR1 タンパクの大量生産を行った。ヒト副腎 MDR1 遺伝子と発現ベクター pVL1392 を用い、MDR タンパクのアミノ末端側にヒスチジン領域を Tag として発現させ、精製を容易にした。

10⁷ に増殖させた細胞に MDR1 遺伝子をバキュロウイルスベクターで導入し 3~4 日間培養した。細胞ペレット約 5ml からタンパクを精製した。

MDR1 の機能は ATP 水解能で測定した。また、この精製標品を ATP 存在下で放射性ジゴキシンと反応させ、ゲル濾過を行った。

C. 研究結果

C-1. バイオニックナノメディスンによる循環器調節機能デバイスの開発研究

C-1-1. バイオニック神経制御システムの設計

バイオニック神経制御システムは生体信号用差動増幅器、圧測定ブリッジ回路用増幅器、ゲイン可変汎用 AD 変換器、CPU、メモリ、AD・DA 用入出力回路、ゲイン可変 DA 変換器、通信部より構成される。システムを体内に植え込んだのちも柔軟に生体調節の機能を変更できるように無線で体外からプログラム可能な構成とする。生体機能 (インパルス応答) を実現するためにはインパルス応答と入力信号の畳み込み積分が必要であるため、CPU は高速の高精度実数演算が可能なものが求められる。

C-1-2. バイオニック心不全治療の治療論理検討

迷走神経刺激群 12 匹、非刺激群は 14 匹において梗塞領域の大きさには有意差がなかった (刺激群: 46 ± 9%, 非刺激群 43 ± 10%)。心重量は刺激群で有意に小さく (2.71 ± 0.24 g/Kg, 3.01 ± 0.31 g/Kg, p < 0.05)、左室圧一次微分最大値は刺激群で有意に大きかった (4206 ± 244 mmHg/sec, 2999 ± 173 mmHg/sec, p < 0.001)。左室短縮率は刺激群で高い傾向 (15 ± 4%, 11 ± 3%)。左室拡張末期圧は刺激群で低い傾向 (17 ± 6 mmHg, 23 ± 5 mmHg) であった。迷走神経刺激群 22 匹、非刺激群 30 匹において、140 日間の生存率は刺激群で著名に改善した (89%, 50%, p = 0.01)。

C-1-3. 超小型分散ペーシングシステムの設計

検討の結果、超小型ペーシング素子を多数心室に配置することにより心室同期性向上による収縮性向上、心室興奮のばらつき減少による催不整脈性の低減、分散配置した素子を用いた低電力除細動の可能性 (シミュレーションでの検討) があることが明らかになった。

超小型ペーシング素子は、刺激部、心臓刺激電極、心電図記録電極、心電図増幅部、A/D 変換器、制御部、通信部、メモリ、変調部、送信部、受信部、復調部、電源から構成される。

徐脈性不整脈では、必要に応じて心房、心室に各 1 個超小型ペースング素子を植え込んで心房心室間で生体内通信を行い、心房心室順次ペースングを行うシステムを構成する。心室収縮同期性向上、心室興奮のばらつき減少、低電力除細動のためには心房に加えて心室に多数の超小型ペースング素子を配置する。心室素子の必要な数と部位は、理論的検討および電気生理学的検査で決定する。

C-2. ナノ分子操作技術による血液界面代替デバイスの開発研究

C-2-1. On Surface テクノロジーの開発に関する研究

モノマー（スチレン）存在下で水晶振動子の高分子塗布面に紫外光照射を開始すると共振数は直線的に減少し、グラフト重合が光照射によって進行したことが確認できた。周波数減少量は照射光量の増加、モノマー濃度に対して直線的に増加した。*N,N*-ジメチルアミノプロピルアクリルアミド (DMAPAAm) 重合を行い X 線光電子スペクトル測定により表面元素分析を行った。窒素と酸素のシグナルが共に増大した。照射後の表面の水接触角は DMAAm 重合により激減し、疎水性の光反応性高分子表面が親水性へと大きく変化した。細胞接着性は紫外光の数分間照射で最大となりさらに照射すると減少した。原子間力顕微鏡での観察によりグラフト層の厚さは 20 分照射後 120~160nm と見積もられた。

C-2-2. To Surface テクノロジーの開発に関する研究

先端に結合させた生理活性物質ヘパリンをあたかも血中に溶出したような状態でその活性を十分に発揮させるとともに実際にはヘパリンが血中に溶出して行くことなく材料表面に留まるための技術について検討した。この技術を用いた人工肺と血液ポンプを成ヤギに装着し最長 5 ヶ月間の抗血栓性を維持した。

中空子膜単体での検討では、本抗血栓性処

理によって特殊ポリオレフィン製中空糸膜のガス透過性能は 15.8 % の減少が確かめられた。人工肺の実験では、本実験範囲において酸素移動量および炭酸ガス移動量は血流量の増加とともにほぼ直線的に増加し V/Q 比の増加に対しても上昇した。本抗血栓性処理による明らかな性能低下の傾向は認められなかった。

C-3. ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発研究

C-3-1. プロテオリポソームの調製と誘電分散解析による評価

リポソーム、プロテオリポソームを調製することができた。得られたリポソーム・タンパク質共存溶液の誘電スペクトルはリポソーム界面の特性ならびに運動性を強く反映することが知られている。これらのスペクトルを解析する方法には Cole-Cole 式、Debye 式が知られている。Cole-Cole 式は

$$\epsilon' - \epsilon_{\infty} = \Delta\epsilon \left[\frac{1 + (f/f_c)^{(1-\alpha)} \sin(\alpha\pi/2)}{1 + 2(f/f_c)^{(1-\alpha)} \sin(\alpha\pi/2) + (f/f_c)^{2(1-\alpha)}} \right]$$

で与えられる。 $\Delta\epsilon$ は複数の膜特性（サイズ、電荷、脂質濃度など）に基づく誘電率緩和を反映し物理化学的解釈を抽出するのは難しいが、脂質膜-タンパク質間相互作用と $\Delta\epsilon$ とを関係付ける事ができた。Debye 式は、本実験のようにスペクトルに複数の緩和過程が見られる場合、各緩和過程に分解して解析できる高周波側のリン脂質の軸回転運動を表す f_c は対象分子と膜が相互作用した場合における分子の運動性の評価パラメータになりうると予想される。実際にタンパク質の膜透過は、脂質膜中へのタンパク質の挿入によるリン脂質の運動の低下、つまり、 f_c の減少を示した。しかし $\Delta\epsilon_1$ 、 $\Delta\epsilon_2$ はあまり関連しなかった。

C-3-2. PCTL-MDR 細胞からの MDR タンパクの精製とバキュロウィルスと昆虫細胞を用いた MDR1 タンパクの大量精製

MDR の細胞内の低分子生体異物を細胞外にくみ出すという生理機能を利用し、抗生物質

である G418 を培地に加え、MDR1 高発現株を選別した。90 μg /ロットのタンパクが得られた。精製度は総タンパク量に対し 10%以下であった。本タンパクからプロテオリポソームを調製し ATP 水解能を検討した。ATP 水解能は界面活性剤処理後の 86%であり、大半の MDR タンパクが内向きに配向していることがわかった。

次に昆虫細胞 Sf9 を用いた MDR タンパクの大量生産系で 5g の細胞から比活性が 0.4 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ タンパクの MDR1 タンパク 650 μg が得られた。精製度は 90%以上であった。

ATP 水解能は親和性の高い基質 Verapamil の存在下で高く、Vanadate の添加や Mg^{2+} の除去で消失した。ヒスチジン Tag は少なくとも基質依存性の ATP 水解能には影響を与えないことがわかった。精製標品を ATP 存在下で放射性ジゴキシンと反応させ、ゲル濾過を行ったところ、MDR タンパクの分子量 (12 万) の位置に放射活性が見られ、機能的な確認ができた。

D. 考察

D-1. バイオニックナノメディスンによる循環器調節機能デバイスの開発研究

D-1-1. バイオニック神経制御システムの設計

バイオニック治療戦略とは、生体と同様に機能することのできる人工の調節系を用いて、生体の調節系に介入し生体そのものの調節系を代替・置換する治療戦略である。バイオニック治療戦略は機能再建型の治療戦略であり、原因追求型の治療戦略では治療することのできなかった難治性の循環器疾患を治療できる可能性がある。

このようなバイオニック治療戦略の基礎となるのは生体の調節系の性質を包括的かつ詳細に解析した研究結果である。私たちは、種々の複雑性 (履歴、多入力多出力、非線形、分布定数システムなど) が存在するために従来困難であった生体調節系の解析を、白色雑音法を用

いることで成功した。白色雑音法により生体の性質を偏りなく同定することができ、はじめて生体の性質を制御工学の考え方で分析できるようになった。神経制御システムの設計では白色雑音法で求めた生体特性を効率よく再現できる設計が必要である。

D-1-2. バイオニック心不全治療の治療論理検討

本研究では、生体の喪失した機能を補完する「脳を聴く」、「脳を創る」戦略に加え、「脳を超える」戦略が治療論理としても可能かどうか検討した。

本研究ではバイオニック心不全治療は心機能を改善し梗塞後リモデリングを予防するだけではなく、心不全治療の最大の目標である長期生存率を大幅に改善した。バイオニック心不全治療は、生命予後に直結するという特徴を持っている。心不全患者の多さや高齢化に伴う患者の増加を考えると、その重要性は一層大きなものと考えられる。そのため本治療戦略については特許をすでに出願した。今後、バイオニック心不全治療の臨床応用を進めるために治療装置の小型化、完全植え込み化が必要であり、ナノテクノロジーを駆使して実用化をすすめていく必要がある。

D-2. ナノ分子操作技術による血液界面代替デバイスの開発研究

D-2-1. On Surface テクノロジーの開発に関する研究

表面を精密に設計したデバイスでは表面効果が極めて増長されるため血液と直接接する場合生体防衛機能を活性化しない表面設計が必要と考えられる。近年生体適合性を付与する目的で表面グラフト重合が行われているが、複雑な形状をした成形加工されたデバイスへの応用はほとんど行われていない。本研究ではベンジル N,N-ジエチルジチオカルバメート基の光反応性を利用した表面グラフト重合の精密微細制御について検討した。本グラフト重合は

光照射によって開始されるため、光照射領域を規制することによって重合領域を規制することが可能であった。また、光照射を繰り返すことでグラフト重合が繰り返されるので、モノマーを変えて光照射することにより、グラフト薄膜の積層化が可能であった。またグラフト量が一方向に徐々に変化するグラフト量傾斜表面が作成できた。

D-2-2. To Surface テクノロジーの開発に関する研究

本ナノテクノロジーはイオン結合型ヘパリン化材料の疎水性を高め、ヘパリンを基材表面に対して強固に固定化し血中への溶出を抑制するように設計したものである。本技術はカップリング剤の長鎖ジアルキル基のアルキル鎖長を制御することによってこの問題を解決している。細胞膜はリン脂質二重膜で構成されており、このリン脂質は二本のアルキル鎖を有している。本技術も同様にカップリング剤に二本の長鎖ジアルキル基を用いることによって、疎水性を高めると同時に生体膜疑似構造を有しているといえる。人工肺のガス交換性能に関しては、本抗血栓性処理によって特殊ポリオレフィン製中空糸膜のガス透過性能は 15.8 % の減少が確かめられたが、これが律速段階ではないので試験人工肺を用いた動物実験による本抗血栓性処理によるガス交換性能への顕著な影響は見られなかった。

D-3. ナノ生化学系による非細胞性代謝機能代替デバイスの開発研究

劇症肝炎などに対する急性血液浄化法は限外濾過膜によって分子サイズを基準としたふるい分けによる毒性物質の排除を行っている。これに対し生体に対する要不要を区別して代謝、排除している生理的解毒機能を人工的に構築しようとするものがバイオ人工臓器である。米国、日本ともにバイオ人工肝を開発しているが臨床上的効果と危険性の予測については未解決である。ブタ内因性レトロウィルスによる

新興感染症の危険性がある一方、バイオ人工肝は血液から胆汁への毒性物質の移動という生理的経路の構築には成功していない。肝には血管、細胞、胆管という3つの区画があるがバイオ人工肝はこの区画を無視した単相型という問題もある。

細胞を用いたバイオ人工肝には細胞の単層化、多数の細胞の収集、細胞機能の培養中の維持、感染の排除など、簡便な臨床応用のためには解決すべき問題が多い。そこで私たちは薬物代謝、能動輸送を行う酵素およびトランスポータータンパクのみを人工膜上に再構築することを検討した。細胞という複雑系をリポソーム上で単純化することにより、品質管理が容易で再現性の高い医療機器ができるものと考えられる。細胞機能再構成系では ATP や NADPH 分子の補給など微細環境整備の重要性があり本研究のナノテクノロジーとしての取組みの必要性がある。さらに、タンパク性リガンドであるメガリン(アルブミンなどの異化のための細胞膜上レセプター)による透析アミロイドーシス防止などタンパクの有するアフィニティを最大限に利用した不要物質の除去についても検討したい。

E. 結論

バイオニック神経制御システムおよび超小型ペースング素子の基本仕様と分散ペースングシステムの構築方法を明らかにした。バイオニック心不全治療によって心室リモデリングの抑制、心機能低下の抑制、生存率の向上が認められた。また閾値下フィードバックペースングによる低電力除細動の可能性を示した。

表面グラフト重合法は XY 平面及び Z 軸のナノメーター制御を可能にした世界で初めての方法であり、ナノ構造化表面を作成するための基盤プロセス技術としてナノ分子アーキテクチャー技術の一つである On Surface テクノロジーが開発できた。新たな分子設計のヘパリン表面固定技術を施行することで、ガス交換性

能、抗血栓性のいずれにおいても優れた人工肺の可能性を示した。

非細胞系バイオ人工臓器の心臓部であるプロテオリポソームにおけるタンパク配向性の一方向性が確認された。薬物代謝面でもリポソーム化の為の基礎検討系が確立できた。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

G-1.論文

1. High-cut characteristics of the baroreflex neural arc preserve baroreflex gain against pulsatile pressure. Kawada T, Zheng C, Yanagiya Y, Uemura K, Miyamoto T, Inagaki M, Shishido T, Sugimachi M, Sunagawa K. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282: H1149-H1156, 2002
2. Right ventricular $dP/dt/P(\max)$, not $dP/dt(\max)$, noninvasively derived from tricuspid regurgitation velocity is a useful index of right ventricular contractility. Kanzaki H, Nakatani S, Kawada T, Yamagishi M, Sunagawa K, Miyatake K. *J Am Soc Echocardiogr* 15: 136-142, 2002
3. Effects of brief ischaemia on myocardial acetylcholine and noradrenaline levels in anaesthetized cats. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Mori H, Inagaki M, Shishido T, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K. *Auton Neurosci* 95: 37-42, 2002
4. Estimation of baroreflex gain using a baroreflex equilibrium diagram. Kawada T, Shishido T, Inagaki M, Zheng C, Yanagiya Y, Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K. *Jpn J Physiol* 52: 21-29, 2002
5. Modulatory effects of ketamine on catecholamine efflux from in vivo cardiac sympathetic nerve endings in cats. Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Yahagi N, Kawada T, Mori H, Sunagawa K. *Neurosci Lett* 324: 232-236, 2002
6. Gene-specific response of dynamic ventricular repolarization to sympathetic stimulation in LQT1, LQT2 and LQT3 forms of congenital long QT syndrome. Noda T, Takaki H, Kurita T, Suyama K, Nagaya N, Taguchi A, Aihara N, Kamakura S, Sunagawa K, Nakamura K, Ohe T, Horie M, Napolitano C, Towbin JA, Priori SG, Shimizu W. *Eur Heart J* 23: 975-983, 2002
7. Differential effects of beta-blockade on dispersion of repolarization in the absence and presence of sympathetic stimulation between the LQT1 and LQT2 forms of congenital long QT syndrome. Shimizu W, Tanabe Y, Aiba T, Inagaki M, Kurita T, Suyama K, Nagaya N, Taguchi A, Aihara N, Sunagawa K, Nakamura K, Ohe T, Towbin JA, Priori SG, Kamakura S. *J Am Coll Cardiol* 39: 1984-1991, 2002
8. A novel photocurable insulator material for autonomic nerve activity recording. Kawada T, Nakayama Y, Zheng C, Ohya S, Okuda K, Sunagawa K. *Biomaterials* 23: 3169-3174, 2002
9. Bionic technology revitalizes native baroreflex function in rats with baroreflex failure. Sato T, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K. *Circulation* 106: 730-734, 2002
10. Inelastic vascular prosthesis for proximal aorta increases pulsatile arterial load and causes left ventricular hypertrophy in dogs. Morita S, Asou T, Kuboyama I,

- Harasawa Y, Sunagawa K, Yasui H. *J Thorac Cardiovasc Surg* 124: 768-774, 2002
11. Disruption of vagal efferent axon and nerve terminal function in the postischemic myocardium. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Mori H, Uemura K, Miyamoto T, Sugimachi M, Sunagawa K. *Am J Physiol* 283: H2687-H2691, 2002
 12. Convenient automated conductance volumetric system. Uemura K, Sugimachi M, Shishido T, Kawada T, Inagaki M, Zheng C, Sato T, Sunagawa K. *Jpn J Physiol* 52: 497-503, 2002
 13. New algorithm for oscillometric noninvasive automatic arterial pressure measurement in patients with atrial fibrillation. Sugimachi M, Sunagawa K, Okamoto H, Hoka S. *Masui* 51: 784-790, 2002
 14. Input-size dependence of the baroreflex neural arc transfer characteristics. Kawada T, Yanagiya Y, Uemura K, Miyamoto T, Zheng C, Li M, Sugimachi M, Sunagawa K. *Am J Physiol* 284: H404-H415, 2003
 15. Effects of ketamine on exocytotic and non-exocytotic noradrenaline release. Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Mori H, Sunagawa K. *Neurochem Int* 42: 261-267, 2003
 16. Epinephrine unmasks latent mutation carriers with LQT1 form of congenital long-QT syndrome. Shimizu W, Noda T, Takaki H, Kurita T, Nagaya N, Satomi K, Suyama K, Aihara N, Kamakura S, Sunagawa K, Echigo S, Nakamura K, Ohe T, Towbin JA, Napolitano C, Priori SG. *J Am Coll Cardiol* 41: 633-642, 2003
 17. Attenuation of hypercapnic carbon dioxide chemosensitivity after postinfarction exercise training: possible contribution to the improvement in exercise hyperventilation. Tomita T, Takaki H, Hara Y, Sakamaki F, Satoh T, Takagi S, Yasumura Y, Aihara N, Gotô Y, Sunagawa K. *Heart* 89: 404-410, 2003
 18. Effects of moderate hypothermia on norepinephrine release evoked by ouabain, tyramine and cyanide. Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Mori H, Sunagawa K. *J Cardiovasc Pharmacol* 41 Suppl 1: S111-S114, 2003
 19. High plasma norepinephrine attenuates dynamic heart rate response to vagal stimulation. Miyamoto T, Kawada T, Takaki H, Inagaki M, Yanagiya Y, Jin Y, Sugimachi M, Sunagawa K. *Am J Physiol* (in press)
 20. Uniformity in dynamic baroreflex regulation of left and right cardiac sympathetic nerve activities. Kawada T, Uemura K, Kashihara K, Jin Y, Li M, Zheng C, Sugimachi M, Sunagawa K. *Am J Physiol* (in press)
 21. Dynamics of sympathetic baroreflex control of arterial pressure in rats. Sato T, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K. *Am J Physiol* (in press)
 22. 起立性低血圧の病態生理を識る. 山崎文靖, 佐藤隆幸, 奥宮清人, 土居義典. *Heart View* 6: 1152-1158, 2002
 23. Acute ischemia causes 'dark cell' change of strial marginal cell in gerbil cochlea. Ando M, Takeuchi S, Kakigi A, Raicu V, Sato T. *Cell Tissue Res* 309: 229-235, 2002
 24. Reduction in the endocochlear potential caused by Cs⁺ in the perilymph can be explained by the five-compartment model of the stria vascularis. Kakigi A, Takeuchi S, Ando

- M, Higashiyama K, Azuma H, Sato T, Takeda T. *Hear Res* 166: 54-61, 2002
25. Low supply voltage and low-power 1-GHz PLL frequency synthesizer for mobile terminals. Kokubo M. *IEICE Trans Electron* E86-C(1): 71-78, 2003
 26. Secure download system based on software defined radio composed of FPGAs. Uchikawa H, Umebayashi K, Kohno R. *IEICE Trans Commun* E85-B(12): 2601-2609, 2002
 27. Adaptive array antenna using array antennas as element antennas. Yamasuga H, Kohno R. *IEICE Trans Commun* E85-B(10): 1921-1926, 2002
 28. Spatio-resolved hyperbranched graft polymerized surfaces by iniferter-based photograft copolymerization. Nakayama Y, Sudo M, Uchida K, Matsuda T. *Langmuir* 18: 2601-2606, 2002
 29. Compliant design of artificial graft compliance determination by new digital X-ray imaging system-based method. Sonoda H, Urayama S, Takamizawa K, Nakayama Y, Uyama C, Yasui H, Matsuda T. *J Biomed Mater Res* 60: 191-195, 2002
 30. In situ hydrogelation of photocurable gelatin and drug release. Okino H, Nakayama Y, Tanaka M, Matsuda T. *J Biomed Mater Res* 59: 233-245, 2002
 31. Local delivery of low dose docetaxel, a novel microtubule polymerizing agent, reduces neointimal hyperplasia in a balloon-injured rabbit iliac artery model. Yasuda S, Noguchi T, Gohda M, Arai T, Tsutsui N, Nakayama Y, Matsuda T, Nonogi H. *Cardiovas Res* 53: 481-486, 2002
 32. Biomaterial adherent macrophage apoptosis is increased by hydrophilic and anionic substrates in vivo. Brodbeck WG, Patel J, Voskerician G, Christenson E, Shive MS, Nakayama Y, Matsuda T, Ziats NP, Anderson JM. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 10287-10292, 2002
 33. Thermoresponsive heparin coating: heparin conjugated with poly(N-isopropylacrylamide) at one terminus. Magoshi T, Ziani-Cherif H, Ohya S, Nakayama Y, Matsuda T. *Langmuir* 18: 4862-4872, 2002
 34. Local delivery of single low-dose of C-type natriuretic peptide, an endogenous vascular modulator, inhibits neointimal hyperplasia in balloon-injured rabbit iliac artery model. Yasuda S, Kanna M, Sakuragi S, Kojima S, Nakayama Y, Miyazaki S, Matsuda T, Kangawa K, Nonogi H. *J Cardiovasc Pharmacol* 39: 784-788, 2002
 35. Biomaterial surface chemistry dictates adherent monocyte/macrophage cytokine expression in vitro. Brodbeck WG, Nakayama Y, Matsuda T, Colton E, Ziats NP, Anderson JM. *Cytokine* 18: 311-319, 2002
 36. Fabrication of micropored elastomeric film-covered stents and acute-phase performances. Nakayama Y, Nishi S, Ueda-Ishibashi H, Matsuda T. *J Biomed Mater Res* 64A: 52-61, 2003
 37. In vivo leukocyte cytokine mRNA responses to biomaterials are dependent on surface chemistry. Brodbeck WG, Voskerician G, Ziats NP, Nakayama Y, Matsuda T, Anderson JM. *J Biomed Mater Res* 64A: 320-329, 2003
 38. Development of a water-soluble matrix metalloproteinase (MMP) inhibitors as an intra-arterial infusion drug for prevention of restenosis after angioplasty. Masuda T, Nakayama Y. *J Med Chem* (in press)
 39. Laser-perforated membranous

- biomaterials induced pore size-dependent bone-induction when used as a new BPM-carrier. Kuboki Y, Kikuchi M, Takita H, Yoshimoto R, Nakayama Y, Matsuda T, Ikada Y. *Connective Tissue Res* (in press)
40. Photo-control of cell adhesivity and proliferativity on photo-induced cation-generatable polymer film surface. Nakayama Y, Matsuda T. *Photochem Photobiol* (in press)
 41. Coaxial double-tubular compliant arterial graft prosthesis: time-dependent morphogenesis and compliance changes after implantation. Sonoda H, Takamizawa K, Nakayama Y, Sasui H, Matsuda T. *J Biomed Mater Res* (in press)
 42. Photo-control of interaction between endothelial cells and photo-cation generatable water-soluble polymers. Nakayama Y, Matsuda T. *J Control Release* (in press)
 43. Occlusion of experimental aneurysms with heparin-loaded micropored stent graft. Nishi S, Nakayama Y, Ueda-Ishibashi H, Matsuda T. *Neurosurgery* (in press)
 44. At least thirty-four days of animal continuous perfusion by a newly developed extracorporeal membrane oxygenation system without systemic anticoagulants. Nishinaka T, Tatsumi E, Taenaka Y, Katagiri N, Ohnishi H, Shioya K, Fukuda T, Oshikawa M, Sato K, Tsukiya T, Homma A, Takewa Y, Takano H, Sato M, Kashiwabara S, Tanaka H, Sakai K, Matsuda T. *Artif Organs* 26: 548-551, 2002
 45. 血漿漏出を防止する非対称膜構造の中空糸膜を用いた人工肺のガス交換性能の向上: 新規開発のヘパリンコーティングが人工肺に与える影響の評価. 片桐伸将, 巽 英介, 西中知博, 妙中義之, 高野久輝, 酒井一成, 松田智昌, 田中秀典, 柏原 進, 佐藤正喜. *膜型肺* 25: 47-52, 2002
 46. 緊急対応性と長期耐久性を有する超小型一体型心肺補助装置の研究開発. 巽 英介, 築谷朋典, 片桐伸純, 武輪能明, 西中知博, 妙中義之, 高野久輝, 酒井一成, 松田智昌, 八名純三, 小西義昭, 佐藤正喜, 田中秀典. *膜型肺* 25:58-64, 2002
 47. 優れた抗血栓性と長期耐久性を有する心肺補助システムの開発. 西中知博, 巽 英介, 妙中義之, 片桐伸将, 大西裕幸, 押川満雄, 塩谷恭子, 福田敏秀, 築谷朋典, 本間章彦, 武輪能明, 高野久輝, 佐藤正喜, 柏原 進, 田中秀典, 酒井一成, 松田智昌. *膜型肺* 25: 53-57, 2002
 48. 優れた抗血栓性と耐久性を有するPlatinum Cube NCVCについて. 松田智昌, 酒井一成, 西中知博, 巽 英介, 片桐伸将, 妙中義之, 田中秀典, 柏原 進, 佐藤正喜. *医工学治療* 14: 22-24, 2002
 49. Artificial mimicking of physiological transport by a membrane co-cultured with two different cells: Hepatic origine HepG2 and renal origine PCTL-MDR. Endo M, Enosawa S, Ozaki M, Tsuruoka S, Hiramatsu S, Kim K, Omasa T, Matsumura T, Aoki T, Koyamagi Y, Suzuki S. *Artif Organs* 26: 806-811, 2002
 50. Experimental study of plasma recycling system by off-line bioartificial liver in rats. Ikeda T, Aoki T, Miyashita T, Kasuya K, Tsuchida A, Koyanagi Y, Matsumura T, Suzuki S, Enosawa S. *Transplant Proc* 34: 2706-2710, 2002
 51. Porcine liver transplantation as an estimation system for bridge-use of bioartificial liver (BAL). Endo M, Enosawa S, Suzuki S, Amemiya H, Kobayashi E, Miyashita T, Aoki T,

- Koyanagi Y. Transplant Proc 34: 2714-2717, 2002
52. Off-line bioartificial liver (BAL) -A novel concept of treatment with BAL and its potency of liver regeneration-. Enosawa S, Miyashita T, Endo M, Suzuki S, Amemiya H, Matsumura T. Transplant Proc 34: 2711-2713, 2002
 53. Construction of liver model with genetically engineered human HepG2 cells. Omasa T, Enosawa S. Cytotechnology (in press)
 54. Expression and amplification of glutamine synthetase gene for constructing ammonia-metabolizing cell lines in hybrid bioartificial liver support system. Omasa T, Kim K, Hiramatsu S, Katakura Y, Kishimoto M, Matsumura T, Enosawa S, Suzuki S, Amemiya H, Suga K. In "Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects" vol.12, Shirahata S, Teruya K, Katakura Y (eds.) pp.263-267 (2002) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands
 55. ストレスバイオテクノロジーは人工臓器に応用可能か-バイオ人工肝/腎とめぐる最近の動向と将来-. 大政健史, 絵野沢伸. ケミカルエンジニアリング 47(10): 30-34, 2002
 56. Characterization and control of stimuli-induced membrane fusion of liposomes in the presence of proteins and stimuli responsive polymers. Menayame MF, Kuboi R, et al. Biochem Eng J, 12: 7-19, 2002
 57. Evaluation and control of interaction between liposome membranes induced by the stimuli responsive polymers and proteins. Menayame MF, Kuboi R, et al. J Biosci Bioeng 93: 498-501, 2002
 58. 刺激応答型リポソーム膜融合現象の評価. Menayame MF, 久保井亮一ら. 化学工学論文集, 28: 481-484, 2002
 59. Detection of heat stress mediated interaction between protein and phospholipid membrane using dielectric measurement. Morita S, Kuboi R, et al. J Biosci Bioeng (in press)
 60. Further comparative study on picryl chloride-induced contact dermatitis in female IQI/Jic and Balb/c mice. Jung JY, Saegusa J, Uetsuka K, Nakayama H and Doi K. Comp Med (in press)
 61. Ultrastructural feature of mast cells in picryl chloride(PCL)- induced contact dermatitis in IQI/Jic mice. Jung JY, Yasoshima A, Saegusa J, Uetsuka K, Nakayama H and Doi K. Exp Toxicol Pathol (in press)
 62. Gene amplification and its application in cell and tissue engineering. Omasa T. J Biosci Bioeng 94: 600-605, 2002
 63. Molecular cloning and sequencing of the human heme-regulated eukaryotic initiation factor-2 alpha (eIF-2 alpha) kinase from bone marrow culture. Omasa T, Chen Y, Mantalaris A, Ysai Y, Wu JHD DNA Sequence 13:133-137, 2002
 64. Functional analysis of ABCA8, a new drug transporter. Tsuruoka S, Ishibashi K, Yamamoto H, Wakaumi M, Suzuki M, Schwartz GJ, Imai M, Fujimura A. Biochem Biophys Res Comm 298: 41-45, 2002
- G-2.新聞報道
1. ナノテク医療「ナノバイオニックブレイン」の研究について紹介された。2002年5月6日毎日新聞
 2. バイオニックブレインの概要および要素技術について紹介された。2002年8月21日朝日新聞
 3. バイオニック治療の研究について紹介さ

- れた。2002年10月14日日本経済新聞
4. バイオニック医学による難治性循環器疾患治療の基礎研究について紹介された。
2003年2月27日 Medical Tribune

H.知的所有権の取得状況

1. 砂川賢二、杉町 勝、佐藤隆幸
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シングシステム、血圧調節システム及び心疾患治療用システム
平成14年8月5日
PCT/JP02/07963
2. 砂川賢二、杉町 勝、稲垣正司
超小型一体化心臓ペースメーカー及び分散心臓ペーシングシステム
平成14年8月5日
PCT/JP02/07972
3. 佐藤隆幸、山崎文靖、牛田享宏、横山武志
硬膜外麻酔用カテーテルおよび該硬膜外麻酔用カテーテルを用いる電気刺激装置
平成14年6月13日
特願 2002-172695号
4. 中山泰秀、西 正吾、山田 進
動脈瘤閉鎖具
特願 2002-195851
5. 中山泰秀、山田 進、荒木修一
生体管接合材
特願 2002-088131
6. 中山泰秀、山田 進、荒木修一
イオン結合性生体組織接着剤
特願 2002-088214
7. 中山泰秀、山田 進、荒木修一
血管内拡張用具
特願 2002-088130
8. 中山泰秀、上垣昭彦、小野静香
ヒドロキサム酸化合物
特願 2002-123795
9. 中山泰秀、根本 泰
組織工学用スキャホールド材及び、該材からなる人工血管
特願 2002-091793
10. 中山泰秀、根本 泰
ベクター、核酸含有複合体及びその形成方法
特願 2002-243872
11. 中山泰秀、西 正吾、根本 泰
ステント
特願 2002-243871
12. 中山泰秀、根本 泰
核酸複合体及びその製造方法
特願 2002-268698
13. 中山泰秀、根本 泰
ベクター、核酸含有複合体及びその形成方法
特願 2002-299226
14. 中山泰秀、梅田真理子
ベクター、ベクター用高分子、その製造方法、核酸含有複合体及びその製造方法
特願 2002-299225
15. 中山泰秀、根本 泰
動脈瘤閉塞剤及び動脈瘤閉塞方法
特願 2002-352736
16. 中山泰秀、根本 泰
動脈瘤閉塞材及び動脈瘤閉塞方法
特願 2002-359528
17. 中山泰秀、林美智子、高見沢計一、植田初江
人工血管
特願 2003-052512

ナノテクノロジーによる機能的・構造的生体代替デバイスの開発
I バイオニックナノメディスンによる循環器調節機能デバイスの開発研究
バイオニック医学による心不全治療戦略の確立

主任研究者 砂川 賢二（国立循環器病センター研究所 部長）

研究要旨：

心不全の生命予後は現在も不良であり従来の概念を超えた新たな治療体系が求められている。心疾患の重症化には循環調節機能の破綻が深く関与することから、私たちは破綻した調節系を知的電子装置で置換する神経制御システムや生体論理により制御される人工臓器で心疾患を治療するバイオニック治療戦略を創出した。

本研究ではバイオニック治療戦略の臨床応用に向けてバイオニック神経制御システムを開発するためにその基本仕様を検討した。

また、治療論理の検討では、これまでに、「脳を聴く」、「脳を創る」バイオニック治療戦略の劇的な治療効果を徐脈性不整脈、中枢性血圧失調など主要な循環器疾患に対し明らかにしてきた。さらに本研究ではラットでの実験によって、「脳を超える」バイオニック治療戦略による慢性重症心不全（重症心筋梗塞）の治療が心室リモデリングの抑制、心機能低下の軽減、長期生存率の改善に有効であることを示した。生体の調節系を是正する「脳を超える」バイオニック治療戦略が可能であることが明らかになった。

A.研究目的

重症心不全は高度な現代医療をもってしてもなお予後の不良な疾患である。近年の調査によれば、重症心不全の5年生存率はこの40年間にわずか10%しか改善していないことが報告されており（図 A-1）、心不全患者の治療にはさらに画期的な治療法が必要である。

重症心不全の画期的な治療法として心臓移植がわが国でも行われるようになったが、心不全の患者数の多さや高齢化に伴う患者数の増加を考えると心臓ドナー数の不足は明かである。すでに心臓移植先進国である米国ではドナー数がこれ以上増えないために、心臓移植症例数も頭打ちになっている。一方で、心臓の機能を生体以外のもので代替する人工心臓の開発がすすんでいる。人工心臓にはドナー数の制限

の問題はないが、心臓移植に比べると生体との協調との点では問題を残している。現在の人工心臓は生体と協調して動作する巧妙な制御方法の開発がまだ途上であるためである。

これら2つの先進治療法はいずれも悪化した心臓そのものを置換する発想の治療法である。しかしながら、心不全は心臓だけの病気ではなく、循環器系の調節系にも大きな変化がもたされていることが明らかになっている。この循環調節系の異常は心不全の病態の維持、重症化に関与していることも次第に明らかになっており、循環調節系に人工的に介入することで心不全の進行や重症化を阻止できるのではないかと考えられる。この全く新しい治療法（バイオニック治療戦略）を実現するために、本研究では、現在は体外のコンピュータで行っているバイオニック治療論理を体内の植込み治療

心不全: 現代循環器病学の最大の問題

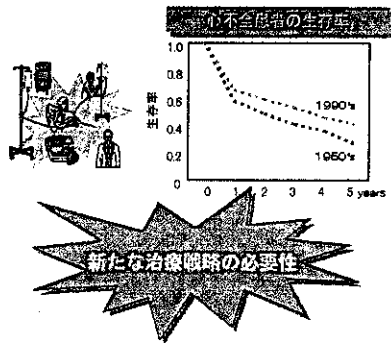


図 A-1 重症心不全の生存率: 40年間の比較

装置で実現するためのシステム設計を行った。またバイオニック心不全治療のための治療論理の検討も行った。

B. 研究方法

B-1. バイオニック神経制御システムの設計

バイオニック治療戦略では生体の機能を再現 (または改変) するために、生体の調節機能を人工の機器で再現する必要がある。これには生体機能を電気回路 (いわゆるアナログ回路) で模擬する方法と、生体からの信号および生体の制御信号をすべてデジタル化して行う2つの方式が考えられる。しかしながら近年のデジタル処理の進歩により、アナログ回路による方法はほとんど用いられなくなっている。デジタル処理では簡便で柔軟的な処理が可能であることに起因している。特に生体の機能には、履歴、多入力、非線形、分布定数系システムなどの複雑性 (考察 D-2 参照) があり、バイオニック治療戦略でこれを模擬する際にはソフトウェアの置換だけでさまざまな処理を行うことのできるデジタル処理の利点が重要である。以上のような考察をもとにバイオニック神経制御システムの基本仕様の検討を行った。

B-2. バイオニック心不全治療の治療論理検討

B-2-1. バイオニック心不全治療による長期心機能の変化に関する研究

8週令のオス SD ラットで実験を行った。ラットを1%ハロセン麻酔下に開胸し、左冠状動脈の基部から2~3mmの部位をナイロン糸で結紮して急性心筋梗塞を作った。この心筋梗塞の作成法では十分に大きな領域が心筋梗塞になり (40~50%)、長期の観察で心室のリモデリングや心不全が起こることは予備実験で明らかになっている。梗塞領域が大きく高率に心室細動を起こすため、可能な限り心臓マッサージを行い機械的に除細動した。電氣的除細動は行わなかった。除細動に成功したラットは閉胸し心筋梗塞および手術侵襲から回復させた。

1週間後、生き残った心筋梗塞ラットを2群に無作為に分け、一方の群は迷走神経刺激群、他方を非刺激群とした。再度ハロセン麻酔をかけ、刺激群では血圧テレメトリ装置、無線で遠隔に操作できる電気刺激装置とこれに接続した迷走神経刺激用電極の植え込み手術を行った。非刺激群では迷走神経の剥離のみを行い電気刺激装置および電極は植え込まなかった。迷走神経は今回の検討ではもっぱら右側に電極を装着した。

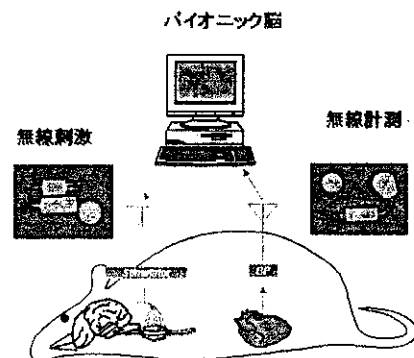


図 B-1 バイオニック心不全治療の実験方法

2度目の手術からさらに回復させ1週間後まで生存したラット26匹のうち、刺激群には (血圧信号から得られる) 心拍数をもとに刺激した。迷走神経の電気刺激によるバイオニック心不全治療は6週間 (心筋梗塞作成2週後から8週後まで) 続けた。1分間に10秒だけの間欠刺激で平均心拍数を10~20% (20~30bpm)

低下させるようにバイオンニック心不全治療を行った。結果的に刺激条件は刺激電流 0.1~0.13mA、刺激パルス幅 0.2ms、刺激頻度 20Hzであった。

刺激を6週間で終了し、再度ハロセン麻酔下で心エコー、血行動態を測定した後、屠殺して組織学的に心臓リモデリングを評価した。血行動態は心尖部より2Frのカテ先血圧計を挿入して記録した。

B-2-2.バイオンニック心不全治療による長期生存率に関する研究

前項とは別の8週令のオスSDラットで実験を行った。心筋梗塞の作成方法、梗塞領域の大きさ、心室細動からの蘇生法、血圧テレメトリ装置・無線で遠隔に操作できる電気刺激装置・右迷走神経刺激用電極の植え込みの手順、迷走神経の電気刺激によるバイオンニック心不全治療の方法と期間(心筋梗塞作成2週後から8週後まで)はほぼ前項と同様に行った。52匹を無作為に2群に分け、一方で迷走神経刺激を行い、他方では行わなかった。刺激群では1分間に10秒だけの間欠刺激で平均心拍数を10~20%(20~30bpm)低下させるようにバイオンニック心不全治療を行った。刺激条件も前項とほぼ同様であった。

迷走神経の電気刺激は6週間で終了したが、その後も140日(20週)まで観察を続け、生存率を計算した。

C.研究結果

C-1.バイオンニック神経制御システムの設計

バイオンニック神経制御システムの基本構成と必要な機能単位をブロックダイアグラムで図C-1に示す。本システムは生体信号用差動増幅器、圧測定ブリッジ回路用増幅器、ゲイン可変汎用AD変換器、CPU、メモリ、AD・DA入出力回路、ゲイン可変DA変換器、通信部より構成される。システムを体内に植え込んだのも柔軟に生体調節の機能を変更できるよ

うに無線で体外からプログラム可能な構成とする。

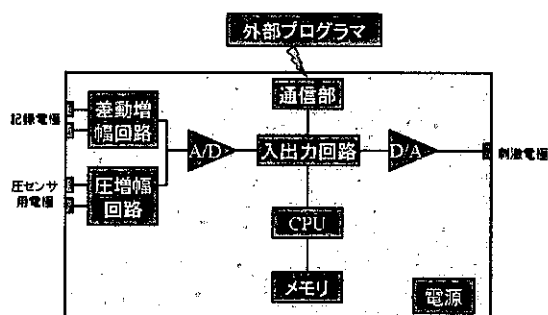


図 C-1 バイオンニック神経制御システムの基本構成

考察 D-2 でも示すように、生体の調節機能を忠実に再現するためには、生体の機能を白色雑音法により詳細に明らかにする必要がある。このようにして求めた生体機能(インパルス応答)を実現するためにはインパルス応答と入力信号の畳み込み積分が必要である。この演算には高速の実数演算を必要とし、高速のCPUとメモリを要する。また入力信号の履歴をメモリに保存する必要がある。インパルス応答をIIRフィルタに変換することにより演算回数は減少するが、より精度の高い実数演算が必要である。これらのことを総合的に考えると、バイオンニック神経制御システムにはCPUは高速の高精度実数演算が可能なものが求められる。

近年、周辺回路を内蔵した低消費電力で小型のCPUがPICとして供給され種々の装置に組み込まれている。今後PICの性能向上も視野に入れてPICの実数計算能力を検討し、汎用CPU、PICの双方よりCPUの選択を行う必要がある。

C-2.バイオンニック心不全治療の治療論理検討

C-2-1.バイオンニック心不全治療による長期心機能の変化に関する研究

迷走神経刺激群は12匹、非刺激群は14匹であった。梗塞領域の大きさを左心室短軸断面に占める梗塞領域の断面積で定義し、組織学的に計測した。両群間で梗塞領域の大きさには有