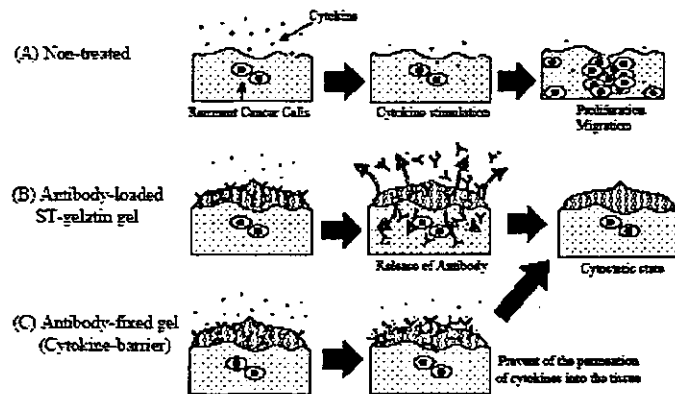


図 3



抗体を用いた共重合ゲルを作成し、*in vitro* で HGF による癌細胞の浸潤を抑制するかを検討すると、コントロール・ゲルのみでは HGF 添加にて浸潤癌細胞数は増加するが、抗体包埋ゲル、抗体共重合ゲルでは同程度に有意に抑制された。ステレン化抗体はあらゆるサイトカインの抗体を使用可能であり、局所のサイトカイン・バリアーとなることが期待される。

遺伝子導入細胞シート

この方法は、細胞を担体とした蛋白輸送である。まず自己細胞を採取・培養増殖させ(初代培養)、*ex vivo* で遺伝子導入を行い、それらを高密度に播種した人工組織を作成する。それを腫瘍切除後の腫瘍床に移植し、局所で NK4 を産生させることにより遺残癌細胞の進展抑制を図ろうとするものである(図 4 A)。まず、口腔粘膜上皮細胞(oral mucosal epithelial cell, 以下 OMEC)を培養して細胞組織シートを作成する。この細胞は体表にあるため比較的容易に採取可能で増殖能が高く、人工組織作製には適した細胞種である。約 5 mm 四方のラットの口腔粘膜を採取しそれを細片化し酵素処理をすると 6×10^6 から 1×10^7 個の細胞が得られる。この細胞を NK4 の輸送の担体として用いる場合、HGF を分泌しないこ

とが必要であるが培養した OMEC には明らかな発現は見られなかった。次に OMEC に Ad-NK4 を感染させると十分な NK4 蛋白の発現があり、その NK4 が癌細胞の浸潤を *in vitro* で抑制することが確認された。OMEC を高密度に播種した口腔粘膜上皮細胞シートの作成法は、まず圧縮したコラーゲンゲルとバイクリルメッシュで基盤を作製し、その上に OMEC を 2×10^5 cells/cm² で播種し 48 時間培養する。ついでアデノウイルスにて遺伝子導入を行い、遺伝子導入口腔粘膜上皮細胞シート(OMEC シート)を作成する。電子顕微鏡像では OMEC の細胞層、コラーゲン、バイクリルメッシュの 3 層構造が確認される(図 3 B)。このシートを用いて、*in vivo* の実験を行うと、NK4 遺伝子導入 OMEC シート移植では、コントロールや lacZ 遺伝子導入 OMEC シート移植群と比べ腫瘍体積がおおよそ 50% に抑制された。NK4 遺伝子導入 OMEC シート移植群では有意に腫瘍周囲の血管数が抑制されることも判明している。このように、NK4 遺伝子を導入した自己細胞シートは腫瘍の発育を抑制する強力なデバイスであるが、今後さらに NK4 を分泌量と分泌期間を改善する必要がある。

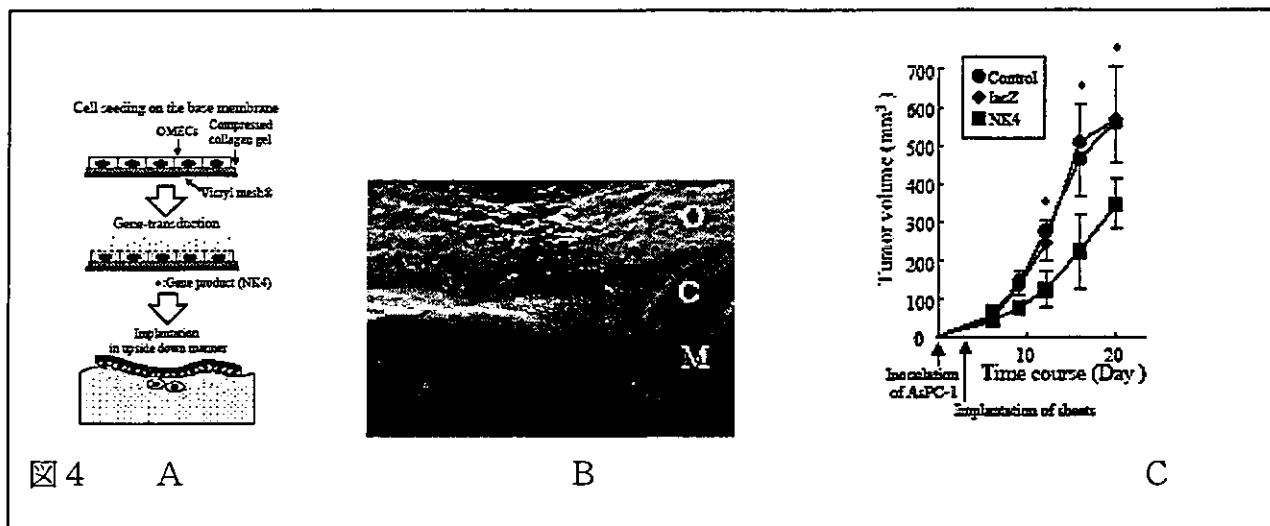
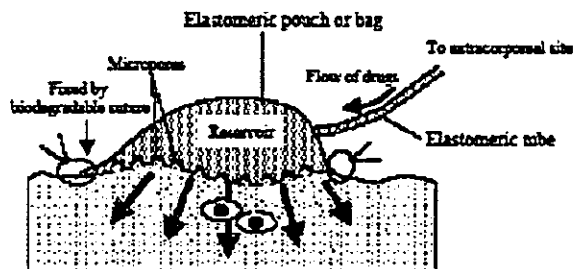


図4 A B C

経皮的持続薬剤注入用デバイス

この局所徐放デバイスは、作製したリザーバーを膵癌の切除部位に生分解性の糸を用いて縫着し、このリザーバーを弾性のチューブを用いて体外の装置と連結させて使用する。従って、体外においた装置から抗癌剤を繰り返し局所へ投与することが可能になる。さらに、このリザーバーは癌切除部位の組織に密着可能な柔軟な散布面をもち、マイクロポアを介して一方向のみの散布が可能であるので、目的とする部位に限定して高濃度の局所薬剤濃度を達成できる。また、数週間にわたる治療が完了すると容易に体外へ取り出すことが可能であることも大きな特徴と言える。実際にこのデバイスを用いて、ヌードマウスの皮下に移植した膵癌に対して、 $150 \mu\text{g}/\text{body}$ の GEM を 1 週間投与し治療実験を行った。その結果、皮下膵腫瘍の発育をほぼ完全に抑制することが可能であった。また局所投与であったため通常の GEM 使用量よりも少ない投与量で十分な治療効果が得られたため、宿主に対する副作用を極めて軽微なものに抑えることができた。この治療デバイスは現在、臨床での使用を目指して検討を急いでいる。

図5



経皮的持続薬剤注入用デバイス概念図



ポリウレタンを使用して作製したプロトタイプ

D. 考察

膵癌切除術を施行された患者の死亡原因の大半は局所再発もしくは肝転移である。肝転移の制御については、肝局所に対する化

学療法によって肝転移の発生率を減らし、生存期間が改善したとする報告がある。一方、局所再発を防ぐ目的で術中照射や全身化学療法、もしくはそのコンビネーションといったいくつかの治療方法が試みられているが、生存率に対する効果という観点からはいまだ十分な成果はない。そのため、より治療効果の高い新たな方法が待たれる。様々な癌に対して preclinical もしくは clinical treatment として drug-delivery system を使用したことが報告されているが、現在のところ切除面に対して delivery system を構築するといった治験や治療は報告されていない。組織を通しての局所デリバリーシステムは、術中切除後の内因性の強力なサイトカインによって遺残した腫瘍が増殖する前に細胞増殖抑制系の薬剤を使用でき、さらに補助として細胞障害性のある薬剤が標的組織中で低濃度でも持続性の暴露が可能であることが望ましい。このようなコンセプトに基づいて、最近数年間で我々は局所への薬剤デリバリーシステムという観点からいくつかの新しい治療手段を開発してきた。

光凝固ゼラチンゲル、サイトカインバリアー、遺伝子組み換え細胞シート、新たな薬剤デリバリーシステムなどのシステムの相違を問わず、ここで述べたすべての医療用デバイスや物質は、術中切除が終わってすぐのころこのある切除面にぴったりと張り付くように作製し、また局所で様々なタイプの生物活性物質、たとえば抗ガン剤や蛋白質、アデノウイルス、更には強力な内因性の腫瘍増殖性サイトカインが標的組織に浸透するのをふせぐ物質などが、切除された局所の組織を通して供給されるように構築されている。局所で使用するゲルとして我々は光硬化性ゼラチンを使用した。これは可視光で化学的に重合するスチレン系の高分子化合物ゲルである。この

物質は元々心血管系の手術の折りに誤って動脈を傷つけた場合の止血糊として開発された経緯がある。素早いゾルからゲルへの転換と、連続してかかる脈圧に耐える強力な組織への接着は組織透過性薬剤デリバリーに対して非常に適している。そのほかにこの特殊な用途に適合する可能性のあるポリマーとしては、体温でゾルからゲルになる温度感受性ポリマーがある。しかし、これらのゲルは非イオン系の水溶性ゲルであることから組織に対する接着力が非常に低いという欠点がある。

E. 結論

新たな膵癌局所治療用のデバイスは、細胞増殖抑制系と細胞破壊系の薬剤を同時にデリバリーできるようにすべきであり、そうなればさらなる効果の増強が期待できる。これらの方法やコンビネーションが膵癌に対する補助療法として実際の治療に使用され、膵癌術後の局所再発率が減少し、生存期間が劇的にのびることが強く望まれる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. T. Manabe, H. Okino, R. Maeyama, K. Mizumoto, M. Tanaka, T. Matsuda, New infusion device for trans-tissue, sustained local delivery of anticancer agent to surgically resected tissue: Potential use for suppression of local recurrence of pancreatic cancer, J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2004. in press.
2. T. Manabe, H. Okino, R. Maeyama, K. Mizumoto, E. Nagai, M. Tanaka, T. Matsuda. Novel strategic therapeutic approaches for prevention of local recurrence of pancreatic cancer after resection:

trans-tissue, sustained local drug-
delivery systems. J Control Release 2004,
100(3): 317-330.

G. 知的財産の出願・登録状況：なし。

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）

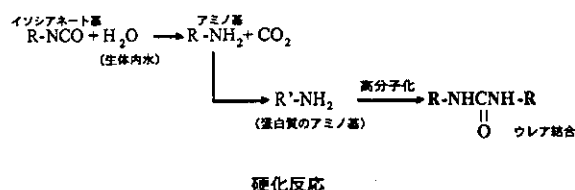
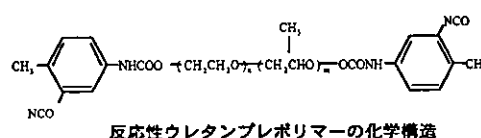
分担研究報告書

医用弾性接着剤

分担研究者 森田 茂樹（九州大学大学院医学研究院心臓血管外科助教授）

研究要旨：本接着剤は 1980 年代後半に開発された止血接着剤である。しかしながら当時は生物由来の材料を用いた医療止血接着剤が求められており残念ながら実用には至らなかった。近年になって人畜共通の感染症の問題、あるいは人の血液を用いた際のウイルス感染の問題など生物由来の材料の問題が大きく取り上げられるようになってきた。このため生物由来の材料を用いない止血接着剤の開発が急務となってきた。さらに心臓・血管外科領域に特有の、①拍動（収縮・拡張）する組織に適した、②ヘパリンを大量に使用した場合でも確実な止血が得られる、③手術時の wet な術野でも使用可能な止血接着剤は現時点では存在しない。本研究で使用する高機能医用弾性接着剤は、下記に示すように基本骨格がフッ素化アルキルジイソシアネートを成分とする液状ウレタンプレポリマー

でできている。液状で高吸水性のポリオール（注）の両端に高反応性かつ非発ガン性のイソシアネート基が結合した構造になっている。このためこれまでの接着剤と異なり、親水性があり水分の多い生体内での使用に適している。また、硬化物が弾力性を持ち常時拍動の力学場にさらされている動脈血管の特性に特化させてある。現在当科と三洋化成工業株式会社、医用工学と共同で進めている。



A. 医用弾性接着剤のウサギ頸動脈損傷モデルによる止血実験

1 研究目的

○心臓外科領域において、吻合部や剥離部の止血のために、フィブリン糊などの止血剤を用いるが、ヘパリンが作用している状態ではフィブリン糊は理論的には無効である。また、人工心肺を用いる心臓外科手術ではヘパリンをプロタミンで中和させる前に、

確実に止血させる必要にせまられる場面が少なからず生じるが、このような場面でフィブリン糊は止血剤としては使えない。もしヘパリンの作用下でも効果のある止血剤が存在すれば、心臓外科の手術をうける患者にとってのメリットは大きく臨床的に異議がある。

○九大医用工学の松田教授の開発された医用弾性接着剤（ポリエーテル系含フッ素ウレ

タンプレポリマー)を用いて、ヘパリン使用下、動脈出血での止血効果を評価する。

2. 被験物質

- 1) 名称：SC-625
- 2) 化学名：ポリエーテル系含フッ素ウレタンウレアポリマー
- 3) 外観、性状： 澄明粘稠液状
- 4) 取り扱い上の注意： 水反応性のため水との接触を避ける。
- 5) 保管条件： 使用まで冷凍保存（-20℃以下）する。
- 6) 必要量： 1g入りアンプル× 10本
- 7) その他被験物質の情報： 室温に戻したのち開封し、2時間以内に使用する。
- 8) 提供者：三洋化成工業株式会社

3. 使用動物

- 1) 種、系統、性：日本白色ウサギ 雄
- 2) 動物選択の理由： ウサギの頸動脈は適度の大きさであり、動脈損傷モデルの止血評価に適した動物種である。
- 3) 生産所（購入先）： KBTオリエンタル株式会社
- 4) 試験予定動物数： 4匹
- 5) 試験時の週齢、体重：12週齢、3.0Kg

4. 試験方法

(麻酔管理)

全身麻酔下にて実験は実施する。耳静脈より血管確保、KN1A補液にて維持する。イソゾール (sodium thiamylal) 70mg 静注後、4Frの気管チューブを挿管する。100%酸素下に呼吸器 (model SN-480-5, Shinano Industrial Co., Tokyo, Japan) を使用し、1回換気量 50ml、呼吸回数 30/min で管理を行う。挿管後に麻酔 [フェンタネスト (fentanyl citrate) 50 μ g, マスキュラックス (vecuronium bromide) 2mg] を追加静注し鎮痛麻酔と筋弛緩を得る。以後の

麻酔と筋弛緩の維持はフェンタネスト 0.8mg/hr の持続静注で行う。

(循環動態管理)

循環動態観察のため、左大腿動脈の血管確保を行い、血圧モニター用のトランスデューサーを介して polygraph system (System 365-12, NEC San-ei Inc., Tokyo, Japan) に繋ぎ、血圧および脈拍を持続的にモニターする。記録は MacLab system (AD Instruments) を使用する。接着剤 (被験物質) による止血中、及び止血後の血圧を 120mmHg から 140mmHg の範囲になるように麻酔深度と輸液量の調節を行う。

(血液ヘパリン化)

血管の穿針または切開前に 1mg/Kg のヘパリンを静脈内に投与し、その前後の ACT を測定し、ACT が 2 倍以上になるようにヘパリンを追加投与する。

(手術および止血実験手順)

日本白色ウサギ 4 匹の頸動脈 (計 8 本) を使用し、4 本は 20 ゲージサーフロー針 (穿針群：外径 1.1mm)、4 本はメスによる約 3mm の縦切開 (切開群) を加え、加えた部分に被験物質「SC-625」を約 0.2ml 塗布し 5 分間放置後の出血の有無を確認する。

手順としては、両側内頸動脈を露出し、最低 2.5cm の長さを遊離する。遊離後に上記の通り、血液をヘパリン化し、さらに血圧が上述の基準を満たすことを確認したのち、約 1.5cm の間隔で血管クランプをかけ、20 ゲージサーフロー針 (外径 1.1mm) にて血管中央部を穿針する。抹消側クランプを緩め出血することを確認したのち、血管周囲をガーゼにてふき取り、両側クランプをやや引き寄せながら穿針部に接着剤 (被験物質) を塗布し、5 分間放置する。放置後、クランプを両側とも開放し、出血

の有無を観察する。出血の程度に関わらずこの時点で一度写真を撮影する。もし出血がある場合、再度クランプし接着剤（被験物質）を塗布し、5 分間放置し同様の行程を完全止血が得られるまで繰り返す。出血観察の都度、写真観察を行う。

止血が得られたらクランプは開放したまま、反対側の血管の実験を行う。反対側の血管については、血管にクランプをかけるまでは同様の方法を繰り返す（ACTは再度測定し、血圧も目標範囲内であることを確認する）。クランプ間の中央に拡大鏡で観察しながらメジャーを用いて、3mmの縦切開を血管壁に加える。出血の確認後、今度はクランプ同士を引き寄せることなく接着剤（被験物質）を塗布し、5 分間の放置後に上記の方法と同様に出血の有無を観察し、止血するまで同様の行程を繰り返す。

5. 評価方法

- 被験物質塗布し5分間放置した後、クランプを開放し出血の有無を評価する。
- 得られた止血後の標本は1.85%ホルマリン含有固定液にて150mmHgの圧を负荷しながら固定し、一部の標本は切開し内腔面を写真撮影、または同標本を凍結切片としてヘマトキシリン-エオジン染色を施し、状態を観察する。

6. 保存資料・保存場所

- 1) この試験に関する全ての記録、文書および生データをファイルし、保存する。

- ①試験計画書関係資料
- ②被験物質関係資料

③生データ類（測定データ類）

④報告書関係資料

⑤その他

- 2) 資料保存場所：

原本：九州大学医学部 心臓血管外科 医局

写：三洋化成工業株式会社 医療産業分社

- 3) 保存期間：試験終了後10年間

7. 結果

ヘパリン投与前のACTは平均137秒、投与後のACTは平均646秒、ヘパリン投与前後でのACT比は平均4.6倍となった。ACT比の最低のものは2.4とヘパリン投与後のACTは投与前の2倍以上を保った。止血時の血圧は平均収縮期血圧156mmHg（148～170mmHg）、平均拡張期血圧91mmHg（75～108mmHg）であった。

穿針群の4本の頸動脈のうち、3本は1回の被験物質の塗布で完全に止血された。1本は止血するために3回の被験物質塗布を必要としたが、3回目の塗布にて完全に止血された。

切開群4本の頸動脈では4本全てにおいて1回の被験物質の塗布にて止血は完全に行われた。

穿針群において、穿針後に止血された血管の内腔面を観察すると、内腔面に接着剤が露出しているところは見当たらなかった。しかし切開群において、切開後に止血された血管の内腔面の観察では、接着剤表面が血管内腔に露出している部分が観察された。

同標本を凍結切片としたところ、穿針のものは出血点が非常に同定しづらく、出血・止血部を切片にすることが出来なかった。切開したものでは、切開部は容易に同定でき、切片としてヘマトキシリン-エオジン染色を行い観察すると、切開部は血管壁が外反し血管壁断端同士は接合していなかった

	ウサギ1	ウサギ2	ウサギ3	ウサギ4
ACT				
ヘパリン投与前	122	140	123	164
ヘパリン投与後	436	822	589	1000
止血時血圧				
収縮期血圧	148	150	170	170
拡張期血圧	86	95	97	108
止血効果				
穿針部止血	◎	◎	◎	◎
切開部止血	◎	◎	○	◎

◎：1回の塗布で止血完了

○：3回の塗布で止血完了



図1. 接着剤塗布後の肉眼的所見（上図）

8. 考察

被験物質の止血効果については、血液へパリン化を行った頸動脈損傷モデルにおいて、総計8本の実験で7本が完全に1回の塗布で止血され、良好な止血効果が認められた。

しかしながら、切開を加えて実験した群では、血管壁が外反することによって血管壁同士の連続性が失われ、被験物質が内腔面に露出するようである。被験物質の内腔

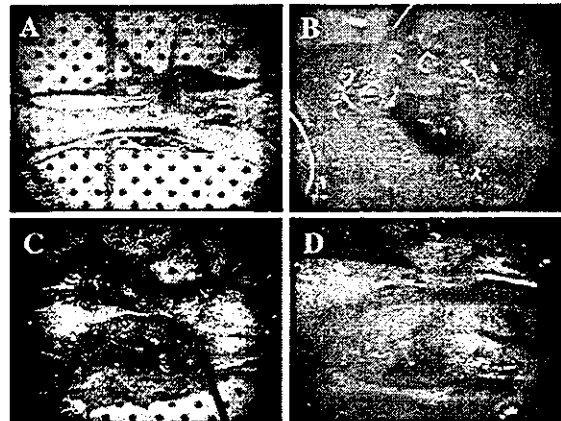


図2. A: 穿針、接着剤止血後の内面像。1.6倍。矢印が穿針部。B: 穿針部の拡大像（4倍）。矢印は穿針断端。血管壁には欠損部は認められない。C: 切開、接着剤止血後の内面像。1.6倍。矢印が切開部。切開部では血管壁が不連続となり、その間には接着剤が認められる。D: 切開部の拡大像（4倍）。矢印は血管壁の断端部。※印は内腔面に露出した接着剤。

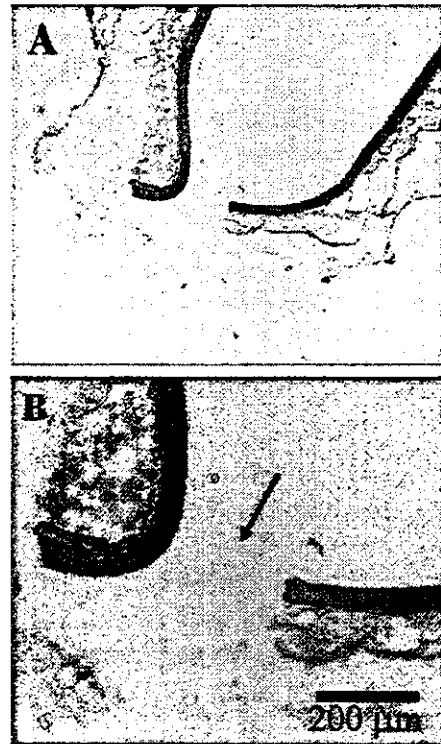


図3. 切開、接着剤による止血後のウサギ総頸動脈断面のHE染色。A: 切開部（矢印）は血管壁が外反しており、連続性が保たれておらず、血管壁間には隙間がある。20倍。B: 隙間部分の拡大像。200 μm

面への露出はこのましくないため、切開による長期実験を実施する場合は切開方法を変更する必要がある。

B. 医用弾性接着剤のイヌ内頸動脈吻合モデルによる止血実験

1. 目的

○心臓外科領域において、吻合部や剥離部の止血のために、フィブリン糊などの止血剤を用いるが、ヘパリンが作用している状態ではフィブリン糊は理論的には無効である。また、人工心肺を用いる心臓外科手術ではヘパリンをプロタミンで中和させる前に、確実に止血させる必要にせまられる場面が少なからず生じるが、このような場面でフィブリン糊は止血剤としては使えない。もしヘパリンの作用下でも効果のある止血剤が存在すれば、心臓外科の手術をうける患者にとってのメリットは大きく臨床的に異議がある。

○九大医用工学の松田教授の開発された医用弾性接着剤（ポリエーテル系含フッ素ウレタンプレポリマー）を用いて、ヘパリン使用下、動脈出血での止血効果を評価する。

2. 被験物質

- 1) 名称：SC-625 ポリエーテル系含フッ素ウレタンウレアポリマー
- 2) 外観、性状：澄明粘稠液状
- 3) 取り扱い上の注意：水反応性のため水との接触を避ける。
- 4) 保管条件：使用まで冷凍保存（-20℃以下）する。
- 5) 必要量：1g入りアンプル×5本
- 6) その他被験物質の情報：室温に戻したのち開封し、2時間以内に使用する。
- 7) 提供者：三洋化成工業株式会社

3. 使用動物

- 1) 種、系統、性：ハイブリット犬 雄

2) 動物選択の理由： イヌの頸動脈は適度の大きさであり、動脈損傷モデルの止血評価に適した動物種である。

3) 生産所（購入先）： KBTオリエンタル株式会社

4) 試験予定動物数： 4匹

5) 試験時の週齢、体重： 15Kg以上

4. 試験方法

(麻酔管理)

全身麻酔下にて実験を行う。イソゾール（sodium thiamylal）500mg 静注後、左前腕の静脈より血管確保、KN1A 補液にて維持。6Fr の気管チューブを挿管。100%酸素下に呼吸器を使用し、1回換気量 20ml/Kg、呼吸回数 10/min で管理を行う。挿管後の麻酔の維持は、吸入麻酔薬（フォーレン 1-3%）と筋弛緩薬 マスキュラックス（vecuronium bromide）0.1mg/kg 静注にて行う、筋弛緩薬は適宜追加静注し、鎮痛麻酔と筋弛緩を得る。

(循環動態管理)

循環動態の観察及び記録のために、左大腿動脈を血管確保し、圧トランスデューサーを介して polygraph system(System 365-12, NEC San-ei Inc., Tokyo, Japan)に繋ぎ、血圧および脈拍を持続的にモニターする。記録は MacLab system(AD Instruments)を使用する。同時に心電図もモニターする。接着剤（被験物質）による止血中、及び止血後の血圧を 120mmHg から 140mmHg の範囲になるように麻酔深度と輸液量の調節を行う。

(血液ヘパリン化)

血管露出後、コントロールの採血を動脈ラインから行い、ACTを測定、記録する。その後、ヘパリン 1mg/Kg を点滴ライン側管からゆっくり静注し、5分後に血圧モニター用の動脈ラインから採血を行い、ACTを測定する。ACTがコントロールの2倍を超えている場合はACTを記録し止血工程に進む。ACTが

コントロールの2倍を超えてない場合は、さらにヘパリン 0.5mg/Kg を投与し、5分後にACTを測定する。この工程をACTがコントロールの2倍を超えるまで繰り返す。

(手術及び止血実験手順)

両側内頸動脈を露出し、最低 6.0cm の長さを遊離する。遊離後は上述のように血液をヘパリン化し、さらに血圧が上述の基準を満たすことを確認したのち、2本の血管鉗子を用いて血流を遮断し、血管鉗子間で動脈を切断する。切断した血管の断端を 5-0 糸で4ヶ所(上下、左右)端々吻合し、接着剤(被験物質)を全周に塗布し5分間放置後、クランプを両側と開放し、出血の有無を観察する。出血の程度に関わらずこの時点で一度写真を撮影する。もし出血がある場合、再度クランプし接着剤(被験物質)を塗布し、5分間放置して同様の行程を完全に止血が得られるまで繰り返す。観察の都度、写真撮影を行う。止血が得られたらクランプは開放したまま、反対側の頸動脈についても同様の行程を繰り返し、止血が得られるか否かを検証する。以上を3匹のハイブリッド犬にて施行し、計6ヶ所の急性期止血効果の実験を行う。

また、止血後の血管吻合部内腔への接着剤の湿潤がないか否かを肉眼的、組織学的に観察する。1匹については、3ヶ月後の血管造影および解剖学的観察を行う。

5. 評価方法

○被験物質塗布し10分間放置した後、血管鉗子を開放し出血の有無を評価する。

○得られた止血後の標本は1.85%ホルマリン含有固定液にて150mmHgの圧を負荷しながら固定し、一部の標本は切開し内腔面を写真撮影、または同標本を凍結切片としてヘマトキシリン-エオジン染色を施し、状態

を観察する。

○3ヶ月後に血管造影を行い、吻合部に狭窄がないかどうかを観察評価する。また、3ヶ月後、吻合部の治癒状況を解剖学に観察評価する。

6. 保存資料・保存場所

1) この試験に関する全ての記録、文書および生データをファイルし、保存する。

- ①試験計画書関係資料
- ②被験物質関係資料
- ③生データ類(測定データ類)
- ④報告書関係資料
- ⑤その他

2) 資料保存場所:

原本 : 九州大学医学部
心臓血管外科医局
写 : 三洋化成工業株式会社
医療産業分社

3) 保存期間: 試験終了後10年間

7. 試験結果

ヘパリン投与前のACTは平均121秒、投与後のACTは平均1000秒以上であった。(n=6)止血前の血圧は平均収縮期血圧149mmHg、平均拡張期血圧86mmHgであり、止血後の血圧は平均収縮期血圧178mmHg、平均拡張期血圧88mmHgであった。(n=6)ヘパリン投与下で、切断・吻合を行った6カ所すべての血管において、1回の被験物質の塗布(塗布後5分)で完全に止血が得られた。硬化物は柔軟性があり吻合部を含めて拍動していた。

ヘパリン投与後のACTは実験終了までの間、全例測定不能(凝固せず)であった。儀死せしめた後、血管を切除し吻合部を内腔から肉眼的に観察したが、被験物質の内腔への湿潤は認められなかった。

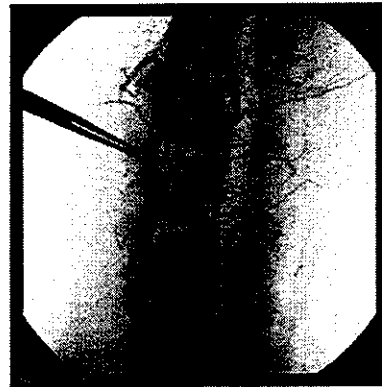


図4. 3ヶ月後の吻合部の状態（右頸動脈） 図5. 吻合部の血管造影検査（3ヵ月後）

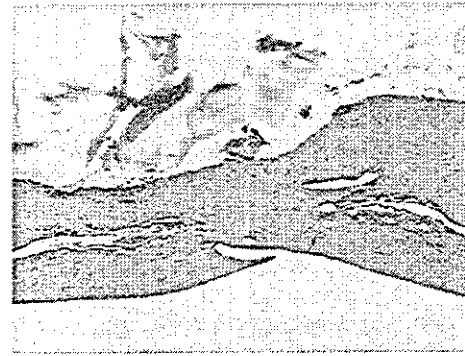
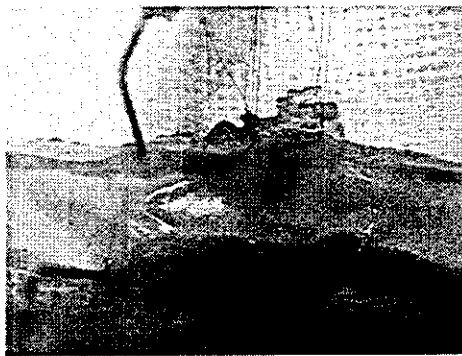


図6. 血管内空のマクロ写真

図7. 3ヶ月後の内皮（HE染色 x400）

また、手術 3 ヶ月後の血管造影検査で吻合部に血管の狭窄は認められなかった。手術後 3 ヶ月後の解剖学的所見では、吻合部を被って被験物質はゲル状物として残存していたが、吻合部の血管は完全に治癒していた。

8. 考察

本実験で使用した新しい医用弾性接着剤（被験物質）は、水分の多い生体内において使用可能で、なおかつヘパリン使用下においても高い接着力を止血効果が得られることが確認できた。

医用弾性接着剤のブタ冠状動脈バイパス手術モデルによる止血実験

1. 目的

○近年、冠動脈バイパス手術は人工心肺を用いた従来の手術から off pump、MIDCAB と、より侵襲の少ない手術を行うように

なっている。最近ではさらに侵襲の少ない port-access CABG や robotic CABG などが試みられている。こういった小さい視野で手術を行わなければならない場合の一番の問題は、吻合部の quality をこれまでの手術と同様に得られるかどうかである。さまざまな血管吻合用の device の開発が行われているが、吻合に硬い金属を使用するこれらの device にはいくつかの問題点が指摘されている。ひとつには血栓形成の問題、もうひとつには device 接地部にかかる強いストレスにより血管が裂けたり解離を起こしたりすることである。これら金属を使用した血管吻合の問題点を解決するために現在 tissue adhesive を用いて血管吻合を行う試みがなされている。Gundry らは 2000 年に 45% concentrated Bovine albumin と 10% glutaraldehyde からつくられた Bioglu

(Cryolife, Inc, Marietta, Ga) を用いた sutureless CABG(LITA-LAD)を goat で行い follow up 1年後のカテーテル検査で良好な開存が得られていたことを報告している。同様に Nooten らも 2003 年に吻合方法が異なるものの dog に Bioglue を用いて sutureless CABG(LITA-LAD)を行い、3ヶ月の follow up で良好な開存が得られていたことを報告している。また、Buijstrogge らは 2002 年に octylcyanoacrylate を主成分とする Dermabond(Ethicon, Inc. Somerville, NJ) を用いて pig に sutureless CABG(LITA-LAD)を行い、5週間後にカテーテルで吻合部の良好な開存を確認したと報告している。

○本研究で使用する医用弾性接着剤(ポリエーテル系含フッ素ウレタンプレポリマー)は、九大医用工学松田教授の開発されたもので、これまでに当心臓血管外科と九大医用工学との共同研究で、犬内頸動脈切断モデルに使用し良好な血管の接着・止血効果および血管の拍動性を認めており、これを冠動脈バイパス術に応用することで quality の高い吻合の成果が期待できる。今回の実験では、家畜ブタを使用し、心拍動下に本接着剤を用いた LITA-LAD のバイパスを行い、急性期および慢性期の吻合部の評価を行う。

2. 被験物質

- 1) 名称：SC-625A
- 2) 化学名：ポリエーテル系含フッ素ウレタンウレタポリマー
- 3) 外観、性状：澄明粘稠液状
- 4) 取り扱い上の注意：水反応性のため水との接触を避ける。
- 5) 保管条件：使用まで冷凍保存(-20℃以下)する。

- 6) 必要量：1.5g入りアンプル×10本
- 7) その他被験物質の情報：室温に戻したのち開封し、2時間以内に使用する。
- 8) 提供者：三洋化成工業株式会社

3. 使用動物

- 1) 種、系統、性：家畜ブタ 雄
- 2) 動物選択の理由：ブタは心臓血管状態、凝固系等がヒトに類似しており、循環器系の医療機器の性能評価に繁用される動物種である。
- 3) 生産所(購入先)：九動株式会社
- 4) 試験予定動物数：12匹
- 5) 試験時の週齢、体重：16週以上、35Kg以上

4. 試験方法

(麻酔管理)

ケタラルール 500mg + 硫酸アトロピン 0.5 mg 筋注後、吸入麻酔(フォーレン 1~3%)を使用し自発呼吸が止まらない程度に麻酔を行い、気管切開を行い 5.5Fr の気管内チューブを挿入する。挿管後、左耳静脈より静脈留置針にて血管を確保し、筋弛緩薬ミオブロックを 2mg 静注し筋弛緩を得る。

(呼吸管理)

人工呼吸器(NARK OMED2, North American Dragere Inc, PA, USA)にて管理する。(一回換気量 15ml/kg、呼吸回数 10回/分、PEEP 3 cmH₂O、I/E=2 酸素濃度 100%)

(循環管理)

心電図および左大腿脈に留置針を挿入し、血圧をモニターする。これらのデータはオシロスコープ(System 365-12, NEC San-ei Inc., Tokyo, Japan)を介して PowerLab (ML785, AD Instruments Ltd, Dunedin North, New Zealand)に送られ、ThinkPad X30 (IBM Co, NY, USA)に記録する。

(実験手順)

1. 急性実験

全身麻酔下に仰臥位で固定し、バリカンにて除毛したのち胸骨正中切開を行う。左内胸動脈 (LITA) を横隔膜面まで剥離しておく。心膜切開の後吊り上げを行う。吻合は左前下行枝 (LAD) に行う。Octopus stabilizer を用いて吻合部の視野を固定する。吻合予定部の proximal distal に elastic Snare を置く。接着剤 (被験物質) を使用するため十分余裕をもって snare をかける (septal branch からの bleeding がコントロールできる程度)。ヘパリンを 5ml (iv) 投与する。ACT は 500sec 以上になるようにヘパリンを適宜追加投与しコントロールする。LITA の flow の電磁血流計を使用し測定する。その後に血管鉗子をかけ切離し断端をトリミングする。術野の確保と不整脈予防のため β -Blocker (インデラル 1A) を静注する。LAD にかけた snare を閉じ、LAD に 2mm の縦切開を加え吻合操作を行う。LITA-LAD の吻合は 7-0 prolene で 4 ヲ所固定したのち、接着剤 (被験物質) を全周に塗布する。(1ml のシリンジに 22G の留置針の先をつけたもので塗る)。4 針固定を行っている間は shunt tube を使用し、心筋虚血時間を短くする。塗布後 5 分間置く。5 分後に、まず distal の snare をゆっくり外し吻合部からの出血がないか確認する。ここで出血がなければそのまま proximal の snare をはずし出血がないか確認を行う。出血がある場合は接着剤を追加塗布する。最後に LITA の血管鉗子を開放し LAD の根元を結紮する。LITA の flow を計測。さらに血行動態および心電図に変化がないかを 30 分間観察する。

30 分後出血がなければカテーテル検査を行う。上行大動脈に cardioplegia 注入針を立て、そこから造影剤注入し吻合部の評価を行う。カテーテル検査終了後、儀死

せしめ、肉眼的に吻合部を観察後、ホルマリン固定し組織学的検査を行う。以上、接着剤 (被験物質) を使用した急性実験を 8 頭で行う。

(測定項目)

- ・ 術中の血圧および心電図変化を記録する。
- ・ 動脈グラフトの血流量の評価を行う。左内胸動脈は剥離前に電磁血流計を用いて flow の測定を行う。吻合後の分時血流量の測定も電磁血流計 (T106, Transonic system Inc) を使用し行う。
- ・ 吻合部の評価は手術終了後、カテーテル検査を行う。また、儀死せしめたのち圧をかけながらホルマリンで吻合部を固定し、肉眼的、組織学的に評価を行う。この際重要なことは血管内腔への接着剤の流入がないか確認すること、吻合部に狭窄がないか否か評価することである。

2. 慢性実験 (4 頭)

全身麻酔下に仰臥位で固定し、バリカンにて除毛する。左耳のルートから抗生剤を持続点滴しておく。手術は清潔操作下に行う。胸骨正中切開を行い、左内胸動脈 (LITA) を横隔膜面まで剥離しておく。心膜切開ののち吊り上げを行う。吻合は左前下行枝 (LAD) に行う。Octopus stabilizer を用いて吻合部の視野を固定する。吻合予定部の proximal distal に elastic snare を置く。接着剤 (被験物質) を使用するため十分余裕をもって snare をかける (septal branch からの bleeding がコントロールできる程度)。

ヘパリンを 5ml (iv) 投与する。ACT は 500sec 以上になるようにヘパリンを適宜追加投与しコントロールする。LITA の flow の電磁血流計を使用し測定する。その後に血管鉗子をかけ切離し断端をトリミン

グする。

術野の確保と不整脈予防のためβ-Blocker (インデラル1A) を静注する。LAD にかけた snare を閉じ、LAD に 2mm の縦切開を加え吻合操作を行う。LITA-LAD の吻合は 7-0 prolene で 4カ所固定したのち、接着剤 (被験物質) を全周に塗布する。(1ml のシリンジに 22G の留置針の先をつけたもので塗る)。4針固定を行っている間は shunt tube を使用し、心筋虚血時間を短くする。塗布後 5分間置く。5分後に、まず distal の snare をゆっくり外し吻合部からの出血がないか確認する。ここで出血がなければそのまま proximal の snare をはずし出血がないか確認を行う。出血がある場合は接着剤を追加塗布する。最後に LITA の血管鉗子を開放し LAD の根元を結紮する。LITA の flow を計測。さらに血行動態および心電図に変化ないかを 30分間観察する。そのまま開胸操作に移る。胸腔内にドレーンを留置し胸骨を 2 nespolene で閉鎖、皮下は 2-0nespolene 連続縫合、皮膚は 3-0 ナイロン mattless suture にて閉鎖する。

術後 3ヶ月目に、全身麻酔下に left carotid artery から cannulation を行い、血管造影にて吻合部の評価を行う。さら再開胸し graft flow を電磁血流計で測定する。そのあとは犠死させ、LITA-LAD 吻合部の内腔を縦断面像で肉眼的に観察し、接着剤 (被験物質) が血管内腔にもれ出ているかを確認する。また組織学的評価のため固定し標本を作製する。

5. 評価方法

- 被験物質塗布し 10分間放置した後、血管鉗子を開放し出血の有無を評価する。
- 急性実験では止血確認 30分後にグラフト造影を行い吻合部の評価を行う。
- 慢性実験では上記止血確認 30分後と 1

ヶ月後にカテーテル検査を行う。

- 慢性実験の標本は 1.85%ホルマリン含有固定液にて 150mmHg の圧を負荷しながら固定し、一部の標本は切開し内腔面を写真撮影、または同標本を凍結切片としてヘマトキシリン-エオジン染色を施し、治癒状況を組織学的に評価する。

6. 保存資料・保存場所

- 1) この試験に関する全ての記録、文書および生データをファイルし、保存する。
 - ①試験計画書関係資料
 - ②被験物質関係資料
 - ③生データ類 (測定データ類)
 - ④報告書関係資料
 - ⑤その他
- 2) 資料保存場所：
 - 原本 : 九大医学部 心臓血管外科
 - 写 : 三洋化成工業株式会社
- 3) 保存期間: 試験終了後 10年間

7. 結果および考察

1. 試験結果 (急性実験)

① 接着剤吻合後の LITA-LAD の flow

	max (ml/min)	mean (ml/min)
D615	36	28.7
D616	45.7	30.9
D649	43.1	27.2
D650	48.7	29.7
D662	61.6	38.5
D669	56.2	30.2
D694	42	27.2
D731	39.8	20.8
平均	46.6375	29.15
range	36.0-61.6	20.8-38.5

② 再灌流後 5 分間の血圧

	max (mmHg)	min (mmHg)	mean (mmHg)
D615	108	66	85
D616	110	69	84
D649	111	73	90
D650	115	61	85
D662	104	58	82
D669	116	74	91
D694	113	67	87
D731	105	69	84
平均	110.3	67.1	86.0
range	104-116	58-74	82-91

③ バイパス術直後の血管造影検査



8. 考察

急性実験を行った 8 匹に関しては良好な接着効果を得ることができた。時間の経過と共に吻合部の状態がどのように変わっていくかは慢性実験の結果が必要である。

は結果が出る予定になっている。

E. 知的財産の出願・登録状況：なし

D. 結論

動物実験においては本接着剤は血管の止血および吻合部の接着に効果を示した。臨床応用に向けた本接着剤の毒性試験が現在三洋化成工業で行われている。本年度中に

血管手術の安全性向上 止血用接着剤を開発

九州大グループ

九州大グループは、止血用接着剤を開発し、血管手術の安全性向上に貢献している。この接着剤は、手術中の出血を効果的に止血し、手術時間を短縮し、患者の回復を促進する。また、吻合部の接着にも効果的であり、手術後の合併症を減少させる。この接着剤は、現在臨床試験が行われており、その安全性と有効性が確認されている。

九州大グループは、止血用接着剤を開発し、血管手術の安全性向上に貢献している。この接着剤は、手術中の出血を効果的に止血し、手術時間を短縮し、患者の回復を促進する。また、吻合部の接着にも効果的であり、手術後の合併症を減少させる。この接着剤は、現在臨床試験が行われており、その安全性と有効性が確認されている。

「沖繩県民納付で済め」

日本国政府は、沖繩県民納付を促進するための施策を実施している。この施策は、沖繩県民の納付率を向上させ、県民の生活水準を向上させることを目的としている。また、この施策は、沖繩県の経済成長を促進し、県民の福祉を向上させることに貢献している。

日本国政府は、沖繩県民納付を促進するための施策を実施している。この施策は、沖繩県民の納付率を向上させ、県民の生活水準を向上させることを目的としている。また、この施策は、沖繩県の経済成長を促進し、県民の福祉を向上させることに貢献している。

の公球が当たった証拠がない。選手ボールをしていただけと推定。引いては危険な状況に陥り、

九州大 高機能止血剤を開発

心臓手術死亡率低下に期待

九州大学医学部研究科、四年後の製品化を目指す。の松田武文教授(採用高学)と森田茂樹助教授(心臓外科)らのグループは、心臓大動脈手術はほとんどが動脈の一部を人工血管で置き換える。人工血管と動脈の適合箇所から出血しやすく、止血剤がない場合、心臓大動脈手術中の出血を防ぐ高機能止血剤の開発に着手した。多量に用いられている止血剤「トロンボリン」は、手術中に血管の水分を吸収し、

はケル状で血管が硬くなり、血液の流れが滞りやすくなる。また、止血剤の効果が持続しない。このため、大動脈の手術には、手術を再開し、合併症を併発する。国内ではこの手術の死亡率は10%を超えて、手術が再開した止血剤は反応性が低く、副作用が強い。森田教授は「この止血剤が適用化されれば、手術時間が短縮され、死亡率が低下する」と期待している。

九州大 新タイプ止血剤開発

心臓血管手術で効果

九州大学医学部研究科、四年後の製品化を目指す。の松田武文教授(採用高学)と森田茂樹助教授(心臓外科)らのグループは、心臓大動脈手術はほとんどが動脈の一部を人工血管で置き換える。人工血管と動脈の適合箇所から出血しやすく、止血剤がない場合、心臓大動脈手術中の出血を防ぐ高機能止血剤の開発に着手した。多量に用いられている止血剤「トロンボリン」は、手術中に血管の水分を吸収し、

最高裁

最高裁は、二審三審の裁判を併せて審理する。この制度は、裁判の迅速化を図るためのものである。最高裁は、二審三審の裁判を併せて審理する。この制度は、裁判の迅速化を図るためのものである。

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

● 主任研究者: 松田 武久

1) 著者: T Matsuda.

タイトル: Recent Progress of Vascular Graft Engineering in Japan.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Artificial Organs 28(1) : 64-71, 2004.

2) 著者: H Sonoda, H Yasui, T Matsuda.

タイトル: A device for the spatio-regional delivery of a photocurable drug formulation.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Biomaterials 25: 2859-2866, 2004.

3) 著者: S Kato, S Kidoaki, T Matsuda.

タイトル: Substrate-dependent cellular behavior of Swiss 3T3 fibroblasts and activation of Rho family during adhesion and spreading processes.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: J Biomed Mater Res 68A: 314-324, 2004.

4) 著者: R Maeyama, Y Mizunoe, J. M. Anderson, M Tanaka, T Matsuda.

タイトル: Confocal imaging of biofilm formation process using fluoroprobed Escherichia coli and fluoro-stained exopolysaccharide.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: J Biomed Mater Res 70A: 274-282, 2004.

5) 著者: T Matsuda, I. K. Kwon, S Kidoaki.

タイトル: Photocurable Biodegradable Liquid Copolymers : Synthesis of Acrylate-End-Capped Trimethylene Carbonate-Based Prepolymers, Photocuring, and Hydrolysis.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Biomacromolecules 5(2): 295-305, 2004.

6) 著者: T Masuda, M Furue, T Matsuda.

タイトル: Photocured, Styrenated Gelatin-Based Microspheres for deNovo Adipogenesis through Corelease of Basic Fibroblast Growth Factor, Insulin, and Insulin-Like Growth Factor I.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Tissue Eng 10(3/4): 523-535, 2004.

7) 著者: T Manabe, H Okino, M Tanaka, T Matsuda.

タイトル: In situ-formed, tissue-adhesive co-gel composed of styrenated gelatin and styrenated antibody: potential use for local anti-cytokine antibody therapy

on surgically resected tissues.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Biomaterials 25: 5867-5873, 2004.

8) 著者: I. K. Kwon, T Matsuda.

タイトル: Photo-polymerized microarchitectural constructs prepared by microstereolithography (μ SL) using liquid acrylate-end-capped trimethylene carbonate-based prepolymers.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Biomaterials 26: 1675-1684, 2005.

9) 著者: S Ohya, S Kidoaki, T Matsuda.

タイトル: Poly (N-isopropylacrylamide) (PNIPAM)-grafted gelatin hydrogel surfaces : interrelationship between microscopic structure and mechanical property of surface regions and cell adhesiveness.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Biomaterials 26: 3105-3111, 2005.

10) 著者: S Ohya, H Sonoda, Y Nakayama, T Matsuda.

タイトル: The potential of poly (N-isopropylacrylamide) (PNIPAM)-grafted hyaluronan and PNIPAM-grafted gelatin in the control of post-surgical tissue adhesions.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Biomaterials 26: 655-659, 2005.

11) 著者: T Masuda, M Furue, T Matsuda.

タイトル: Novel Strategy for Soft Tissue Augmentation Based on Transplantation of Fragmented Omentum and Preadipocytes.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Tissue Eng 10(11/12): 1672-1683, 2004.

● 分担研究者: 下川宏明

12) 著者: T Nishida, H Shimokawa, K Oi, H Tatewaki, T Uwatoku, K Abe, Y Matsumoto, N Kajihara, M Eto, T Matsuda, H Yasui, A Takeshita, K Sunagawa.

タイトル: Extracorporeal Cardiac Shock Wave Therapy Markedly Ameliorates Ischemia-Induced Myocardial Dysfunction in Pigs in Vivo.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Circulation 110: 3055-3061, 2004.

13) 著者: T Hattori, H Shimokawa, M Higashi, J Hiroki, Y Mukai, K Kaibuchi, A Takeshita.

タイトル: Long-Term Treatment With a Specific Rho-Kinase Inhibitor Suppresses Cardiac Allograft Vasculopathy in Mice.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Circ Res 94: 46-52, 2004.

- 14) 著者: K Abe, H Shimokawa, K Morikawa, T Uwatoku, K Oi, Y Matsumoto,
T Hattori, Y Nakashima, K Kaibuchi, K Sueishi, A Takeshita.

タイトル: Long-Term Treatment With a Rho-Kinase Inhibitor Improves
Monocrotaline-Induced Fatal Pulmonary Hypertension in Rats.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Circ Res 94: 385-393, 2004.

- 15) 著者: K Oi, H Shimokawa, J Hiroki, T Uwatoku, K Abe, Y Matsumoto,
Y Nakajima, K Nakajima, S Takeichi, A Takeshita.

タイトル: Remnant Lipoproteins from Patients with Sudden Cardiac Death Enhance Coronary
Vasospastic Activity Through Upregulation of Rho-Kinase.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Arterioscler Thromb Vasc Biol 24: 918-922, 2004.

- 16) 著者: Y Matsumoto, T Uwatoku, K Oi, K Abe, T Hattori, K Morishige, Y Eto,
Y Fukumoto, K Nakamura, Y Shibata, T Matsuda, A Takeshita,
H Shimokawa.

タイトル: Long-Term Inhibition of Rho-Kinase Suppresses Neointimal Formation After
Stent Implantation in Porcine Coronary Arteries: Involvement of Multiple
Mechanisms.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Arterioscler Thromb Vasc Biol 24: 181-186, 2004.

● 分担研究者: 片山佳樹

- 17) 著者: K Kawamura, J Oishi, J-H Kang, K Kodama, T Sonoda, M Murata,
T Niidome, Y Katayama.

タイトル: Intracellular Signal-Responsive Gene Carrier for Cell-Specific Gene
Expression.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Biomacromolecules in press, 2004.

- 18) 著者: T Sonoda, S Shigaki, T Nagashima, O Okitsu, Y Kita, M Murata,
Y Katayama.

タイトル: Mass-tag technology for monitoring of protein kinase activity using mass
spectrometry.

雑誌名、巻号、ページ、出版年: Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14,
847-850, 2004.

- 19) 著者: T Yamamoto, K Ikuta, K Oi, K Abe, T Uwatoku, M Murata, N Shigetani,
K Yoshimitsu, H Shimokawa, Y Katayama.

タイトル: First Functionalized MRI Contrast Agent Recognizing Vascular Lesions.
雑誌名、巻号、ページ、出版年: Analytical Sciences January 20: 5-7, 2004.

- 20) 著者: T Yamamoto, K Ikuta, K Oi, K Abe, T Uwatoku, F Hyodo, M Murata,
N Shigetani, K Yoshimitsu, H Shimokawa, H Utsumi, Y Katayama.
タイトル: In vivo MR detection of vascular endothelial injury using a new class of
MRI contrast agent.
雑誌名、巻号、ページ、出版年: Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14: 2787-2790,
2004.

- 21) 著者: 片山佳樹、山本竜広、下川宏明
タイトル: 血管内皮障害部位を特異的に診断できる造影剤
雑誌名、巻号、ページ、出版年: Bio Medical Quick Review Net No. 4009: 1-5, 2004.

● 分担研究者: 新名主 輝男

- 22) 著者: R Nogita, K Matohara, M Yamaji, T Oda, Y Sakamoto, T Kumagai, C Lim,
M Yasutake, T Shimo, C. W. Jefford, T Shinmyozu.
タイトル: Photochemical Study of [33](1, 3, 5)-Cyclophane and Emission Spectral
Properties of [3n]Cyclophanes (n = 2-6).
雑誌名、巻号、ページ、出版年: J. AM. CHEM. SOC. 126(42): 13732-13741, 2004.

- 23) 著者: H Takemura, M Kotoku, M Yasutake, T Shinmyozu.
タイトル: 9-Fluoro-18-hydroxy-[3.3]metacyclophane: Synthesis and Estimation of a
C-F...H-O Hydrogen Bond.
雑誌名、巻号、ページ、出版年: Eur. J. Org. Chem.: 2019-2024, 2004.

● 分担研究者: 木戸秋 悟

- 24) 著者: I. K. Kwon, S Kidoaki, T Matsuda.
タイトル: Electrospun nano- to microfiber fabrics made of biodegradable copolyesters:
structural characteristics, mechanical properties and cell adhesion
potential.
雑誌名、巻号、ページ、出版年: Biomaterials 26: 3929-3939, 2005.

● 分担研究者: 新海 征治

- 25) 著者: M Mizu, K Koumoto, T Anada, K Sakurai, S Shinkai.
タイトル: Antisense oligonucleotides bound in the polysaccharide complex and the
enhanced antisense effect due to the low hydrolysis.
雑誌名、巻号、ページ、出版年: Biomaterials 25: 3117-3123, 2004.