

第1回国循ステントグラフト研究会

日時：平成16年11月2日（火曜日）午後7時
場所：国立循環器病センター研究所
先進医工学センター3F，カンファレンス室

平成16年11月2日

第1回ステントグラフト会議

平成16年度厚生労働科学研究費

課題名：内シャント狭窄治療を目的とした
ナノセラミックス複合化ステント
グラフトの開発

研究代表者：古菌 勉
分担者1：宮武邦夫（副院長）
分担者2：稲永 隆（内科腎臓部門医長）
分担者3：田中良一（放射線診療部医員）
依頼会社：日本ステントテクノロジー（株）

スケジュール

7:00-7:10	挨拶とプロジェクト概要	古菌（国循）
7:10-7:30	高分散性アパタイト粒子の開発	岡田（国循）
7:30-7:45	グラフト表面のアパタイト加工法の検討	益田（JTEC, 国循）
7:45-8:05	ステント製造法と本プロジェクトの克服すべき点	山下（JTEC）
8:05-8:20	ステントグラフトの現状と期待	田中（国循）
8:20-	総合討論	

研究の概要

日本透析医学会による2001年末による統計調査によると、我が国の透析人口は219,180人であり、人口100万人当たりの透析人口が1,721.9人と1983年から増加の一途をたどっている。本統計学的調査において、透析導入時のブラッドアクセスと生命予後との関係を解析すると、人工血管内シャント、外シャント、カテーテル留置にて透析導入した患者は、自己血管内シャントを用いて透析導入した患者よりも有意に高い死亡リスクを認めている。これは、導入時に自己血管内シャント以外を選択した場合の生命への危険性が高いことと同時に、長期生存のためには自己血管内シャントの保持がいかに重要であるかの証でもある。

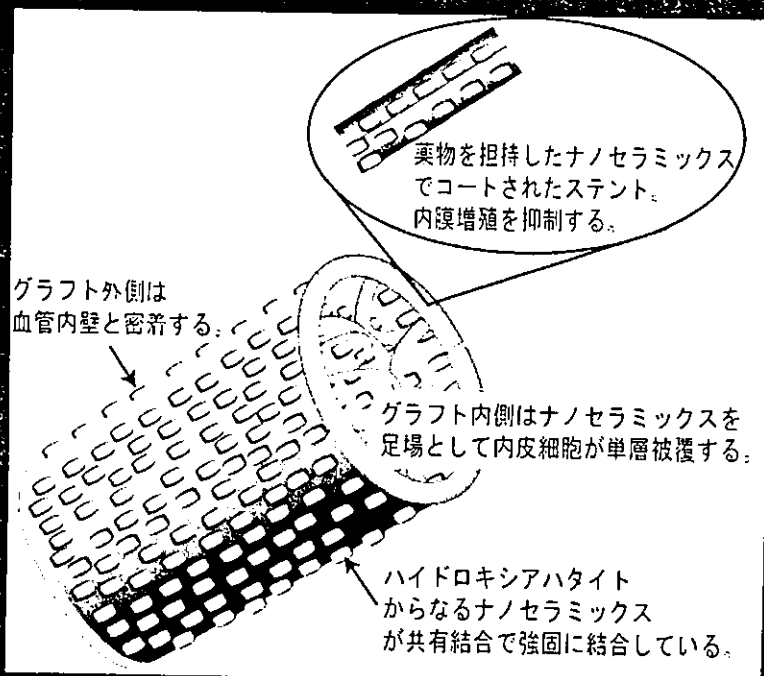
当該研究課題は、独自に開発したナノスケールのハイドロキシアパタイトセラミックスをシャント不全の治療に用いるステントに共有結合にて強固にコーティングした新規なナノセラミックス複合化ステントグラフトの開発を目的とする。

本デバイスの長期血管開存の発現機序は、早期に血管内皮細胞を材料表面に完成させて生体親和性を高め、局所の血液凝固および石灰化を抑制することによってもたらされる。またナノセラミックスコートにより自己血管内壁側での血流によるグラフトのずれを抑制し、さらにグラフト内側ではステント金属部から内膜増殖抑制物質を担持させた再狭窄防止システムを装備した高機能ナノステントグラフトの開発を目指す。

グラフトステントの外観



目的とするグラフトステントの模式図



実験計画

【平成16年度】

1. Hapナノ粒子の合成・形態制御：粒径の最適化--->OK
2. グラフト基材へのHapコーティング--->現在進行中（オゾン処理検討中）
3. チューブ状グラフト設計・作製--->ウベ循研（株）交渉中
4. 血管内皮細胞による培養実験*in vitro*（増殖挙動）--->未
5. スtent設計・作製--->日本ステントテクノロジー（株）

（直径0.3mm、材質：NiTi自己拡張型、Stent開放時内径3.5mm、長さ20mm）

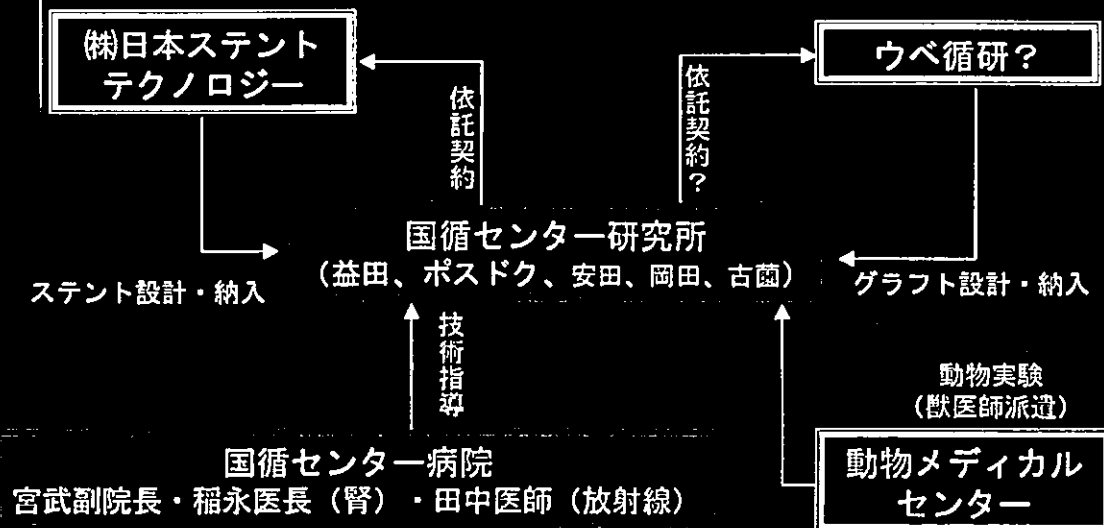
【平成17年度】

1. StentへのHapコーティング--->未
2. Hapへの薬物担持及び放出挙動--->未
3. 複合化Stentグラフトの製造--->未
4. Stentグラフトの細胞培養試験*in vitro*--->未

【平成18年度】

1. ウサギ腹部大動脈による試験，シャント狭窄モデル動物の作成--->未
2. 動物実験による効能試験--->未

研究組織図



高分散性アパタイト粒子の開発

岡田 正弘

国立循環器病センター研究所
先進医工学センター 生体工学部

2004.11.2

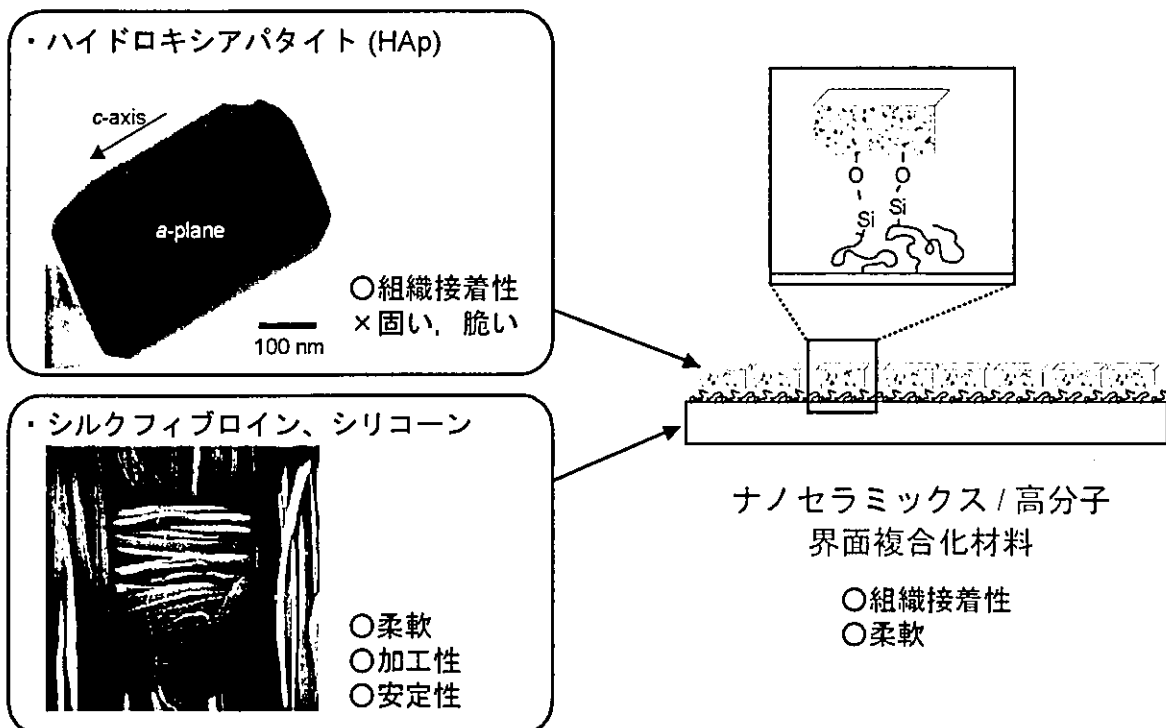
第1回 スtentグラフト会議



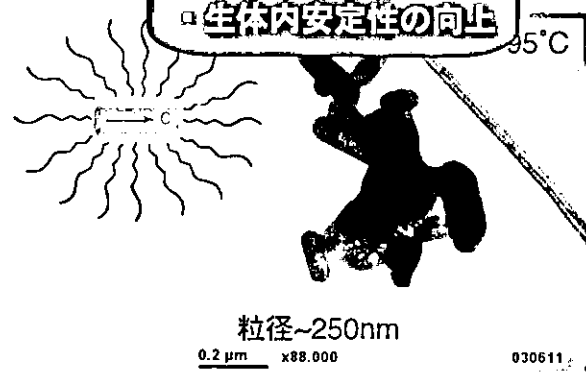
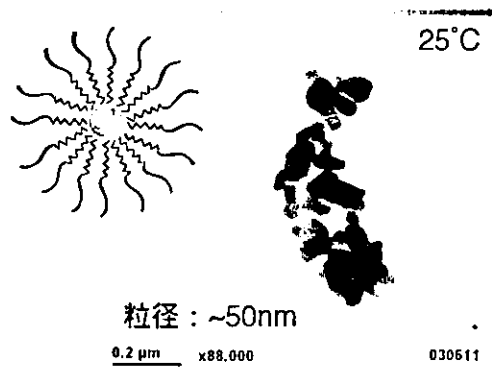
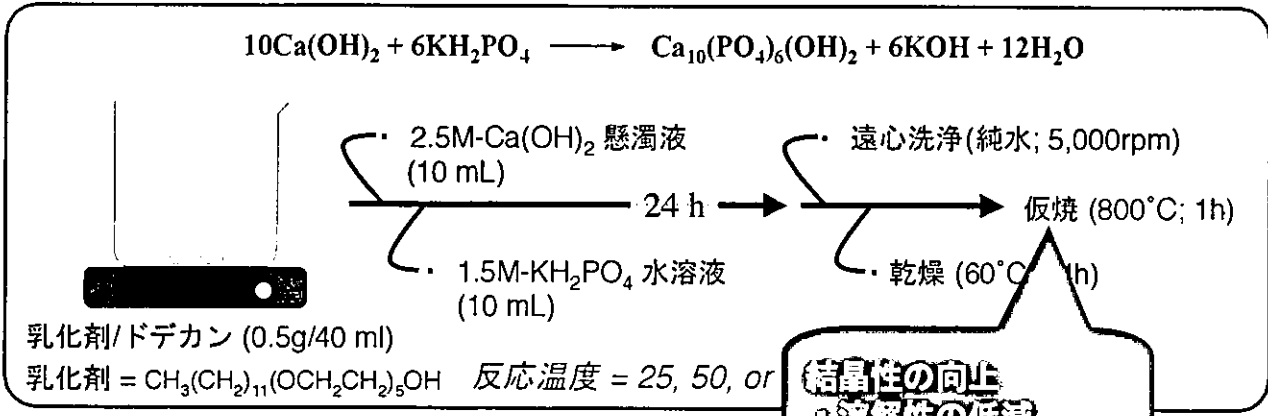
ナノセラミックス粒子/高分子基材の界面複合化 による生体融和材料の創出

基盤技術 1. 微小セラミックス粒子の形態制御

基盤技術 2. 共有結合による無機・有機の複合化

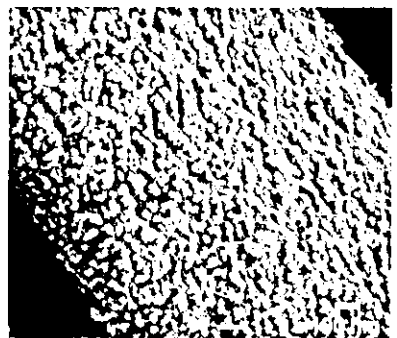


エマルジョン法によるHApナノ粒子の形態制御



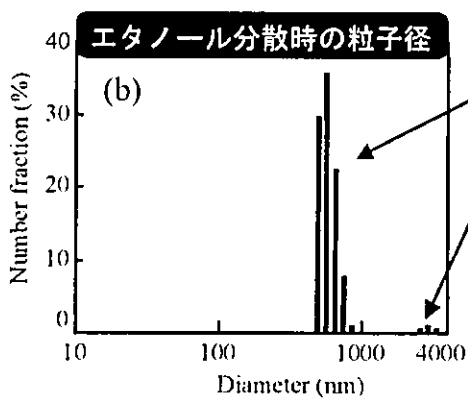
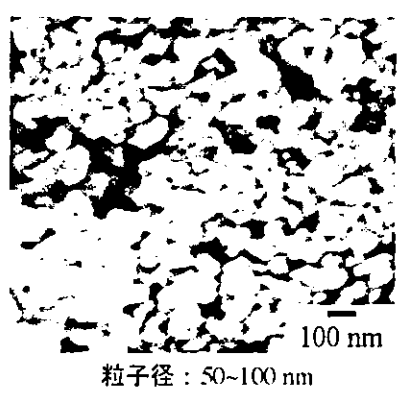
結晶性の向上
 □ 溶解性の低減
 □ 生体内安定性の向上

これまで作製した複合体の一例



被覆率: 65%
 状態: 数個の粒子が固まって被覆した箇所もある

図. HAp/シルク複合体表面の走査型電子顕微鏡像



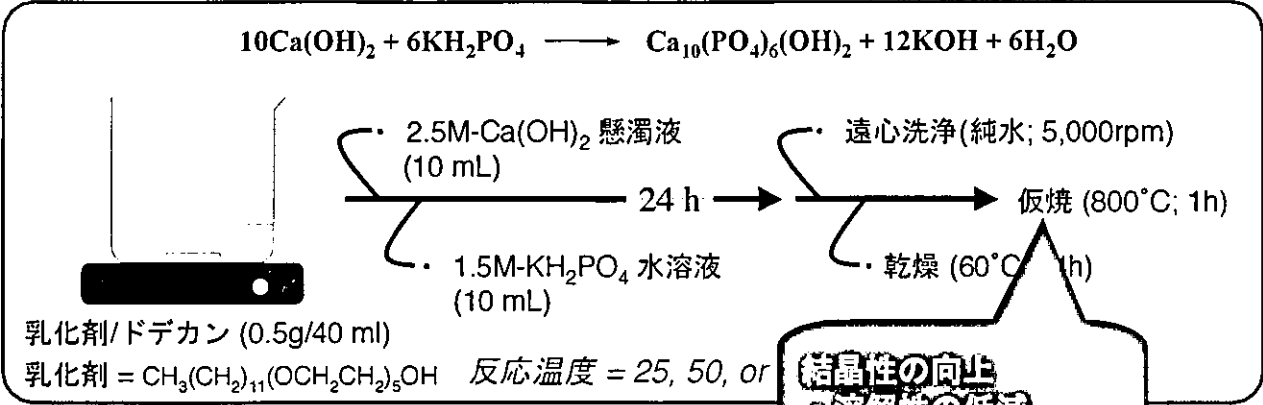
数個の粒子が固まって分散

粒子の高分散化

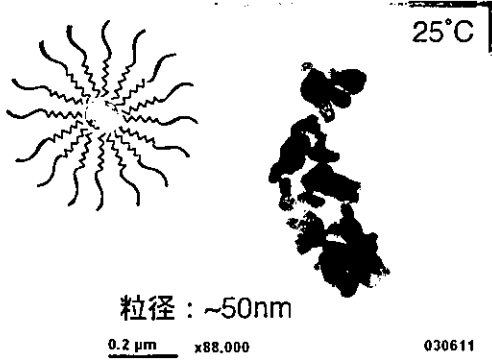
被覆状態の向上 (単層・細密充填)
 ↓
 複合体の性能向上

図. エマルジョン法(25°C)にて作製したHAp粒子の(a)走査型電気顕微鏡像: (b) エタノールへ分散させた場合の粒子径分布

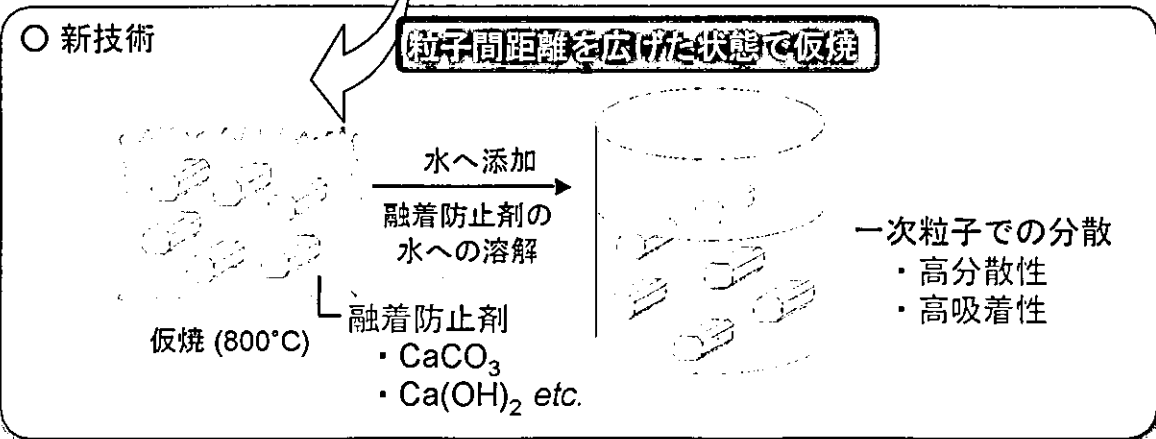
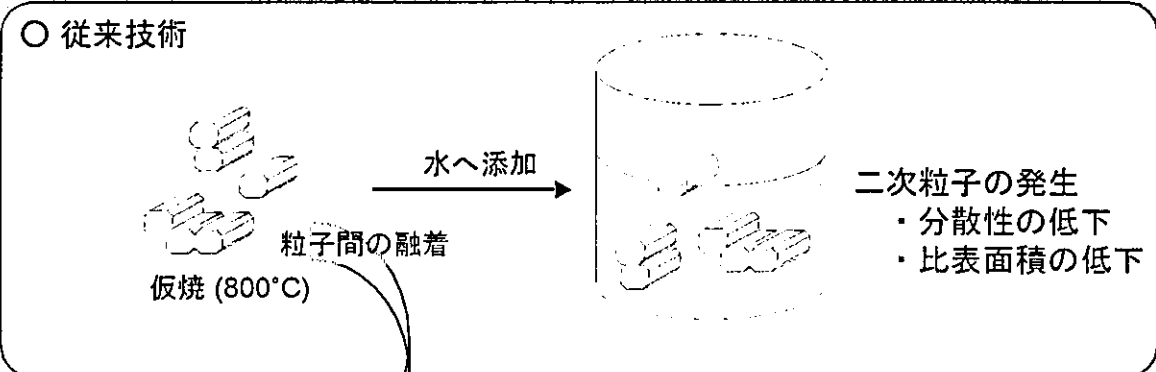
エマルジョン法によるHApナノ粒子の形態制御

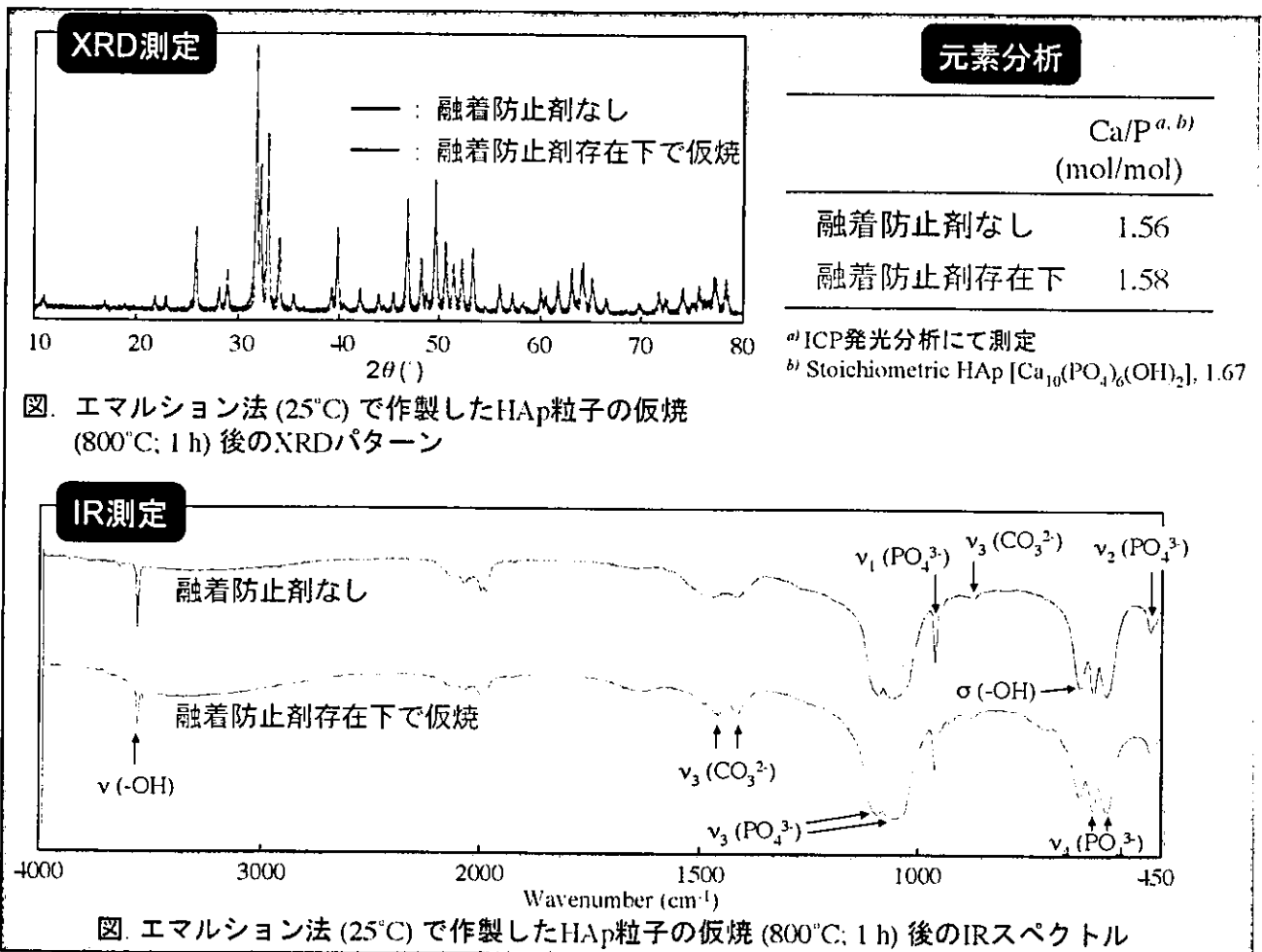
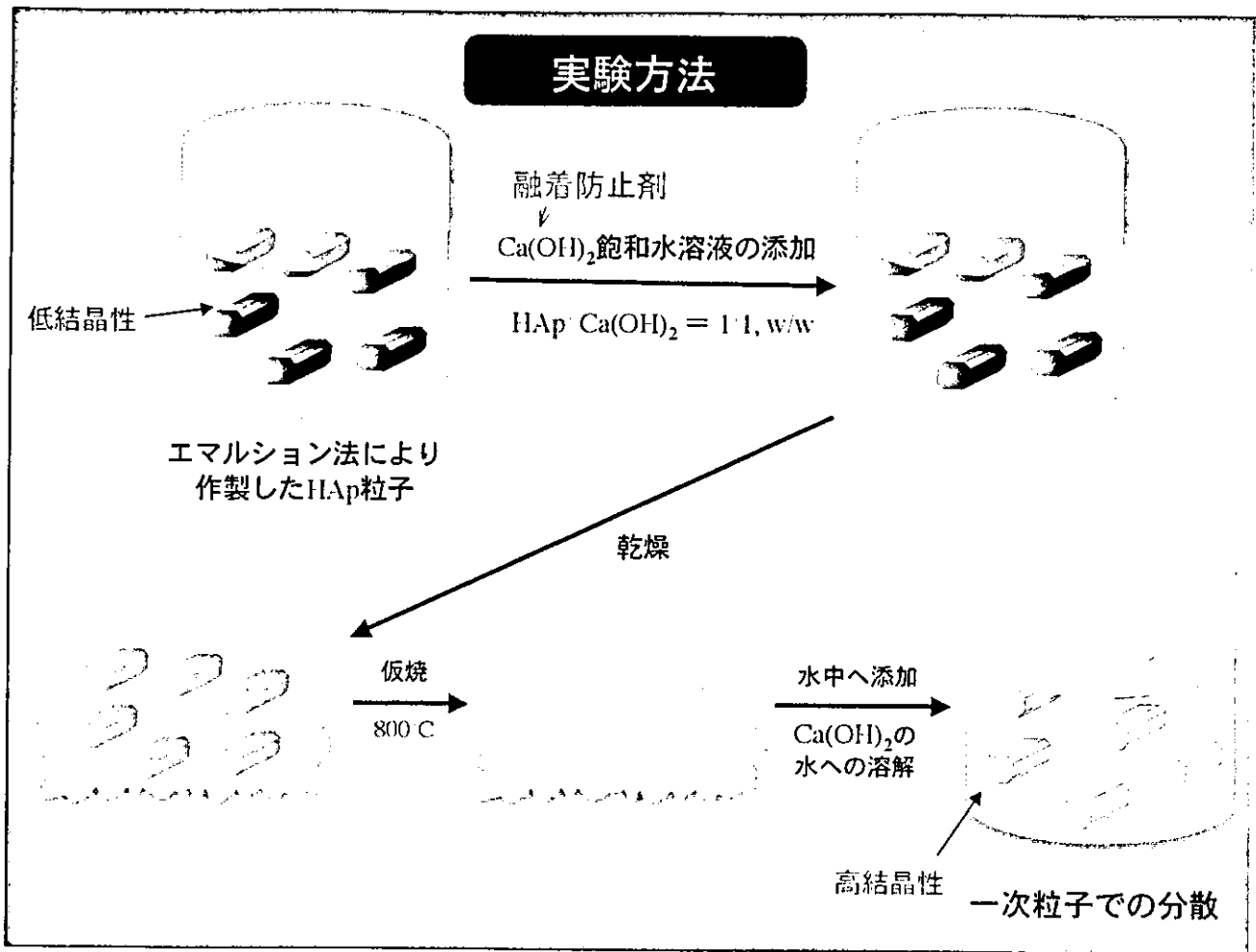


結晶性の向上
 □ 溶解性の低減
 □ 生体内安定性の向上



高分散性ハイドロキシアパタイト単結晶粒子の開発





電子線回折像 (融着防止剤存在下)

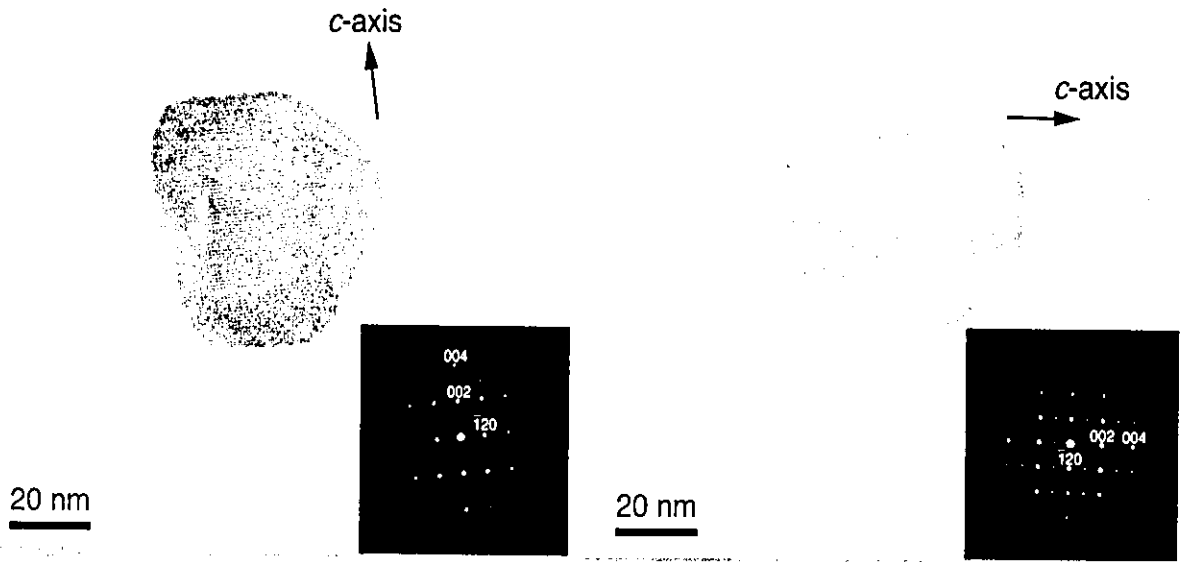


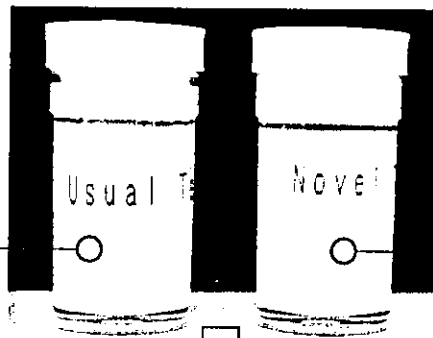
図. エマルション法 (25°C) で作製したHAp粒子の仮焼 (融着防止剤存在下; 800°C; 1 h) 後の電子顕微鏡像および電子線回折像

粒子の分散性の評価 ~沈降速度~

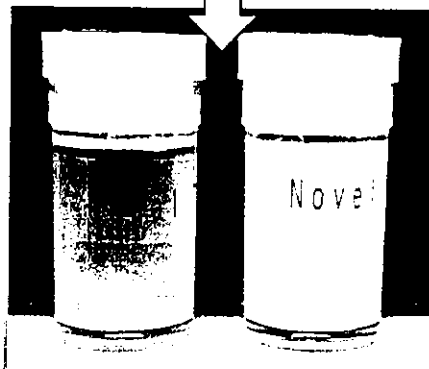
光学顕微鏡像



融着防止剤なし



12時間放置



光学顕微鏡像

融着防止剤存在下

媒体: エタノール
濃度: 5 wt%

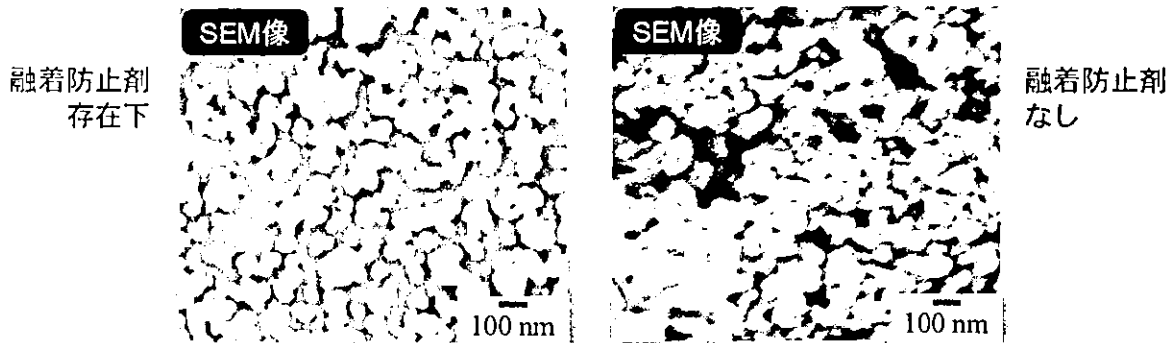
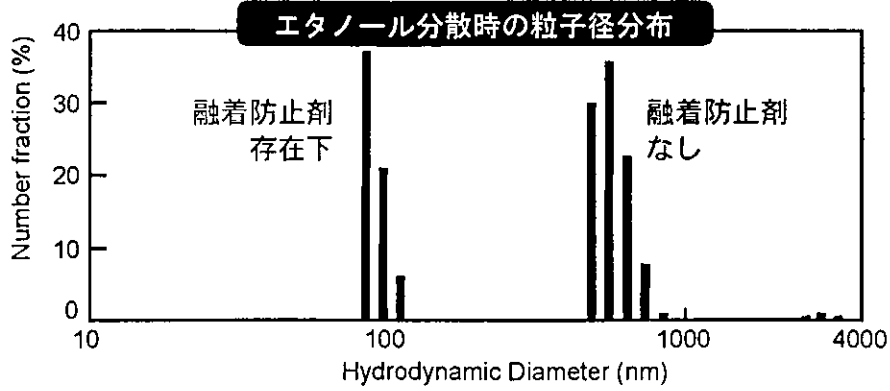


図. エマルション法 (25°C) で作製したHAp粒子の仮焼 (800°C: 1 h) 後の走査型電子顕微鏡像および動的光散乱により測定した粒子径分布(エタノール中)

・ロッド状HAp粒子の場合 (95°Cのエマルション法)

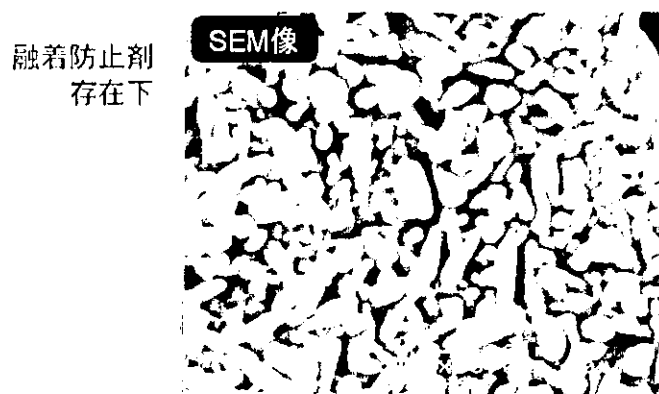
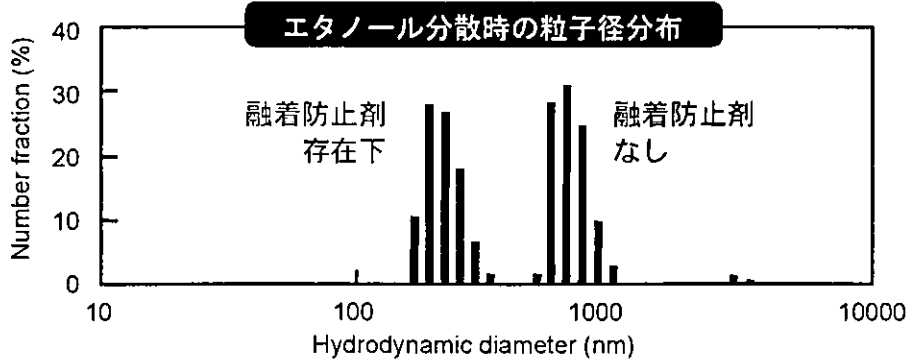


図. エマルション法 (95°C) で作製したHAp粒子の仮焼 (800°C: 1 h) 後の走査型電子顕微鏡像および動的光散乱により測定した粒子径分布(エタノール中)

シルク繊維との複合化

操作

1) HAp分散液の調製

- ・ HAp, 10 mg
- ・ アルコール, 1.0 ml



2) グラフト化SF (10 mg) の浸漬



3) 洗浄



4) カップリング反応

(140°C, 20 min, 1 mmHg)



5) プローブ型超音波にて洗浄

(20 kHz, 35 W, 3 min)

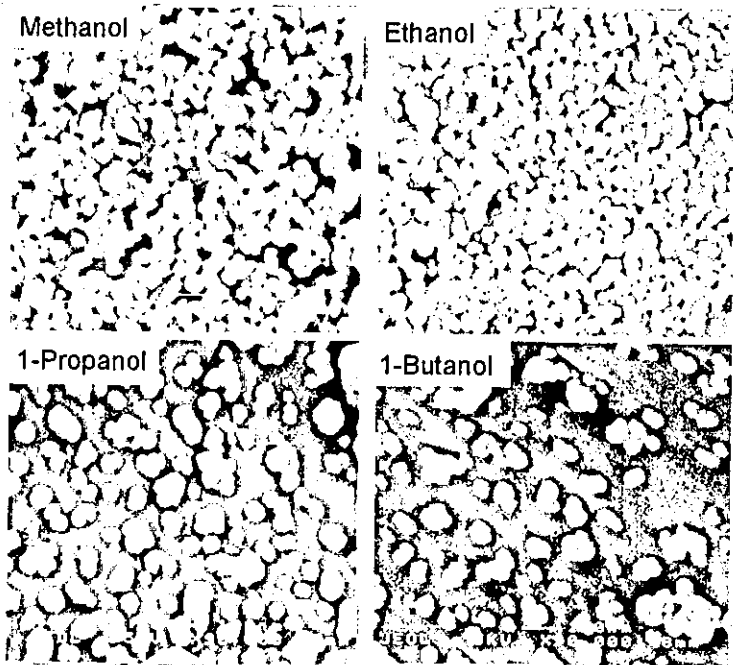


図. 各種アルコール媒体中でHApナノ粒子を繊維に吸着させて作製した複合体のSEM写真

まとめ

- ・ 仮焼時にHAp粒子間に融着防止剤を介在させることで、一次粒子で分散可能なナノサイズのHAp単結晶体の作製に成功した。



一次粒子での分散

- ・ 高分散性
- ・ 高比表面積
- ・ 高吸着性

用途展開

- ・ 界面複合材料 (経皮デバイス など)
- ・ 骨充填剤
- ・ 歯科用レジン, 歯磨剤
- ・ カラム用充填剤
- ・ イオン交換体
- ・ 固定化担体
- ・ ウイルス吸着フィルタ etc.

→ 従来材料の高機能化

第一回ステントグラフト

グラフト表面の ハイドロキシアパタイト加工法の検討

益田 美和

今回のプロジェクト

内シャント狭窄治療を目的とした
ナノセラミックス複合化ステントグラフト
の開発

独自に開発したナノスケールのハイドロキシアパタイトセラミックスをステントグラフトに共有結合にて強固にコーティングした新規なナノセラミックス複合化ステントグラフトの開発を目的とする

プロジェクト内での分担内における目的

1. グラフト基材 (PET) への
c-axis ハイドロキシアパタイトコーティング
2. 血管内皮細胞による培養実験

本実験系ではグラフトとして多く用いられているポリエチレテレフタレート(PET) と、生体適合性があり、接着性、密着性の高いハイドロキシアパタイト(HAP)の両方を用いることにより、HAPをPETに複合化させる。血管内でのズレを改善させるグラフトをつくる。

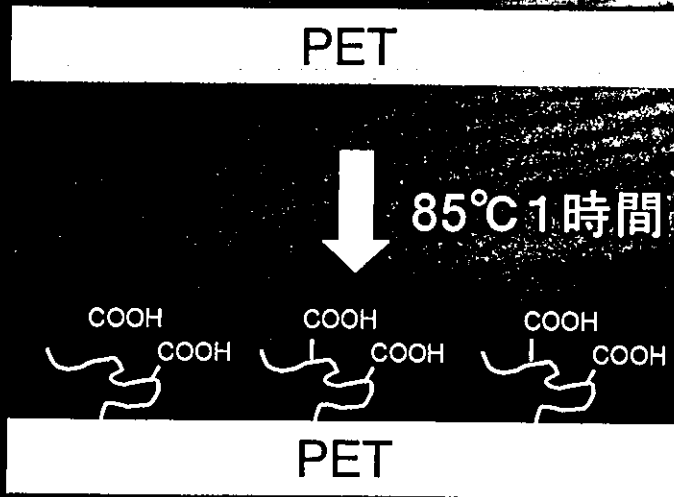
アパタイトナノ粒子/繊維複合体

- 1) HAp分散液の調製
[MeOH/toluene, 1/9 (v/v)]
- 2) グラフト化SFの浸漬
- 3) 洗浄
- 4) カップリング反応
(140°C, 20 min, 1 mmHg)
- 5) フロー型超音波にて洗浄
(20 kHz, 35 W, 3 min)



図. HAp/SF繊維複合体のSEM写真

前実験 H₂O₂によるグラフト基材(PET)



A. HEBEISH et al., J. Appl. Polym. Sci., 26, 3245-3251(1981)

前実験結果: PETのH₂O₂を用いた
 アクリル酸によるグラフト率

グラフト率 (wt-%)	
・メタノール	0.0
・水	0.2
・ベンジルアルコール	(論定値3.8%)

* = 重合増加率

本実験 グラフト基材(PET)の表面処理

PET



↓ 85°C 1時間



PET

PETの重合処理

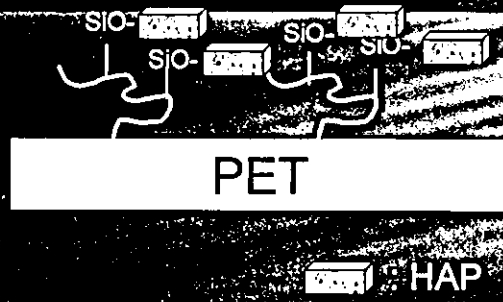
本実験結果: PETのH₂O₂を用いた
シランカップリング剤(KBE)
によるグラフト率

グラフト率 (GW%)

・ベンジルアルコール(重合時間1時間) 2.41

・ベンジルアルコール(重合時間4時間) 3.11

実験. PET-ハイドロキシアパタイト作製

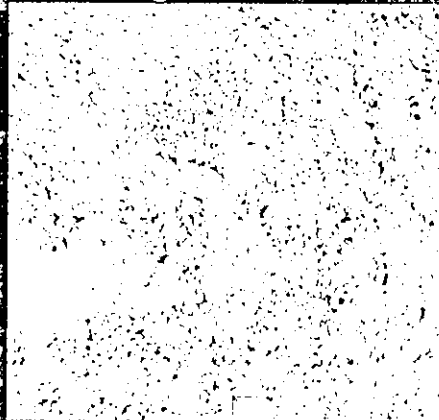


- 高分散性HAP溶媒中に試料を入れて攪拌
- 80°C 減圧下 30分乾燥
- エタノール中で3分間超音波処理

FIG.1

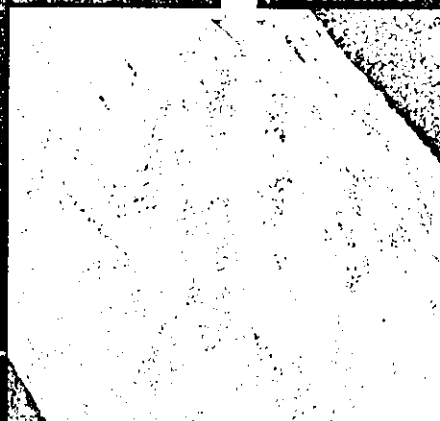
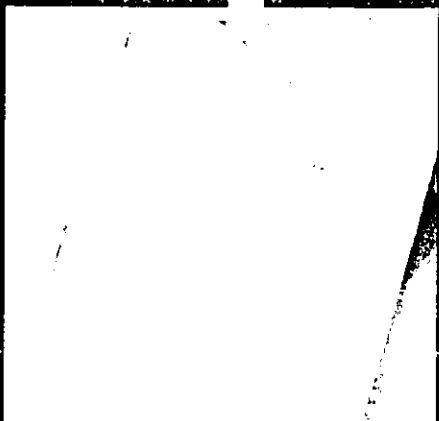
Original PET+HAP

KBEをグラフト化したPET+HAP



超音波照射

超音波照射



今後のプロジェクトを進行 するための予定1

・グラフト率の増加 → 4%以下なので10%が妥当



HAPの安定な結合力

PETのエステル結合を切断して、表面にOH基を出し、そこを足場にして高分子化を行う

STEPHANE ROUX et al., *J. Poly Sci. Part A: Poly Chem.*, 41, 1347-1359 (2003)

今後のプロジェクトを進行 するための予定2

- 1 HAP複合体に血管内皮細胞が接着するか検討する
- 2 現実の人工血管の複合化
- 3 人工血管複合化に血管内皮細胞が接着するか検討する

第2回国循ステントグラフト研究会

日時：平成16年11月15日（月）午後7時

場所：国立循環器病センター研究所

先進医工学センター3F，カンファレンス室

第2回ステントグラフト会議 ウベ循研及び中浜医長を加えた説明会

出席者

【国 循】

- ・ 田中医師（放射線診療部）
- ・ 中浜医長（高血圧・腎部門）
- ・ 角野獣医師（動物メディカルセンター）
- ・ 古菌室長（生体工学部）

【企 業】

- ・ ウベ循研
- ・ 山下社長（日本ステントテクノロジー）
- ・ 益田研究員（同上）

平成16年度厚生労働科学研究費

課題名：内シャント狭窄治療を目的とした
ナノセラミックス複合化ステント
グラフトの開発

研究代表者：古菌 勉

分担者1：宮武邦夫（副院長）

分担者2：稲永 隆（高血圧・腎臓部門医長）

分担者3：田中良一（放射線診療部医員）

研究協力者：中浜 肇（高血圧・腎臓部門医長）

依頼会社：日本ステントテクノロジー（株）

研究協力会社：（株）ウベ循研

-1-

研究の概要

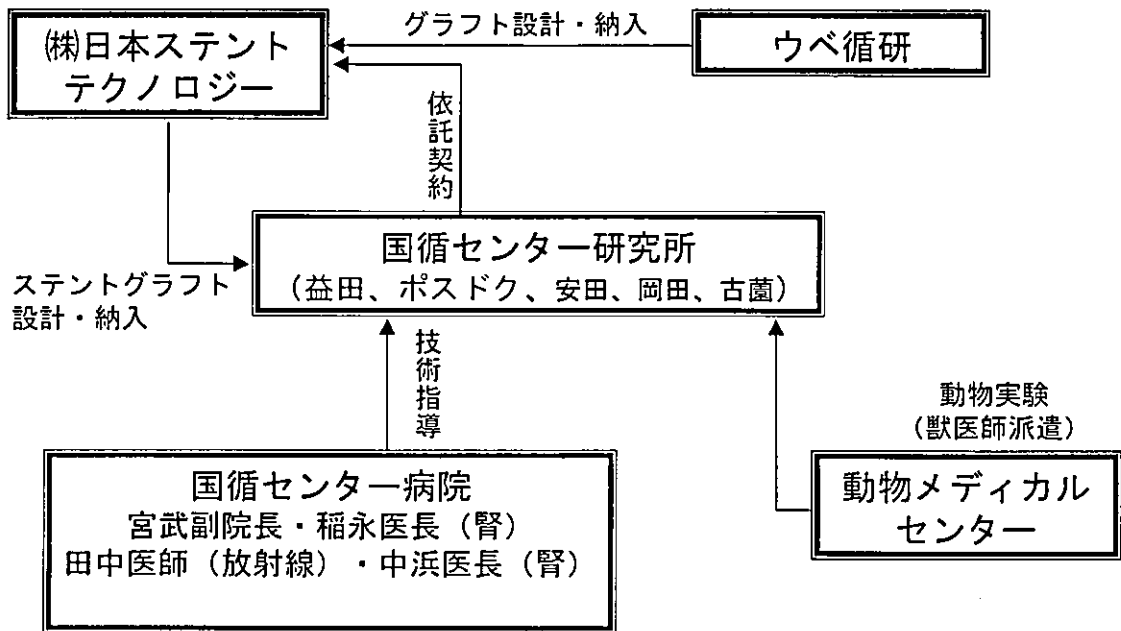
日本透析医学会による2001年末による統計調査によると、我が国の透析人口は219,183人であり、人口100万人当たりの透析人口が1,721.9人と1983年から増加の一途をたどっている。本統計学的調査において、透析導入時のブラッドアクセスと生命予後との関係を解析すると、人工血管内シャント、外シャント、カテーテル留置にて透析導入した患者は、自己血管内シャントを用いて透析導入した患者よりも有意に高い死亡リスクを認めている。これは、導入時に自己血管内シャント以外を選択した場合の生命への危険性が高いことと同時に、長期生存のためには自己血管内シャントの保持がいかに重要であるかの証でもある。

当該研究課題は、独自に開発したナノスケールのハイドロキシアパタイトセラミックスをシャント不全の治療に用いるステントに共有結合にて強固にコーティングした新規なナノセラミックス複合化ステントグラフトの開発を目的とする。

本デバイスの長期血管開存の発現機序は、¹⁾早期に血管内皮細胞を材料表面に完成させて生体親和性を高め、局所の血液凝固および石灰化を抑制することによってもたらされる。また²⁾ナノセラミックスコートにより自己血管内壁側での血流によるグラフトのずれを抑制し、さらにグラフト内側ではステント金属部から内膜増殖抑制物質を担持させた再狭窄防止システムを装備した高機能ナノステントグラフトの開発を目指す。

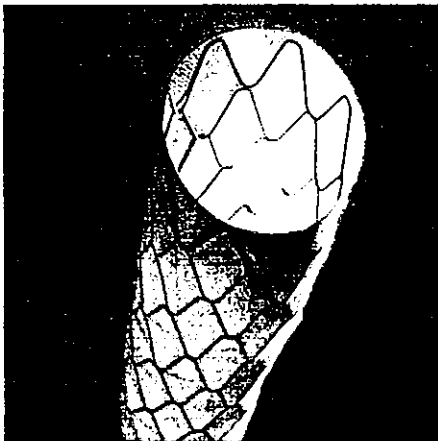
-2-

研究組織図

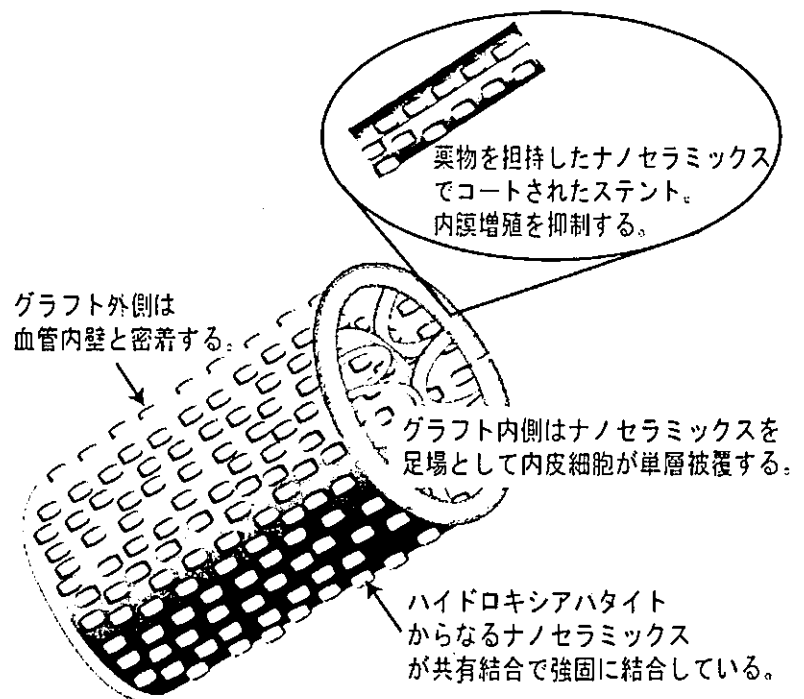


-3-

グラフトステントの外観



目的とするグラフトステントの模式図



-4-