

厚生労働科学研究費補助金

身体機能解析・補助・代替機器開発研究事業

新しい生体接着理論に基づく
血管付着機能を有するステントの開発に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 岸田 晶夫

平成18年（2006）年 4月

目次

I. 総括研究報告	
新しい生体接着理論に基づく血管付着機能を有するステントの開発に関する研究 岸田晶夫	----- 1
II. 分担研究報告	
1. 超音波振動による生体組織－高分子材料接着に関する研究 岸田晶夫	----- 1 3
2. 超音波波動による生体組織接着現象の評価 樋上哲哉	----- 2 7
3. 生体組織の接着現象の解明に関する研究 増澤徹	----- 3 3
4. ナノ振動子の位置計測を目的とした集積化磁気センサに関する研究 木村孝之	----- 4 7
5. ナノ振動波動装置と超音波試験装置に関する研究 山本芳郎	----- 7 1
III. 研究成果の観光に関する一覧表	----- 8 7
IV. 研究成果の刊行物・印刷	----- 9 1

新しい生体接着理論に基づく血管付着機能を有するステント開発に関する研究

主任研究者 岸田晶夫 東京医科歯科大学生体材料工学研究所教授

研究要旨 ナノ振動によって生体と接着するステントの開発のためには、ナノ振動による接着理論の確立と、ナノ装置の開発に関する詳細な検討が必要である。本研究では、超音波メスを用いた術式に関する基礎的な検討を行った。素材としては、高分子材料を用いた。種々の超音波メスによる接着条件にて生体－素材と接着について詳細に検討した結果、いくつかの素材と生体組織との接着が可能であり、超音波メスの広範な利用の可能性が示された。

分担研究者

- (1) 岸田 晶夫・東京医科歯科大学生体材料工学研究所 教授
- (2) 樋上 哲哉・札幌医科大学医学部 教授
- (3) 増澤徹・茨城大学工学部 教授
- (4) 木村 孝之・茨城大学工学部 助教授
- (5) 山本芳郎・株式会社ミワテック 研究員

A. 研究目的

狭心症や心筋梗塞などの虚血性心疾患や動脈瘤の患者数は年々増加しており、国内では約100万人が罹患し、年に7万人以上が亡くなっている。これらの疾患は主として血管の物理的機能不全に起因しており、治療法としては内科的手法よりも外科的手法の方が効果が高く適している。しかしながら、心臓や大動脈に関連した手術であるため、生命に関わる危険が伴う、患者への侵襲が大きく入院日数も長くなる、病院・医師ごとの治療成績にばらつきが生じやすいなどの問題点がある。これらを解決する医療技術の一つとして、近年ステントおよびステントグラフト（ステント法）が注目されている。ステント法は患者への侵襲も少なく、優れた方法であるがいくつかの問題も指摘されている。そのうち、ステント法の治療成績に直接影響する要因として、ステントの血管との密着性に起因する問題点が大きな割合を占める。すなわち、ステントの挿入位置からの逸脱、動脈瘤治療時のステントグラフトの密着性の低さから生じる瘤破裂や再手術の必要性などである。ステントは基本構造として金属製のフレームからなり、ステントグラフトはステントに人工血

管をかぶせた形状をしている。いずれも基本的には金属製フレームの拡張力によって血管との密着性を確保する機構である。また、一部研究途上のものにはステントをカバーする人工血管素材を改質し、生体血管との一体化をはかるものもある。しかしながら、ステント挿入の対象になる病変血管の多くは、動脈硬化あるいは石灰化により弾力性を喪失していたり、内皮細胞の脱落や平滑筋細胞の過増殖等の再生異常が生じており、従来の考え方では問題の解決は容易ではない。

本研究事業では、新しい生体組織接着理論に基づくステント等の人工材料と生体との接着の新手法の基礎研究とそれを応用した血管接着性ステントの開発を目的とする。基盤となる生体組織接着理論は、これまでに導き出された多孔質構造基材とナノ振動による生体組織誘導法と、超音波波動によるタンパク質変性による生体接着を組み合わせたものである。生体組織誘導法とは、ステント等の人工材料を多孔質化し、この内部への生体組織の進入をナノ振動による細胞増殖刺激導入によって誘導するものである。この際、ステント表面の物理加工と細胞接着性を付与するための化学処理およびステントをナノ振動させるデバイスの技術開発が必要である。また、ナノ振動の振動周波数を超音波領域に拡大することにより、タンパク質改質による生体組織接着の促進も期待できる。ステントに生体親和性を与えるために化学処理する技術と、カテーテルに組み込んだマイクロデバイスを用いたナノ振動波動による生体組織誘導・接着を組み合わせることによって、世界でも類を見ない生体内（血管内）での材料・生体組織接着加工の実現を目的とする。

B. 研究方法

超音波振動による生体組織－高分子材料接着について

超音波振動発生装置としては、Harmonic Scalpel II (ETHICON ENDO-SURGERY a Johnson & Johnson company)を用いた。振動周波数 55.5kHz、電力出力 LV1～5、振幅が 50～100 μm の仕様である。ハンドピースとしては、ハンドグリップの LaparoSonic Coagulating Shears (LCS) 型とブレード型を使用した。ブタ大動脈を購入し、血管軸に沿って開き、1 cm×1 cm に細切した。このブタ大動脈を用いて、様々な条件での高分子材料との接着試験を行い、生体組織への損傷について検討した。具体的には、以下のように検討した。まず、超音波メスによる生体へのダメージを検討するため、出力レベル、圧着時間をそれぞれレベル 1、3、5 と 1、3、5、10 秒にて超音波処理を行った。次に、種々の糸状の高分子素材を用いて、血管の内壁面あるいは外壁面に当て、超音波ブレードの振動部を高分子素材あるいは血管に当てて、上記の条件にて接着を試みた。ここで、血管の接着面をトリミングすることで、余分なタンパク質の除去を行い、高分子素材との接着性に与える影響を検討した。さらに、糸状の高分子素材を有機溶剤に溶解し、所定サイズの容器に移した後、溶剤を真空中にて気化させ、フィルム状に成形した。また、フィルム状の人工化合物として、上記の高分子素材に加え、ピニロン、ウレタン、コラーゲン、プラチナを用いた。組織損傷については、ヘマトキシリン－エオジン染色により組織染色学的に評価した。

超音波振動による生体組織接着現象の評価について

超音波メスを用いた生体血管の ITA のスケルトナイゼーションに関する検討を行うことで、生体組織の接着現象の評価を行った。超音波振動発生装置としては、Harmonic Scalpel II (ETHICON ENDO-SURGERY a Johnson & Johnson company)、SONOPET (株式会社エムアンドエム)を用いた。Harmonic Scalpel II の仕様は、振動周波数 55.5kHz 電力出力 LV1～5、振幅が 50～100 μm である。SONOPET の仕様は、振動周波数 25 kHz、振幅が最大 320 μm である。ハンドピースとしては、ハンドグリップの LaparoSonic Coagulating Shears (LCS) 型とブレード型を使用した。ブタ大動脈を用い、超音波メスの及ぼす組織損傷について染色学的手法により検討した。また、冠動脈パイ

パス手術における血管接着時に、サーモグラフィを用いて血管接着温度の測定を行った。血管を接着する際には、超音波メスの刃先を血管に押し付けて血管を切りながら接着させた。

生体組織の接着現象の解明に関する研究について

実験装置の設計では、周波数約 25kHz で、共振周波数により変化する超音波発生装置(ミワテック製)を用いた。振幅は、30～180 μm まで変化させさせることができる。超音波メスの刃の材質は Ti-6Al-4V で、先端は平らな形状をしているものを用いた。超音波メスを用いて対象物に荷重を負荷するため、超音波振動子与圧装置を設計した。超音波振動子与圧装置において、超音波メスを水平方向に設置する場合は、メス取り付け部にはマイクロメータとベアリング・リニアスライダ・分銅を用いたものを考え、さらに、対象物におけるメスの向きにおいて、水平方向と垂直方向に荷重が負荷できるような装置とした。対象物に与えた荷重を計測するため、荷重変換器がメス先にくるように設計した。対象物への荷重を測定するため、荷重変換器(NEC 三栄製:T1)を選定した。荷重変換器は圧縮両用となっている。荷重変換器に直流定電圧ブリッジ電源形ストレンアンプ(NEC 三栄製:AS2503)を接続し、荷重測定を行った。製作した超音波振動子与圧装置のメス取り付け部にはマイクロメータとベアリング・リニアスライダ・分銅を用いた。マイクロメータは移動量±6.5mm、分解能 0.0005mm である。分銅は、超音波メスとメス取り付け部の治具の重さとつりあになる重さのものをワイヤーでつるし、ベアリングに乗せ、任意の分銅を乗せることで一定の荷重を負荷できるようにした。また、荷重変換器のねじ部に資料台を取り付け、押し付け荷重を計測できるようにした。対象物に荷重を与えたときに発生する温度や周波数の影響を調べるため、超音波メス癒着基礎現象計測装置を構築した。超音波メスが対象物に荷重を負荷したときに発生する熱を測定するため、サーモグラフィ(NEC 三栄製:TH9100ML)を選定した。さらに 95 μm 近接拡大レンズ(NEC 三栄製:TH91-386)によって、最小分解能 95 μm まで拡大し、より詳細な温度計測をできるようにした。超音波メスが対象物に荷重を負荷したときの周波数を測定するため、周波数カウンタ(東陽テクニカ:CNT-90)を選定した。NATIONAL INSTRUMENTS 社製の DAQ デバイス DAQPad-6051 を用い、同社の LabVIEW ソフトウ

エアで、荷重と周波数を自動的に計測するプログラムを作成した。超音波振動を与えずに温度のみで血管の接着が可能か調べるため、温度制御可能な電気ごて（日本ポンコート：M50-TB-150）を選定した。温度制御方式はPID制御で、温度範囲は0℃～500℃となっている。電気ごての先端は立方体である。

超音波以下の振動付加で、血管の接着が可能か調べるため、 piezo振動子をケースに封入したオリジナルの振動子を開発した。piezo振動子にはP-845.10（Physik Instrumente社）を用いた。血管および血管同士の接着において、引張強さを評価するため、引張試験機を製作した。材料試験機としては下記の機能を持っていることが要求される。まず、試験機が負荷し得る最大荷重が必要な大きさであること。大きくなれば、反力枠の強度はもちろんのこと、変形が許容以下になるように剛性も高くなければならない。次に、変位速度や荷重速度の制御が行えること。第一に、一定のひずみ速度の下で載荷できることが望ましい。また、ひずみ速度は、ある範囲内で変えることができれば理想的である。なぜならば、材料の力学的性質（剛性や強度など）はひずみ速度に依存するためである。製作した引張試験機の概略は以下に示す。DAQデバイスPCI-6251を用い、LabVIEWソフトウェアで作成したプログラムにより、アクチュエータの移動距離と荷重を自動的に計測する。血管を引張るため、ステッピングモータにボールネジを組み込んだアクチュエータ（オリエンタルモータ製：DRL28PB1G-03）を選定した。ボールネジの先端にリニアガイドが取り付けられており、モータを駆動させることにより、ガイドが直動運動する。血管に引張を与えたときの荷重を測定するため、超音波振動子与圧装置で用いた荷重変換器（NEC三栄製：T1）を選定した。血管を把持するため、紙やすり（40番）を両面テープで接着させたアクリルで血管をはさみ、ねじ止めする。

次に、接着現象の解析について、上記の装置類を用いて、以下の検討を行った。次に、超音波メスによる血管同士の接着実験として、超音波振動子与圧装置を用いて超音波メスを血管に押し当て、このときの荷重、温度を測定した。血管は豚の大動脈を使用した。実験条件は、超音波メスの振動振幅180 μ m、押し当て時間は1sから7sまで1sきざみで変化させ、各条件において2回ずつ測定した。さらに、温度、圧力荷重と超音波以下のナノ振動負荷による接着実験として、血管は豚の大動脈を使用し、超音波振動子与圧装置に電気

ごて、piezo振動子を封入したナノ振動子を設置して、超音波メスによる接着時の血管寸法と同じく短冊状にした血管を重ね合わせた上から負荷をかけ接着実験を行った。このときの荷重、温度を測定した。実験条件は、サーモグラフィでの計測温度が110℃となるように電気ごてを調整した。piezo振動子の周波数と振幅は、静電容量変位計を用いて計測した。力学強度測定として、血管の引張試験を行った。把持部で切断されず、かつ、血管の中心で切断されるように血管をダンベル型にした。血管サイズを厳密に計測するため、血管をデジタルカメラによって撮影し、画像ソフト（Scion Image）を用いてピクセル数より血管の幅と厚さを測定した。引張速度は4mm/minとして5回の測定を行った。また、接着させた血管同士の接着強度評価実験について、超音波エネルギー、または、温度と圧力とナノ振動により接着させた血管において、接着強さを調べるため、引張試験を行った。引張速度は4mm/minとした。

ナノ振動子の位置計測を目的とした集積化磁気センサに関する研究について

本研究では、ステントの位置を計測するための磁気センサの特性評価、ならびに改善を行った。センサはCMOSプロセスによる集積化デバイス技術を用いて作成した。さらにその読み出し速度や感度特性の評価を行った。

ナノ振動波動装置と超音波試験装置に関する研究について

超音波波動による接着メカニズムを解明するために、生体組織に超音波波動を与えた場合の上昇温度や押し付け荷重などを計測できる、超音波メス現象観察システムを開発した。超音波メス現象観察システムは観察したい現象によって2通りのパターンをとる。1つ目は超音波メスが水平に試料に当たるシステムで、2つ目は超音波メスが垂直に試料に当たるシステムである。水平方向、垂直方向共に荷重変換器（NEC三栄T1-1000-240 定格容量1000gf）によって超音波メス刃先荷重を測定し、サーモグラフィ（NEC三栄サーモトレーサTH9100 ML）によって超音波メス刃先温度および対象とする生体組織の温度を測定し、周波数カウンタ（Pendulum CNT-90）で超音波メス動作周波数を測定した。超音波メス現象観察システムは刃先荷重、刃先温度、共振周波数の3種類の測定を同時に行うことが出来るものとした。超音波メスの共振周波数を測定するため、

共振周波数測定回路を作成した。また、超音波メスの振動振幅を制御するため振動振幅制御回路を作成した。超音波メスの実際の振動振幅を測定するため振動振幅測定装置を作成した。振動振幅測定にはレーザ変位計 (KEYENCE ヘッド部 LK-G10 & コントローラ部 LK-GD500 電源ユニット KZ-U3) を用いた。

C. 研究結果

超音波振動による生体組織－高分子材料接着について

ハンドピースとしては、ブレード型、LCS型があり、ブレード型が一般的に用いられる。ブレード型は刃先で血管を押さえて超音波処理することで凝固しながら切開することが出来る。一方、LCS型は血管を挟みこみ、超音波処理を施すことで凝固しながら切開する。LCS型の刃先の一方は固定されており、もう一方が超音波振動する。挟み込み（圧力）、振動させることで、熱エネルギーが生み出される。ブタ大動脈を血管軸に沿って開き、1 cm×1 cm に細切した。大動脈を挟み込み、種々の条件にて超音波処理した。まず、組織損傷を調べるために、種々のレベル、時間にて処理した。レベル1にて超音波処理した結果、1、3、5、10秒では組織損傷は観察されなかった。レベル3においては、1秒ではほとんど損傷は観察できず、3秒でも若干損傷が認められた程度であり、5秒以上では処理部分が陥没し、損傷が見られた。最大レベルであるレベル5においては、1秒では少々の組織陥没が見られたが、損傷程度は低いと考えられる。3秒以上では、組織陥没と組織損傷が認められ、さらに、5秒以上では、切断された。次に、糸状の高分子材料を用い、超音波振動による血管との接着を試みた。この際、血管の内壁側、外壁側での接着性を検討した。用いる高分子材料により、違いが見られ、一部の高分子で接着が示された。また、医療用縫合糸であるシルク、polypropylene、polyglactin、polyesterを用いて、同様の超音波振動を行ったが、そのほとんどで接着は認められなかった。接着した高分子材料を有機溶剤に溶解し、キャスト方にてフィルム作製を行った。まず、有機溶剤への溶解性について検討した。有機溶剤としては、ジエチルエーテル、クロロホルム、アセトン、キシレン、DMFを用いた。DMFにて溶解性が示されたことから、種々の濃度でDMFに溶解し、所定量をシャーレに入れ、真空中、80℃にてキャストフィルムを

作製した。種々の厚みのフィルムが得られ、大動脈との接着実験を超音波振動により行った。出力レベル3、5で、圧着時間を1、3秒にて検討した。膜厚が薄いほど、低レベル、短時間での超音波振動により組織接着が可能であり、膜厚が厚いほど、高レベル、長時間の超音波振動を要する傾向であった。しかしながら、高レベル、長時間の超音波振動では、過剰の熱エネルギーのためフィルムが切断された。また、組織損傷については、低レベル、短時間の超音波振動では、ほとんど損傷は見受けられなかったが、高レベル、長時間の超音波振動により、損傷が認められた。また、フィルム状の素材として、ビニロン、ウレタン、ダクロン、セロハン、ポリエステル、コラーゲンを用い、超音波振動による血管との接着を検討した。人工高分子であるビニロン、ウレタンは、超音波振動により血管との接着が示された。しかし、ポリエステル、ダクロン、セロハンは、超音波振動により血管との接着は示されなかった。おそらく、融点が影響していると考えられる。一方、天然の高分子であり、血管の成分の一つであるコラーゲンは、乾燥状態では接着が示されなかったが、ある程度、湿らすことで接着が可能であった。これは、振動・熱エネルギーの伝達が関係したものと考えられる。組織損傷について、超音波振動後の血管組織についてヘマトキシリン－エオジン染色にて評価した。用いたサンプルは、ESPAフィルム（膜厚0.3 mm、0.07 mm）、ビニロン、ウレタン、コラーゲンである。接着した標本を2.5%グルタルアルデヒドで固定し、ヘマトキシリン－エオジン染色を行った。低レベル、短時間の超音波振動ほど組織損傷程度は低く、高レベル、長時間の超音波振動により組織損傷が激しかった。これは、目視観察の結果と同様であった。ヘマトキシリン－エオジン染色による組織染色学的評価においては、より詳細な知見が得られた。フィルムを使用しない場合、レベル3、1秒間の超音波振動では、表面での細胞の破壊は認められるものの、コラーゲンの変性は見られなかった。レベル3、3秒間の超音波振動では、表面付近での細胞の破壊とさらに深い部位での細胞破壊が若干観察されたが、コラーゲンの変性・破壊は認められなかった。一方、レベル5、1秒間では、細胞の破壊に加え、コラーゲンの変性が若干認められ、構造の劣化が示された。さらに、レベル5、3秒間の超音波振動では、コラーゲン変性が進行し、構造の劣化が著しかった。高分子フィルムを用いた場合、厚みの影響が示された。レベ

ル3、1秒間の超音波振動では、膜厚による違いは得られず、フィルムを使用しない場合と同程度であり、表面付近での細胞破壊は観察されるものの、コラーゲンの変性は見られなかった。レベル3、3秒間の超音波振動でも膜厚による違いは得られず、フィルムを使用しない場合と同程度であり、表面付近とさらに深度深い部位での細胞破壊がみられ、コラーゲンの変性・破壊は認められなかった。レベル5、1秒間の超音波振動でも膜厚による違いは得られず、フィルムを使用しない場合と同程度であり、細胞の破壊に加え、コラーゲンの変性が若干認められ、構造の劣化が示された。レベル5、1秒間の超音波振動でも膜厚による違いは得られず、コラーゲン変性が進行し、構造の劣化が著しく、フィルムを使用しない場合と同程度であった。ビニロン、ウレタン、コラーゲンを使用した場合も、その物質の影響はほとんど示されず、組織損傷には、出力レベルと振動時間が影響することが分かった。

超音波波動による生体組織接着現象の評価について

ITAの採取法としては、従来のthick pedicle法とultrasonic complete skeletonization法がある。従来のthick pedicle法では、その長さや流量に関して若干の懸念があり、両側ITAの採取は胸骨への血流低下に基づく縦隔炎発生の懸念もあり一般的ではなかった。これに対して、超音波メスを用いるultrasonic complete skeletonization法はITA活用法に対する考え方を根底から変えるに値する有用かつ安全な方法である。ultrasonic complete skeletonization法採取したITAでは手術時の取り扱いの点でその長所は倍増する。この優れたultrasonic complete skeletonization法の基礎的手技について述べる。まず、内胸静脈の分離にあたり、疎水結合織、脂肪織を除くため、超音波メスで軽くquick touchをするとITAの正中寄りを伴走する内胸静脈が現れる。ここで、quick touchとは、超音波メスの持つcavitation現象を利用してITA周辺組織を安全かつ素早く除去する手法である。cavitation現象とは、cavitation fragmentationと呼ばれ、脂肪組織に代表されるコラーゲン繊維の少ない組織では、超音波により組織圧が低下し細胞が膨化破裂して泡沫状に飛び散る現象である。これにより、外膜を損傷することなく動脈を露出することができる。quick touchの要点としては、ITAとの接触時間を0.2秒以内とすることと同一箇所は何度も触れないことである。次にITAの露出と

枝処理である。枝処理はmelting cut法にて行う。melting cutとは、超音波メスの持つタンパク質凝固作用を利用して行う枝処理の手法をさし、本研究事業の基礎技術の一つである。超音波振動による物理的なタンパク質融解凝固変性(protein coagulation)を引き起こすことであり、これを動脈分枝の止血処理法に応用した方法がmelting cutである。ここでは、この超音波メスを用いたmelting cut法での接着現象について検討した。まず、ブタ大動脈、Harmonic Scalpel IIを用い、種々の電力レベルと挟み込みの時間にて組織損傷について検討した。レベル1では、1、3、5、10秒間の超音波処理においても組織損傷は観察されなかった。レベル3では、1秒間では損傷はほとんど観察できず、3秒でも若干損傷が認められた程度であった。5秒以上になると処理部分が陥没し、損傷が見られた。最大レベルのレベル5においては、1秒間で少々の組織陥没が見られたが、損傷程度は低かった。3秒以上では、組織陥没と組織損傷が認められ、さらに、5秒以上では、切断された。そこで、レベル3、1秒間の超音波振動では、表面での細胞の破壊は認められるものの、コラーゲンの変性は見られなかった。レベル3、3秒間の超音波振動では、表面付近での細胞の破壊とさらに深い部位での細胞破壊が若干観察されたが、コラーゲンの変性・破壊は認められなかった。一方、レベル5、1秒間では、細胞の破壊に加え、コラーゲンの変性が若干認められ、構造の劣化が示された。さらに、レベル5、3秒間の超音波振動では、コラーゲン変性が進行し、構造の劣化が著しかった。

次に、手術中において血管を接着するために超音波メスを押し付けた時間における刃先平均温度を図7示す。グラフは、横軸に時間[s]、縦軸に温度[°C]となっている。約3.4秒で最高温度77.2°Cに上昇した。

生体組織の接着現象の解明に関する研究について

開発した超音波メス接着装置を用いて接着変化を検討した。荷重は超音波メス押し付け力測定実験より、1.0~4.0Nの間の荷重を負荷した。時間が経過するにつれて最高温度が上昇していった。接着について、1s、2sでは接着せず、1s~6sで接着した。しかし、6sでは血管に穴が開きはじめ、7sでは完全に血管を貫通してしまった。また、温度と圧力負荷とナノ振動を与えた場合の接着条件を明らかにするため、押し付け時間を

化させて接着実験を行った。このとき、ナノ振動周波 12kHz、振動振幅 $1.2\mu\text{m}$ 、電気ごて温度は 110°C 、押し付け荷重 5N とした。押し付け時間は 1 分から 6 分まで 1 分刻みで変化させ、3 回ずつ行った。さらに長時間押し当てたときの影響を見るため、8 分と 15 分の条件においても 1 回ずつ測定した。接着は可能であったが、温度が高く、組織損傷が見られた。次に、血管接着強度の比較データとして血管自身の引っ張り強さを測定するために、ダンベル型にした血管の引張試験を 5 回行った。動脈血管の最大応力は 1Mpa 程度であった。超音波メスによって接着させた血管同士の引張試験を行った。接着した負荷時間 3s, 4s, 5s, 6s について、2 回ずつ測定した。接着強さは 5s のとき最大となり、 0.165Mpa となった。温度、圧力負荷と超音波以下のナノ振動負荷によって接着させた血管同士についての引張試験を行った。接着面積は画像より 1.144mm^2 となった。

ナノ振動子の位置計測を目的とした集積化磁気センサに関する研究について

設計、作製したチップは Si ウエハ上に MOSFET の反転層を使用した磁気センサを 64 列×64 行に集積化したものであり、二次元磁束分布図を出力することに重点をおいたセンサである。得られた磁気センサの位置情報は A/D コンバータを用いてデジタルデータに変換された後、パソコンに取り込む。そして取り込んだデータはプログラムによって処理され、二次元磁束分布図が出力される仕様である。なお、使用された磁気センサの積感度は $2.7\text{mV}/\text{mA} \cdot \text{kG}$ である。

まず、一次試作の結果について述べる。出力がばやけ、非常に見づらかった。これは出力が低く、ノイズの影響を受けやすいためと思われる。出力の平均化回数を 1 回から 128 回に変更して測定した結果、ホール電圧が非常に綺麗な円の形に出力されていた。円形の磁束分布が見てとれ、これは磁石の形状と磁石の中心付近の方が強い磁束が発生し、そこから離れるにしたがって弱くなる特性によるものと思われる。この結果から 128 回平均化処理すれば綺麗な画像を得ることが確認できた。次の実験に N 極、S 極、二つの磁石を使用し、それぞれチップの中心、右上端の二つの位置パターンで測定した。前回と同じく、最も強い部分で約 $5\sim 5.3\text{mV}$ という結果になった。N 極、S 極磁石でどちらでも計測可能であり、磁石の中心位置がセンシングエリア付近にあれば、どこでも測定可能ということが確認できた。

今回試作されたセンサの実験では、ひとつのチップで二次元の磁束分布図が測定可能だということがわかった。この第一次試作の欠点として挙げられるのが画像を読み出す速度の遅さである。

上述の問題を受けて第一次試作の改良版の磁気センサを研究室で設計した。第二次試作の駆動方式であるダイナミックドライブ方式を採用した。この駆動方式により消費電力が大幅に減らす事ができる。つまり、第一次試作よりも大きい電流を流す事ができ、問題となっていたノイズなどの影響を受けづらくなると考えられる。第二次試作の読み出し回路では、2 本の信号線を使用した。これにより、20 倍にして出力するため、第一次試作で問題になっていたノイズの影響を改善でき、データの平均化回数も大幅に減らし、読み出し速度の高速化に繋がると考えられる。第一次試作では一般的に使われている基板を使用した。第二次試作チップの測定では基板を数 μm の誤差精度で測定器に固定するため、基板をアルミニウムの土台で固定し測定器に固定できるような設計をした。また、基板は非磁性の材料のみを用いて作製した。読み出し速度の遅さが改善について、実際の磁石の位置とどのくらいの精度で同定できるか、読み出し速度と位置計測の精度の関係、磁石のセンサとの距離がどの程度離れていても測定できるか、磁石の固定位置を変更した場合でも問題なく位置計測を行えるか等について実験を行った。まず、読み出し速度に関する実験では、読み出し速度の限界値を調べた。周波数が 3.5MHz ($854\text{flame}/\text{sec}$) からノイズが多少出始め、さら周波数を上げていくと 7.5MHz ($1831\text{flame}/\text{sec}$) の時点で、ほぼ画像として捉えられなくなってしまった。水平方向読み出し周波数の最高値は 7MHz であり、フレームレートに換算すると $1709\text{flame}/\text{sec}$ であることがわかった。精度で位置計測について検討した結果、X 軸方向の誤差は $9\mu\text{m}$ 、Y 軸方向の誤差は $16\mu\text{m}$ と算出され、シミュレーションの結果通り $\pm 25\mu\text{m}$ の精度で磁石の中心位置を検出できたといえる。このことから二次元磁束分布図を用いた位置計測を行えることがわかった。位置計測の精度を保てる最速の読み出し速度を求める実験を行った結果、 $488\sim 1647\text{flame}/\text{sec}$ の読み出し速度で測定した二次元磁束分布図を元に位置計測を行えば $\pm 25\mu\text{m}$ 以内の精度で磁石の中心位置を測定できることがわかった。以上から、第二次試作センサの読み出し速度の最適値は $\pm 25\mu\text{m}$ の精度で読み出せる最速の値である $1647\text{flame}/\text{sec}$ であると

える。磁束密度、磁石とセンサ表面との距離の位置計測への影響を調べた。磁石とセンサ表面との距離が 0.45mm、磁束密度に置き換えると磁束分布図の中心付近の磁束密度が 0.20T までであれば 1647flame/sec の読み出し速度と $\pm 25\mu\text{m}$ の精度で位置計測ができることがわかり、第二次試作センサが測定できる磁束密度のダイナミックレンジを調べることができた。

今回の第二次試作チップと第一次試作チップの測定条件や性能を比較した。読み出した画像は水平読み出し周波数が高くなるにつれてノイズが混じってしまうが、最速で 1831flame/sec のフレームレートによる二次元磁束分布図の測定が可能であることが確認できた。ノイズが混じらない画像が必要な時は読み出し速度を 610flame/sec 以下に設定して測定すればよい。出力電圧の平均化回数について、第一次試作センサと比べ第二次試作センサでは平均化の必要がなくなったことが大きな違いである。また、位置測定の可否とその精度について、シミュレーション上の値である $\pm 25\mu\text{m}$ 以内の誤差で磁石の中心位置を測定できることが確認できた。読み出し速度と位置計測の精度の関係では、610～1647flame/sec のフレームレート間で測定した二次元磁束分布図を元に位置情報を算出すれば、 $\pm 25\mu\text{m}$ 以内の誤差で磁石の中心位置を測定できることがわかった。つまり位置計測に用いることができる最速の読み出し速度は 1647flame/sec である。この値から第二次試作センサでは第一次試作センサと比較して約 35000 倍の高速化に成功したといえる。最後に第二次試作センサで測定できる磁束密度のダイナミックレンジは 0.20T であり、今回の実験で用いた磁石であればセンサ表面と磁石の距離が 0.45mm 以内に固定されていれば位置計測が可能であることがわかった。

今回目的とした値は読み出し速度が 1000flame/sec、測定誤差 $\pm 25\mu\text{m}$ であるのに対して、実験の値を比べてみると、読み出し速度は 1647flame/sec、位置計測の誤差が $\pm 25\mu\text{m}$ であり、この値は目標値を十分に満たしていると言える

ナノ振動波動装置と超音波試験装置に関する研究について

クイックタッチ荷重測定実験を行った結果、全体の平均荷重は 16.3 [gf]であった。サーモグラフィを用いてメルティングカットおよびクイックタッチの刃先温度推移を測定した。メルティングカットでは、3秒で最高温度に達し 77.2 [°C]であ

ったのに対して、クイックタッチでは 14 秒間ほぼ一定の温度を保ち、最高温度 61.7 [°C]であった。サーモグラフィによる温度測定の結果、クイックタッチ時には超音波メス刃先温度が 65 [°C]を超えなかった。一方、メルティングカットの際には 65 [°C]を超えることが確認出来た。同じクイックタッチでも、血管付近とそうでない部分では、当てる時間(約 0.2 秒)を使い分けていることが分かった。

次に、水中、大気中での超音波メスの動作周波数と温度の関係を調査した。水中では、共振周波数は各温度でほぼ一定であった。温度変化があった場合と同様に、チップ温度と共振周波数の関係は比例していた。チップ温度に対する共振周波数の変化割合がほぼ一定であり、温度変化実験の変化割合が、1 [°C]あたり 3.34 [Hz]下がる結果となった。大気中では、共振周波数が上昇すると、チップ平均温度推移が下降していた。また、超音波メス全体の温度が安定状態になったところで、チップの根元から刃先の各部分に水をかけ、部分的に温度が下がった場合の周波数の変化を観察した。チップ温度と共振周波数の関係より、チップ温度が上昇するときと下降するときの共振周波数の変化割合はチップ温度が上昇するときのほうが大きくなったが、上昇時、下降時共に変化割合が一定でなかった。

圧力負荷時の超音波メスの温度と動作周波数の関係を水平方向にて調べた。各負荷での推移において、共振周波数はほぼ一定の割合で下がっていた、負荷が大きくなる程、共振周波数が低くなっていた。また、刃先平均温度が上昇するにつれて共振周波数は低くなっていた。次に垂直方向について検討した。予熱無しに行った場合、チップ平均温度と共振周波数の関係より、チップ平均温度が上昇すると共振周波数は比例して下降した。一方、刃先温度に対する共振周波数の変化割合は一定でなかった。そこで、予めチップ温度を安定させた状態で負荷実験を行った。各荷重のときの推移より、多くの荷重の場合でチップ平均温度と刃先温度は比例関係にあった。チップ温度と共振周波数の関係を求めた結果、負荷にかかわらず、(共振周波数) = $-4.3 \times (\text{チップ温度}) + 25329$ の直線に沿っていた。また、チップ温度と刃先温度の関係を求めた結果、多くの荷重で(刃先温度) = $0.13 \times (\text{チップ温度}) + 53.8$ の直線に沿っていた。

D. 考察

超音波振動による生体組織－高分子材料の接着

超音波振動による生体組織－高分子材料の接

着について、接着が起こりやすい以下の条件が分かった。接着には糸と同じ側に超音波メスのブレードをあてることが必要であり、血管トリミングは行った方が良好な接着がなされる。また、強い電力レベルで、短時間行った方が接着しやすい傾向にあった。フィルム状で接着しやすく、切断されにくくなり、同様に、超音波メスのブレードの面積が大きい程接着しやすい傾向にあった。これらの現象については、高分子材料の溶解により、血管と接着するため、熱エネルギーの伝達し易い状態が接着に有利であったと考えられる。このため、血管のトリミングにより血管本体を覆うタンパク質を除くことで、血管本体と接着させることが可能となり、高分子材料とのより強固な接着がなされると考えられる。組織損傷については、産生される熱エネルギーに依存した形での損傷レベルであった。すなわち、低レベル、短時間の超音波振動では組織損傷は低く、高レベル、長時間の超音波振動ほど組織損傷が見られた。超音波振動した血管のヘマトキシリン-エオジン染色では、レベル3、1秒間の場合に血管表面付近での細胞破壊が見られ、時間の延長にともない、深部での細胞破壊が見られた。これは、振動時間の延長により熱エネルギー量が穏やか増加し、組織深部に伝達されたと考えられる。一方、レベル5、1秒の超音波振動では、表面付近での細胞破壊に加え、コラーゲンの変性が見られた。これは、高レベルでは熱エネルギーの発生速度が速く、組織周辺への熱伝達がされず、コラーゲンの変性温度になったと考えられる。さらに時間延長した場合は、コラーゲンの変性が激しかった。以上より、今後、材料との接着においては、組織損傷が起きさず効率的に接着させる条件検討あるいは装置開発が重要である。

超音波波動による生体組織接着現象の評価について

超音波メスを用いた ultrasonic complete skeletonization 法の基本技術の quick touch 法と melting cut 法での生体組織に与える影響について組織染色学的に検討した。1秒間以内の quick touch での組織損傷は認められなかった。1秒以上で行った場合では、組織損傷が認められた。おそらく、cavitation 現象にて細胞が膨化破裂して泡沫状に飛び散り、その後、タンパク質融解凝固変性が起こったと考えられる。レベル5、3秒間の超音波処理では、タンパク質の変性が顕著に見られた事からも示唆される。そこで温度の測定を行

った。その結果、約 3.4 秒で最高温度 77.2℃に上昇した。この結果からも、上述の考察の妥当性が伺える。また、The experimental development of an ultrasonically activated scalpel for laparoscopic use (J.F.Amaral, Surg. Laparosc & Endosc)によると、サーモグラフィ分析では、超音波での組織凝固は 80℃以上の温度にならないことを実証したと書かれている。実験結果から、約 3.4 秒で最高温度 77.2 度となり、80℃以上の温度にならないことが証明されたので、接着温度は約 80℃だと予想される。

生体組織の接着現象の解明に関する研究について

超音波メスによる血管同士の接着実験を行った結果、3~5s において血管が白く変性し、接着した。5s になると茶色に変性し、6s では血管に穴が開きはじめ、7s では完全に貫通した。このことから、負荷時間 3~5s が望ましいと考えられる。温度と高周波振動による血管の接着が可能か調べるため、温度制御可能な電気ごてとピエゾ振動子による血管同士の接着実験を行った。超音波振動でなく、温度と高周波振動で接着することから、接着は熱と振動エネルギーであることがわかった、しかしながら、押し当て時間だけでなく、温度、ナノ振動の振動周波数および振動振幅、押し付け荷重などのパラメータが多いため、接着の条件を明らかにするためには、より詳細な実験が必要であると考えられる。接着させた血管における接着強度を評価するため、引張試験を行った。超音波による接着強さは最大 0.165MPa となった。医用接着剤として血管にはアルデヒド系の接着剤が用いられており、物質・材料研究機構の研究において、血管の接着強度が最大 0.01MPa である。よって超音波による接着は接着剤の 10 倍以上の強度を実現できることがわかった。

さらに、温度、圧力負荷と超音波以下のナノ振動負荷による接着強さは周波数 12kHz、振幅 200nm、計測温度 110℃、負荷時間 6min、荷重 5N のとき最大となり、1.605MPa となり、熱と高周波振動による接着は血管自体と同等の強度を実現できるがわかった。

ナノ振動子の位置計測を目的とした集積化磁気センサに関する研究について

第一次試作では二次元磁束分布図を出力することに重点をおいて作製された。まず、磁束を測定するためのシステムを構築し、第一次試作チッ

プを使用して磁石から発生する磁束の二次元分布図を出力させた。その結果、N極、S極、両方の磁石で理想的な二次元磁束分布図を得ることができたが、読み出し速度が0.23flame/secと致命的に遅いという欠点があった。

第二次試作ではこの欠点を改善するためにダイナミックドライブ駆動を採用し、トランジスタの駆動力を第一次試作の1.3倍にするなどの対策を施した。その他にもオペアンプをバッファとして使用することで出力にノイズが混じることを防ぎ、他の場所ではオペアンプを作動増幅機として使用して出力電圧を増幅することによって更なる読み出し速度の向上を図った。第二次試作の実験からは10 μ m単位で磁石を固定できる測定器を作製し、この測定器を用いて測定した二次元磁束分布図を元に位置計測を行い、それらの精度を測定した。位置計測には研究室で開発した位置計測プログラムを用いて行った。

実験の結果、画質が少々劣化するが最大で1647flame/secの読み出し速度で二次元磁束分布図を得ることができ、この時の測定誤差は $\pm 25\mu$ mであった。この結果から第二次試作センサの実験で得られた読み出し速度と位置計測精度の値は目標としていた値に達していると言える。

更に今回の実験で発生したノイズの原因を考察したところ、読み出し回路の水平読み出しを切り替えているトランジスタの駆動力不足が原因であると特定できた。よって、駆動力の高いトランジスタを使用することにより、さらに読み出し速度の向上が期待できる。

ナノ振動波動装置と超音波試験装置に関する研究について

押し付け荷重が無い場合の温度と動作周波数の関係では、チップ温度に対する共振周波数の変化割合がほぼ一定で、共振周波数を測定することによりチップ温度をある範囲に推定出来る可能性があると考えられる。また、押し付け荷重がある場合の温度と動作周波数の関係では、予熱なしでは、超音波メスチップの平均温度が常温のとき刃先を試料に当てると刃先の平均温度が上昇するが、刃先温度以上にチップ中腹(節部分)温度が上昇するため、共振周波数に対する刃先温度、軸方向刃先荷重の影響は小さいことが分かった。超音波メス制御による手術支援を行うためには、あらかじめチップ中腹温度を安定状態にしておくことが必要だと考える。超音波メスを予熱した状態から、超音波メスを試料に押し付けた場合、刃先の温度

が上昇するとチップ平均温度も上昇し、刃先の温度が下降するとチップ平均温度も下降するという結果が得られた。共振周波数よりチップ平均温度を推定し、そこからさらに刃先の温度を推定できる可能性を確認した。また、16.4[gf]以下の軽負荷状態では荷重が共振周波数に影響をほとんど与えないと考える。超音波メスの温度をある一定以上にしないような制御が可能であることが分かった。今回、押し付け荷重と温度上昇の関連を検討したが、対象とする試料が肉片のように柔らかい場合、試料のばらつきもあり、押し付け力と対象物に埋め込まれる割合は必ずしも比例しなかった。温度上昇は押し付け荷重だけでなく、超音波メス先端が試料に囲まれている程度も関係する可能性もあり、生体組織を損傷せずに接着可能とする制御方式確立のためには、今後さらに検討が必要である。

E. まとめ

ナノ振動によって生体組織と接着するステントの開発のための基礎的検討を行った。

生体組織間接着に関する検討を行うにあたり、超音波メス装置を開発し、超音波エネルギーと振動エネルギーおよび熱エネルギーによる接着現象の観察を行った。接着温度60~80 $^{\circ}$ Cのとき、血管が良好に接着し、その接着強度は最大0.165MPaとなり、接着剤の10倍以上の強度を得ることができた。温度、圧力負荷と超音波以下の振動負荷による接着実験では、超音波接着以上の血管接着能を確認した。このことから、接着には温度と振動エネルギーが必要であり、必ずしも超音波が必要ではないことがわかった。

また、材料の接着については、超音波振動により発生する熱エネルギーにより、材料が溶解する必要があると考えられた。材料を溶解させるためには、用いるブレードの振動面を材料側にする必要があった。逆方向では、熱の伝達効率がわるく、組織損傷なされる場合があった。超音波振動条件としては、高レベルで、短時間の処理を行う場合と、低レベルで、長時間の処理を行う場合で接着が認められた。また、用いる材料の形状については、ブレードとの接触面が大きいほど、良好に接着した。

さらに、生体組織を損傷せずに接着可能なナノ振動装置制御方式の開発として、クイックタッチ術式を実現するような超音波メス制御方式について検討した。クイックタッチ時における超音波

メス刃先の上昇温度を計測し、クイックタッチ時には 60 度以下に温度上昇が抑えられていた。共振周波数を利用する超音波メス刃先の温度推定方法を提案し、刃先温度と共振周波数の関係を検証した。共振周波数をもとに振動振幅を調節することで、刃先温度制御が可能であることを確認した。

ナノ振動子を取り付けられたステントが正しく患部に位置しているかを計測するための位置計測システムの構築を目的とし、ステントの位置を計測するための磁気センサの特性評価、ならびに改善を行った。画質が少々劣化するが最大で 1647frame/sec の読み出し速度で二次元磁束分布図を得ることができ、この時の測定誤差は $\pm 25\mu\text{m}$ であった。この読み出し速度と位置計測精度の値は目標としていた値に達していると言える。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 岸田晶夫、生体適合性評価法、樋口亜紺編 医療用マテリアルと機能膜、東京：シーエムシー出版；2005、pp51-60

2) 岸田晶夫、人工心臓膜、樋口亜紺編 医療用マテリアルと機能膜、東京：シーエムシー出版；2005、pp82-88

3) 樋上哲哉、冠動脈外科の Knack & Pitfalls2. グラフトの準備 2) 内胸動脈 (ITA)、竹内靖夫編 心臓外科 Knack & Pitfalls 冠動脈外科の要点と盲点、東京：文光堂；2005、pp96-99

4) 樋上哲哉、冠動脈外科の Knack & Pitfalls2. グラフトの準備 2) 内胸動脈 (ITA) one point ITA の長所と短所 or/with 使用法と吻合のコツ、竹内靖夫編 心臓外科 Knack & Pitfalls 冠動脈外科の要点と盲点、東京：文光堂；2005、pp100

5) 樋上哲哉、冠動脈外科の Knack & Pitfalls2. グラフトの準備 6) composite graft の適応と作成 one point ハーモニックカルペルの使い方、竹内靖夫編 心臓外科 Knack & Pitfalls 冠動脈外科の要点と盲点、東京：文光堂；2005、pp101

6) 樋上哲哉、21 世紀の冠動脈バイパス術 2.off-pump CABG (OPCAB) を検証する

OPCAB 時代における各種グラフトの特徴と採取法、HEART nursing18(3)；2005、pp301-306

2. 学会発表

7) 岸田晶夫、木村剛、草間淳、石丸正臣、増澤徹、藤里俊哉、“微小振動による細胞の接着制御の検討”平成 17 年度繊維学会年次大会、60(2)：pp41、2005

8) A.Kishida, T.Kimura, T.Furuzono, T.Fujisato, T.Masuzawa, “NANO-VIBRATING CELL CULTURE SYSTEM FOR TISSUE ENGINEERING” 4th Annual Meeting of the European Tissue Engineering Society、ppL II、2005

9) 岸田晶夫、“医療デバイス開発における医用高分子”第 23 回医用高分子研究会講座、pp38-41、2005

10) 能田高行、増澤徹、樋上哲哉、岸田晶夫、佐藤裕一郎、“Quick touch 術式効果の工学的評価と超音波メス制御方式の検討”第 3 回生活支援工学系学会連合大会、pp42、2005

11) 増澤徹、草間淳、木村孝之、柴田隆行、岸田晶夫、木村剛、“ナノ微小振動と細胞”第 3 回生活支援工学系学会連合大会、pp80、2005

12) 濱口宗志、能田高行、加藤綾子、岸田晶夫、木村剛、樋上哲哉、増澤徹、“超音波メス制御による手術支援に関する研究”ライフサポート学会 人と福祉を支える技術フォーラム、pp8、2006

13) 伊藤由樹子、大富美智子、草間淳、増澤徹、南広祐、木村剛、藤里俊哉、岸田晶夫、“細胞機能制御を目指した種々の細胞への機械的微小振動に関する研究”日本再生医療学会総会、(19)2：pp19、2006

14) J.Kusama, T.Kimura, T.Shibata, A.Kishida, T.Masuzawa, “Cell function control by nano vibrations” Proceedings of The First International Student Conference at Ibaraki University、pp211-214、2005

1 5) T.Shibata, Y.Makita, T.Masuzawa, A.Kishida, E.makino, T.Mineta, "Development of bio-microdevice actuated by piezoelectric thin film for cell culture" 5th euspen International Conference, pp777-780, 2005

1 6) 吉田典央、柴田隆行、水上良明、堀内宰、増澤徹、岸田晶夫、峯田貴、牧野英司、"細胞機能制御のための圧電駆動型バイオマイクロデバイスの開発" 2005 年精密工学会秋期学術講演会、pp87-88、2005

1 7) 伊藤圭介、柴田隆行、水上良明、堀内宰、増澤徹、峯田貴、牧野英司、"オンチップ細胞サージェリーシステムのためのナノニードルアレイの開発ーシリコンのドライエッチングの評価ー" 2005 年精密工学会秋期学術講演会、pp93-94、2005

1 8) 高橋洋一、柴田隆行、水上良明、堀内宰、増澤徹、峯田貴、牧野英司、"ニッケル電鍍金型を用いたマイクロプリント技術の開発" 2005 年精密工学会秋期学術講演会、pp117-118、2005

1 9) 吉田典央、柴田隆行、堀内宰、増澤徹、岸田晶夫、"細胞機能制御のためのMEM細胞加振デバイスの開発" 電気学会研究会ーリニアドライブ研究会ー、pp57-60、2005

2 0) 樋上哲哉、花田智樹、本多 祐、今井健介、清水弘治、金築一摩、坪島顕司、西尾渉、"Total arterial graft による冠血行再建術の問題点 -All in-situ grafting の功罪-" 第 35 回日本心臓血管外科学会学術総会、2005

2 1) 樋上哲哉、"CABG における RITA の最大有効活用法と ITA sequential bypass のツボ"
第 35 回日本心臓血管外科学会学術総会、2005

2 2) Asakawa T, Funakubo A, Fukunaga K, Taga I, Higami T, Kawamura T, Fukui Y, "Development Of An Implantable Oxygenator With Cross Flow Pump " 51th ASAIO (American Society for Artificial nternal Organs),

2005

2 3) Taga I, Funakubo A, Higami T, Kawamura T, Fukui Y, "Study On Evaluation Of Artificial Implantable Lung Design " 51th ASAIO (American Society for Artificial nternal Organs), 2005

2 4) K.Takasaki, T.Kimura, T.Masuzawa, "Development of two- dentional magnetic sensors for characteraization of magnetic levitated motors" Proceedings of The First International Student Conference at Ibaraki University, pp219-222、2005

2 5) 高崎慶吾、木村孝之、増澤徹、"モーターの制御を目的とした二次元集積化磁気センサ読み出し速度の向上に関する研究"、平成 17 年度 電気学会東京支部茨城支所研究発表会、pp75、2005

2 6) 高崎慶吾、木村孝之、増澤徹、"磁気浮上モーターの特性評価を目的とした二次元磁気センサの計測" 電気学会研究会ーリニアドライブ研究会ー、pp35-38、2005

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特願 2006-55619
特願 2006-55620
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

超音波振動による生体組織－高分子材料接着に関する研究

分担研究者 岸田 晶夫 東京医科歯科大学生体材料工学研究所教授

研究要旨 ナノ振動によって生体と接着するステントの開発のためには、ステント素材と生体との接着についての詳細な検討が必要である。本研究では、超音波メスを用いて、種々の素材と生体組織との接着性について基礎的な検討を行った。素材としては、高分子材料を用いた。種々の超音波メスによる接着条件にて生体－素材と接着について詳細に検討した結果、いくつかの素材と生体組織との接着が可能であり、超音波メスの広範な利用の可能性が示された。

A. 研究目的

循環器系疾患は、先進国における死の最たる原因疾患の1つである。我が国における三大死因である悪性新生物、心疾患、脳血管疾患の占める割合は、それぞれ31.0%、15.5%、13.3%であり(平成15年人口動態統計)、循環器系疾患全体の患者数は1,324千人で、悪性新生物の4倍である。今後、生活習慣、高齢化を考慮すると、循環器系疾患の患者数は増加すると考えられる。循環器系疾患に対する治療としては、血管修復術やステントグラフト内挿術が代表的である。

我が国では年間約2万人(米国では約50万件)の冠動脈バイパス術が施行されている。現在用いられている代替血管として、自己・異所性の自家血管、および、人工血管として生物由来の生体血管、人工材料で作製される合成人工血管がある。自家血管は、自己組織であるため免疫系が活性されず、優れた開存性を示す。現在の冠動脈バイパス術において自家内胸動脈や自家静脈が一般的に用いられる。しかしながら、用いる血管のサイズ・数共に制限があるため、生体血管、合成人工血管の利用が望まれる。生体血管は、動物、ヒトの血管を化学架橋処理により抗原性を除去すると共に、十分な強度と保存性を期待したものであるが、架橋剤であるグルタルアルデヒドの残存のため、微小動脈の良好な開存は得られていない。合成人工血管は、ダクロン、テフロン、polytetrafluoroethylene (PTFE)などのポリマーを素材とし、内径10mm以上の大口径における移植では良好な成績を収めているが、4mm以下の小口径では自家血管に代わり得るものではない。またこれらは、狭窄、血栓症、石灰化、感染などの合併

症の危険性を有しており、現在、長期の抗凝血療法による予防が行われているものの、十分満足なものではなく、自家血管に匹敵する優れた開存性を示す新しい人工血管の開発が求められている。

一方、ステントグラフト内挿術とは一般的には大腿部の動脈を切開し、カテーテルを入れ、この管を通じてステントグラフトを瘤の部位に送達、留置させる。これにより大動脈瘤内への圧力がかからず、瘤の破裂を防止できる。ステントグラフトとは、ステント部分とグラフト部分より成り立つ。ステント部分はステンレスの針金をZ状に折り曲げ伸縮性を持たせ、円筒状に丸め、手術用ポリプロピレン糸で連結して作成する。グラフト部分は、通常的人工血管置換術で使用される人工血管と同じダクロンから成っている。このグラフト部分を先のステント部分に被せポリプロピレン糸で固定しステントグラフトを作成する。このステンレスがバネになりグラフトを押し広げられ、その力で正常の径の大動脈壁に人工血管が固定される。ステントグラフト内挿術は、従来の手術方法とくらべ非常に低侵襲であるため、高齢者や合併症を持つ人に対してもより安全に行うことができ、出血量の軽減、手術時間、入院期間の短縮をはかることが可能である。しかし、ステントグラフト内挿術は従来的人工血管置換術と異なり、縫合を行っていないため、ステントグラフトと動脈との接着の不完全部位から動脈瘤内への血液の漏れ(エンドリーク)が再発してしまう恐れがある。術後エンドリーク率は腹部大動脈瘤では5%、胸部大動脈瘤では25%とされている。このような状況において、屈曲した大動脈へ良好に密着し、動脈瘤内への血液漏れの再発防止をする

ことができれば、動脈瘤手術において大きく貢献できると考えた。

血管と良好に接着させるために、超音波によって蛋白質を変性させ、かつ組織損傷を防ぐため、低温度で接着させていることを利用する。超音波メス (Harmonic Scalpel) は、1990年代に開発された装置であり、超音波振動を利用した人体軟組織の凝固、切開に有用な装置として臨床で用いられている。低温で切開、凝固を行うため電気メスに比べ人体組織へ与える熱損傷も極めて少ないこと、組織の炭化に伴う煙が出ずに手術時の視野の確保が容易であるなどの利点を有する。また、使用されている症例も、腹腔鏡、鏡腔鏡手術全般、冠状動脈バイパス術、扁桃腺手術など多岐に渡っている。超音波メスによる接着理論には未だ解明されていないことも多いが、超音波メスによる新しい内胸動脈採取法によると、この蛋白凝固は、超音波振動により細胞蛋白の水素結合が破壊され、コアギュラムと呼ばれる粘性変性蛋白を生じること、また、刃先振動により刃先そのものが80度に達し、蛋白質は63度以上で熱変性することから、これによって蛋白の熱変性癒合が生じるといふ2つのメカニズムの組み合わせにより完成されている。

本研究では、超音波メスで起こる生体組織間での凝固作用が、生体組織と人工化合物間でも同様に起こるのではないかと考えた。人工化合物と生体組織の接着が可能ならば、血管内で固定できるステントや、縫合時に糸を全く使用しない接合法など、医療用器具や外科手技としての応用が可能になる。血管内部で接着する医療用ステントの開発を目標として、超音波メスを使用した血管と様々な人工化合物との接着条件と接着時の組織損傷に関する検討を行った。

B. 研究方法

超音波メスを用いて、ブタ大動脈と種々の人工化合物との接着について検討した。超音波振動発生装置としては、Harmonic Scalpel II (ETHICON ENDO-SURGERY a Johnson & Johnson company) を用いた。振動周波数 55.5kHz 電力出力 LV1~5、振幅が50~100 μ mの仕様である。ハンドピースとしては、ハンドグリップのLaparoSonic Coagulating Shears (LCS)型を使用した。様々な条件での接着試験を行い、また、生体組織への損傷について検討した。具体的には、以下のように検討した。ブタ大動脈を購入し、血

管軸に沿って開き、1cm×1cmに細切した。まず、超音波メスによる生体へのダメージを検討するため、出力レベル、圧着時間をそれぞれレベル1、3、5と1、3、5、10秒にて超音波処理を行った。次に、人工化合物として、高分子素材である44T-T71 4410と155T71L X633とESPAを用いた。これらは、糸状の高分子素材であり、接着面積を考慮するため、1~数本を束ねて用いた。それらを血管の内壁面あるいは外壁面に当て、超音波ブレードの振動部を高分子素材あるいは血管に当てて、上記の条件にて接着を試みた。ここで、血管の接着面をトリミングすることで、余分なタンパク質の除去を行い、高分子素材との接着性に与える影響を検討した。さらに、糸状の高分子素材を有機溶剤に溶解し、所定サイズの容器に移した後、溶剤を真空中にて気化させ、フィルム状に成形した。また、フィルム状の人工化合物として、上記の高分子素材に加え、ビニロン、ウレタン、コラーゲン、プラチナを用いた。組織損傷については、ヘマトキシリン-エオジン染色により組織染色学的に評価した。

C. 研究結果

用いた超音波振動発生装置 (Harmonic Scalpel II) を図1に示す。また、用いたLCS型ハンドピースを図2に、その刃先を図3に示す。ハンドピースとしては、ブレード型、LCS型があり、ブレード型が一般的に用いられる。ブレード型は刃先で血管を押さえ、超音波処理することで凝固しながら切開することが出来る。一方、LCS型は血管を挟みこみ、超音波処理を施すことで凝固しながら切開する。LCS型の刃先の一方は固定されており、もう一方が超音波振動する。挟み込み (圧力)、振動させることで、熱エネルギーが生み出される。



図 1、超音波装置 (Harmonic Scalpel II)

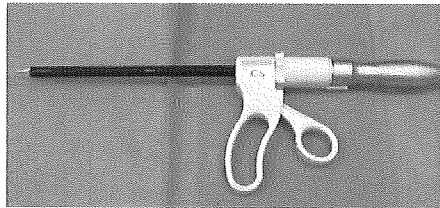


図 2、LCS 型ハンドピース

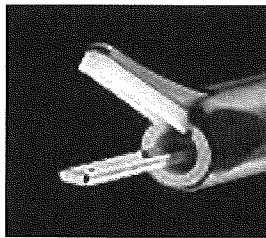


図 3、LCS 型ハンドピースの刃先

ブタ大動脈を血管軸に沿って開き、1 cm×1 cm に細切した (図 4、5)。大動脈を図 6 のように挟み込み、種々の条件にて超音波処理した。

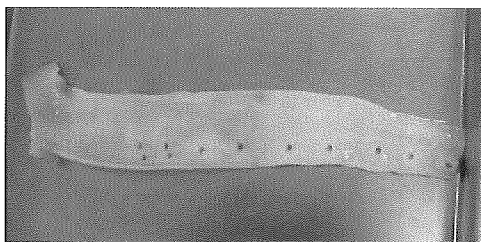


図 4、ブタ大動脈

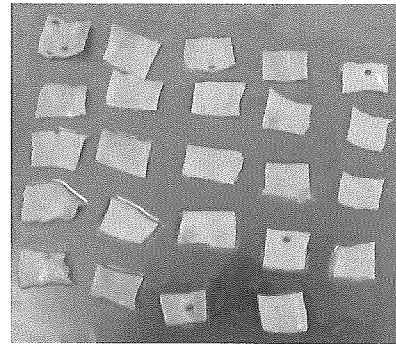


図 5、細切したブタ大動脈

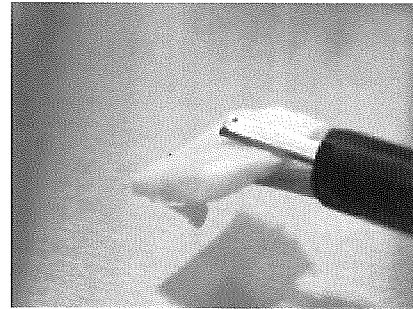


図 6、ブタ大動脈細切への超音波振動

まず、組織損傷を調べるために、種々のレベル、時間にて処理した。レベル 1 にて超音波処理した結果、1、3、5、10 秒では組織損傷は観察されなかった。レベル 3 においては、1 秒ではほとんど損傷は観察できず、3 秒でも若干損傷が認められた程度であり、5 秒以上では処理部分が陥没し、損傷が見られた (図 7、8、9)。最大レベルであるレベル 5 においては、1 秒では少々の組織陥没が見られたが、損傷程度は低いと考えられる。3 秒以上では、組織陥没と組織損傷が認められ、さらに、5 秒以上では、切断された (図 10、11)。

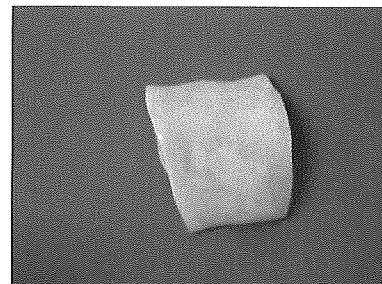


図 7、超音波振動なし

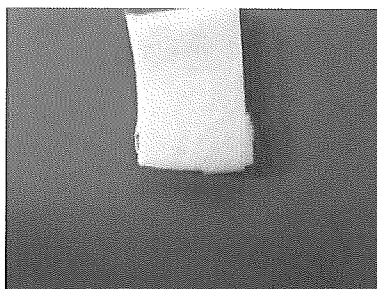


図8、レベル3、1秒の超音波振動

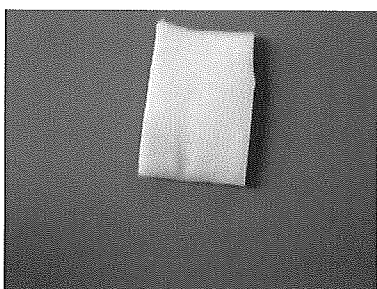


図9、レベル3、3秒の超音波振動

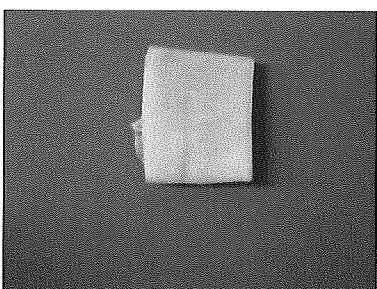


図10、レベル5、1秒の超音波振動

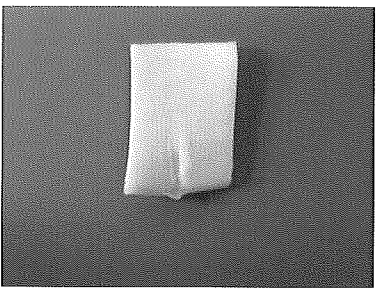


図11、レベル5、3秒の超音波振動

糸状の高分子素材である44T-T71 4410と155T 71L X633とESPAを用い、超音波振動による血管との接着を試みた。この際、血管の内壁側、外壁側での接着性を検討した。

44T-T71 4410においては、レベル3で行った場合、1秒間の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着しなかった(図12)。3秒の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着し、組織損傷もほとんど示されなかった(図13)。レベル5で行った場合、1秒間の超音波振動でも

内壁側、外壁側とも接着し(図14)、3秒の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着したが、組織損傷が示された(図15)。

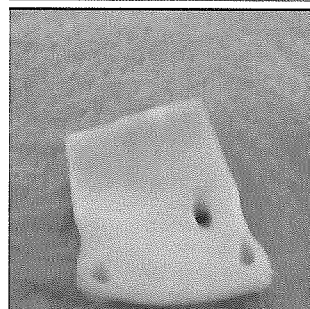
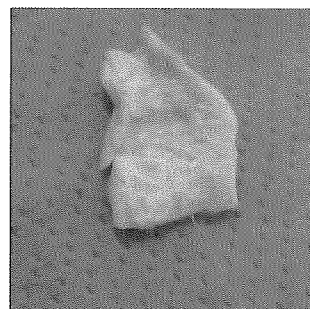


図12、44T-T71 4410、レベル3、1秒の超音波振動(上:外壁側、下:内壁側)

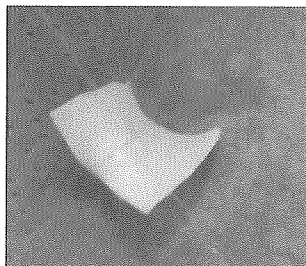
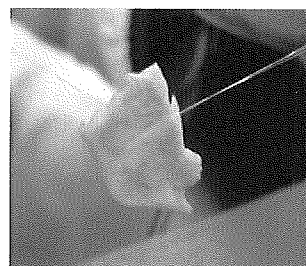


図13、44T-T71 4410、レベル3、3秒の超音波振動(上:外壁側、下:内壁側)

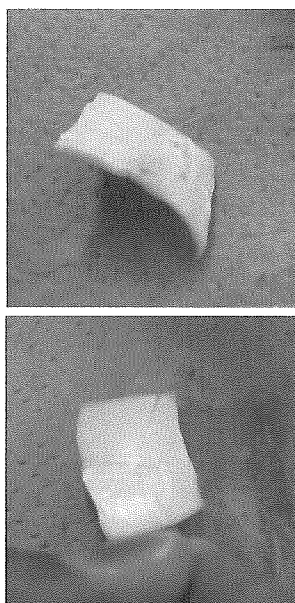


図14、44T-T71 4410、レベル5、1秒の超音波振動（上：外壁側、下：内壁側）

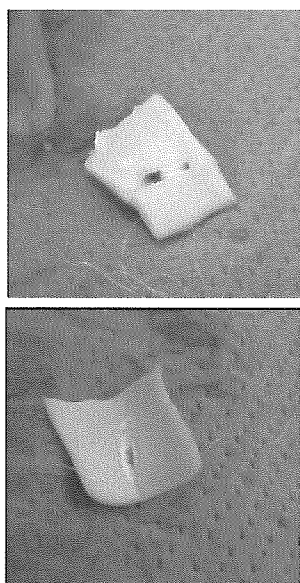


図15、44T-T71 4410、レベル5、3秒の超音波振動（上：外壁側、下：内壁側）

155T-71L X633においては、レベル3で行った場合、1秒間の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着しなかった（図16）。3秒の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着したが、内壁側では、糸が切断され、組織損傷が若干示された（図17）。レベル5で行った場合、1秒間の超音波振動でも内壁側、外壁側とも接着し、組織損傷は示されなかったが（図18）、3秒の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着したが切断され、組織損傷が示された（図19）。

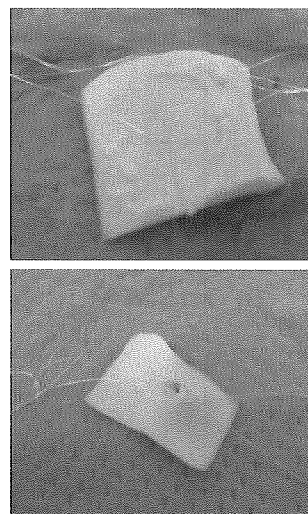


図16、155T-71L X633、レベル3、1秒の超音波振動（上：外壁側、下：内壁側）

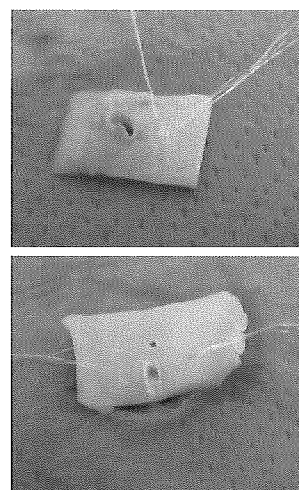


図17、155T-71L X633、レベル3、3秒の超音波振動（上：外壁側、下：内壁側）

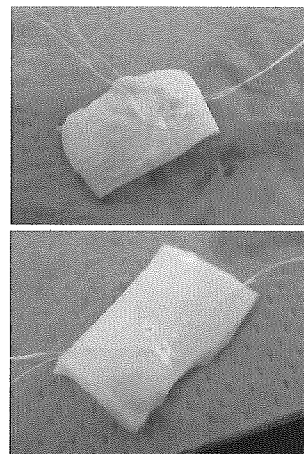


図18、155T-71L X633、レベル5、1秒の超音波振動（上：外壁側、下：内壁側）

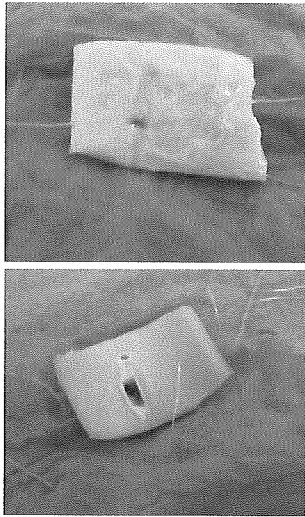


図19、155T-71L X633、レベル5、3秒の超音波振動（上：外壁側、下：内壁側）

ESPAにおいては、レベル3で行った場合、1秒間の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着し、組織損傷もなかった（図20）。3秒の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着したが、内壁側では、糸が切断され、組織損傷が示された（図21）。レベル5で行った場合、1秒間の超音波振動でも内壁側、外壁側とも接着し、組織損傷は示されなかったが（図22）、3秒の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着したが切断され、組織損傷が示された（図23）。

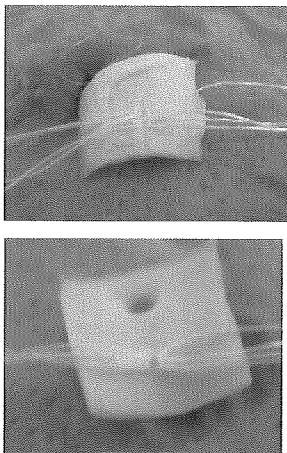


図20、ESPA、レベル3、1秒の超音波振動（上：外壁側、下：内壁側）

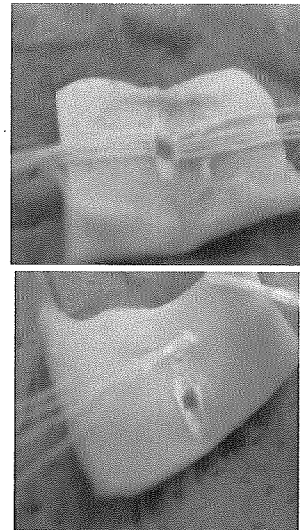


図21、ESPA、レベル3、3秒の超音波振動（左：外壁側、右：内壁側）

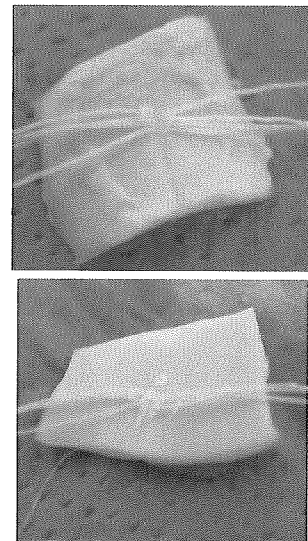


図22、ESPA、レベル5、1秒の超音波振動（左：外壁側、右：内壁側）

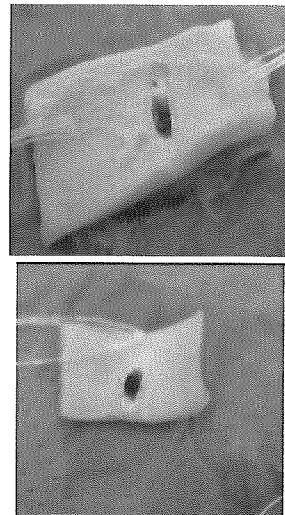


図23、ESPA、レベル5、3秒の超音波振動（左：外壁側、右：内壁側）

以上の結果をまとめると、以下のように整理される。

ESPA

44T-T71 4410

血管	Level	時間(sec)	接着	組織
外壁	3	1	×	○
	3	3	○	△
	5	1	○	○
	5	3	××	×
	5	3	××	×
内壁	3	1	×	○
	3	3	○	△
	5	1	○	○
	5	3	××	×

血管	Level	時間(sec)	接着	組織
外壁	3	1	○	○
	3	3	○	×
	5	1	○	○
	5	3	××	×
内壁	3	1	○	○
	3	3	××	×
	5	1	○	△
	5	3	××	×

接着： ×接着せず △4 本中 2,3 本接着 ○接着 ××

組織： ×はっきり焦げ有り △組織損傷有り ○組織損傷はほとんど見られない

155T 71L X633

血管	Level	時間(sec)	接着	組織
外壁	3	1	△	○
	3	3	○	△
	5	1	○	○
	5	3	××	×
内壁	3	1	△	○
	3	3	××	×
	5	1	○	○△
	5	3	××	×

医療用縫合糸であるシルク、polypropylene、polyglactin、polyester を用いて、同様の超音波振動を行った。その結果を以下の表 1 に示す。

表 1、種々の縫合糸の超音波接着

糸の種類	太さ	接着
シルク	1-0	××
シルク	2-0	××
シルク	4-0	××
polypropylene	1-0	△×
polypropylene	4-0	×
polypropylene	5-0	×
polypropylene	7-0	×
polyglactin	4-0	△
polyester	4-0	△×

××：接着は全く見られず、糸も溶解せず。

△×：糸が溶解し、一応接着したようだが、糸を持ち上げると取れてしまう。

接着： ×接着せず △4 本中 2,3 本接着 ○接着 ××

組織： ×はっきり焦げ有り △組織損傷有り ○組織損傷はほとんど見られない

これまで、糸状の高分子化合物を用いていたが、形状の影響を検討するため、上記の 44T-T71 4410 と 155T 71L X633 と