

分担研究報告書

ナノアパタイト複合化グラフト、ステントおよびステントグラフトの動物実験

分担研究者 宮武 邦夫（国立病院機構大阪南医療センター・院長）

研究要旨

これまでの検討によって創出したナノアパタイト複合化グラフト、ステント、および両者を一体化したナノアパタイト複合化ステントグラフトの動物実験を行った。まず、グラフト置換実験をより長期的に行った結果、ナノアパタイト複合化グラフトを用いることで、埋植初期に薄く形成した新生内膜が長期間安定に存在することが明らかとなった。次に、ステント留置試験を行った結果、ナノアパタイト複合化ステントを用いることで、留置後初期の炎症、異物巨細胞の出現および血栓形成の抑制が観察され、さらに、薄く安定した新生内膜が形成した。また、ナノアパタイト複合化ステントグラフトの留置試験を行った結果、薄い新生内膜の形成に加え、内膜とグラフトとの接触部における接着性が確認でき、安定したステントグラフトの留置が実現できた。

A. 研究目的

当該研究課題は、内シャント不全の治療に用いるステントグラフトをナノサイズのハイドロキシアパタイトで複合化した新規なステントグラフトの開発を目的とするものである。生体親和性セラミックスであるハイドロキシアパタイトを複合化することで、細胞に対する良好な足場を与えることが可能となり、ステントグラフト表面に血管組織を早期に被覆させることが可能となる。

アパタイトの複合法として、これまでに、生体模倣反応、プラズマスプレー法、パルスレーザーデポジションなどが提起されている。しかし従来の方法により得られるアパタイトは、生体中での分解・吸収性が高いアモルファス体であり、また、アパタイト-基材間の結合は弱いことが指摘されている。

一方、我々が提起する新規なナノアパタイト複合法は、生体内での分解性および吸収性の低いアパタイト焼成体（単結晶体）をあらかじめ調製しておき、それを基材表面に化学的に結合させるものである。本方法論を内シャント不全の治療に用いるステントグラフトに適用し、ナノアパタイトを強固に複合化したステントグラフトを創出することで、機械的物性を低下させることなく細胞接着性の付与が期待できる。

当該研究課題ではこれまでに、ナノアパタイト複合化グラフトおよびステントの創出に成功し、さらに、2週間および4週間でのグラフト置換試験によって血管内皮細胞の早期伸展および内膜・外膜組織の早期成熟を確認している。また、ナノアパタイト複合化ステントの *in vitro* 評価によって平滑筋細胞接着性の向上を確認している。

本研究では、これまでの検討によって創出したナノアパタイト複合化グラフト、ステント、および両者を一体化したナノアパタイト複合化ステントグラフトの有用性について動物実験によって評価することを目的とした。

実験方法

1. 試薬

ポリエステル製グラフト（内径, 5 mm ; 厚さ, 170 μm ; 透水度, 50-150 ml/min/cm² at 120 mmHg and 37°C）はエタノール洗浄後に用いた。ステント（内径 1.64mm ; 長さ, 12mm）は SUS316L 製のものをを用いた。基材の表面処理に用いた γ -methacryloxy-propyl triethoxysilane (MPTS) は信越化学工業株式会社から提供されたものを減圧蒸留後に使用した。3-mercaptopropyltrimethoxysilane はシグマ・アルドリッチ社製のものを使用した。その他の化学試薬はナカライテスク（株）から購入した試薬特級品を使用した。

2. ナノアパタイトの調製

連続相としてドデカン、非イオン性界面活性剤としてペンタエチレングリコールドデシルエーテルを用いた。上記界面活性剤 0.5 g を含有した連続相 40 mL を調製した後、Ca(OH)₂ 水懸濁液 (2.5 M) を 10 mL 添加し、80°C で攪拌した。所定の温度において十分に攪拌後、1.5 M の KH₂PO₄ 水溶液を 10 mL 添加し、室温にて 24 時間反応させた。得られた反応物を融着防止剤存在下において焼成することで高分散性ナノアパタイトを作製した。ここで、融着防止剤として Ca(OH)₂、その助剤としてポリアクリル酸 (PAA) を用い、800°C で 1 時間焼成した。

3. ナノアパタイト複合化グラフト

3-1. 水酸基の導入

電圧 100 V で 12 秒間コロナ放電処理をグラフトに施すことで、表面に過酸化物を導入した。そのグラフトを 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) 水溶液中に浸漬し、60°C、窒素雰囲気下の封管中において 5 分間高分子重合反応を行った。重合後、エタノールで洗浄し、乾燥させた。

3-2. アルコキシシリル基の導入

過硫酸アンモニウム 20.0 mg を含む純水 9 ml に MPTS 0.5 mL およびペンタエチレングリコールドデシルエーテル 36.5mg を加えて十分に攪拌した混合物を試験管に入れ、水酸基を導入したグラフトを添加した。真空凍結融解による脱気を 2 回繰り返した後、60°C で 30 分間高分子重合反応を行った。重合後のグラフトはエタノール中で 1 時間攪拌することで洗浄し、60°C で 30 分間減圧乾燥した。

3-3. ナノアパタイト複合化

ナノアパタイトの濃度が 1 wt% となるようにエタノールに分散させ、アルコキシシリル基を導入したグラフトを同エタノールに加え、2 分間超音波照射を行うことで表面にナノアパタイトを吸着させた。その後、グラフトを取り出し、エタノールで洗浄した。次に、ナノアパタイト表面の水酸基とグラフトに導入したアルコキシシリル基とのシランカップリング反応を減圧下、80°C で 2 時間行った。反応後、エタノール中で 1 分間超音波を照射することで未反応のナノアパタイトを除去した。作製したナノアパタイト複合化グラフトは、室温にて乾燥後、エチレンオキサイドガス (EOG) 滅菌を行った後に使用した。

4. ナノアパタイト複合化ステントの作製

4-1. 表面のグラフト処理

ステント基材をアセトン中に浸漬し、超音波洗浄を行った。洗浄後のステントを濃硝酸中に室温で30分浸漬し、純水で洗浄することで表面の不動態を安定化させた。

3-mercaptopropyltrimethoxysilane を溶解させたエタノール中にステントを3時間浸漬し、エタノールで洗浄し、110°Cにおいて1時間熱処理を行うことでステント表面にチオール基を導入した。同ステントを用い、以下の手順に従って高分子重合反応を行った。まず、100 ml のフラスコ中にステントを静置し、媒体であるトルエンを添加し、70°Cにおいて窒素置換を行った。その後、モノマーである MPTS を添加し、ラジカル開始剤である 2,2'-azobis(isobutyronitrile) を溶解したトルエンを注入することで重合反応を開始した。重合反応は70°Cにおいて2時間行い、その後、エタノールで洗浄を行った。

4-2. ナノアパタイト複合化

ナノアパタイトの濃度が1 wt%となるようにエタノールに分散させ、アルコキシシリル基を導入したステントを同エタノールに加え、5分間超音波照射を行うことで表面にナノアパタイトを吸着させた。ステントを取りだし、エタノールを用いて洗浄を行った後、減圧条件下、110°Cにおいて2時間、ナノアパタイト表面に存在する水酸基とステンレス表面に導入したアルコキシシリル基とのシランカップリング反応を行った。反応後、ステント表面に結合していないナノアパタイトを除去するために、超音波洗浄機(20 kHz; 35W)を用いて洗浄した。作製したナノアパタイト複合化ステントは、室温にて乾燥後、EOG滅菌を行った後に使用した。

5. ナノアパタイト複合化ステントグラフト

の作製

上記の方法で作製したナノアパタイト複合化グラフトおよびナノアパタイト複合化ステントをポリプロピレン縫合糸(ジョンソン・エンド・ジョンソン(株)製、プロリーン USP No. 9-0)を用いて単純縫合で締結することで一体化し、ステントグラフトを作製した。作製したナノアパタイト複合化ステントグラフトはEOG滅菌後に使用した。

6. 埋植試験

供試動物として交雑犬(雄、8ヶ月齢、25~30 kg)を選択し、埋植は以下のようにして行った。なお、全ての動物実験は「国立循環器病センター動物実験指針」を遵守し、動物愛護を配慮して行った。また、使用数が最小限になるように計画を立案した。

6-1. グラフト

麻酔前に2 mlのセルシン注射液(ジアゼパム 10 mg含有; 武田薬品工業(株)製)および2 mlの硫酸アトロピン注射液(硫酸アトロピン 1 mg含有; 田辺製薬(株)製)を投与し、注射麻酔として0.2 ml/kgのケタラル(塩酸ケタミン 10 mg/kg; 三共エール薬品(株)製)を使用した。ペニシリン系抗生物質として注射用ピクシリン(アンピシリンナトリウム 1 g含有; 明治製菓(株)製)を用い、持続吸入麻酔剤として2%イソフルラン(メルクホエイ社製エスカイン)を施した。

ヘパリン(持田製薬(株)製ノボ・ヘパリン) 100 IU/kgを静脈注射し、頸部腹側を正中切開した後、一方の頸動脈30mmを切除し、EOG滅菌した未処理グラフト(内径5 mm)で置換し、ナイロン縫合糸(アルフレッサファーマ(株)製ネスコスーチャー、USP NO. 7-0)で縫合した。その後、

他方の頸動脈を同様にナノアパタイト複合化グラフト（内径 5 mm 長さ 30 mm）で置換した。筋肉および皮下組織は吸収性縫合糸（ETHICON 社製 Vicryl、USP No.4-0）にて連続縫合し、皮膚はナイロン縫合糸（（株）秋山製作所製 EIP、USP No. 2-0）にて結節十字縫合した。

所定の期間飼育した後に安楽死処置し、埋植したグラフトを摘出した。摘出したグラフトは、リン酸緩衝液で洗浄後、5%中性緩衝ホルマリン溶液に浸漬して組織切片サンプルとした。評価としては、外観観察、走査型電子顕微鏡観察、組織切片観察を行った。組織切片は Hematoxylin-Eosin（HE）染色、von Willebrand Factor（vWF）染色および α -Smooth Muscle Actin（ α -SMA）染色を行った後に観察した。

6-2. ステント

麻酔前に 2ml のセルシン注射液（ジアゼパム 10 mg 含有；武田薬品工業（株）製）および 2 ml の硫酸アトロピン注射液（硫酸アトロピン 1 mg 含有；田辺製薬（株）製）を投与し、注射麻酔として 0.8 ml/kg のラボナール（チオペンタールナトリウム 0.5 g；田辺製薬（株）製）を使用した。また、ペニシリン系抗生物質として注射用ビクシリン（アンピシリンナトリウム 1 g 含有；明治製菓（株）製）を用い、持続吸入麻酔剤として 1-2%イソフルラン（メルクホエイ社製エスカイン）を施行した。

ヘパリン（持田製菓（株）製 ノボ・ヘパリン）100 IU/kg を静脈注射し、内股部腹側正中切開した後、右大腿動脈を露出させ、動脈に対して垂直に切開し、X線透過装置を用いながらウイニングシース（日本シャーウッド（株）製、アーガイル 7F）および拡張用 PTA カテーテル（ジョンソン・エンド・ジョンソン（株）製、パワーフレックス

P3）を用いて未処理ステントを留置し、ナイロン縫合糸（アルフレッサファーマ（株）製、ネスコスーチャー-USP No. 7-0）を用い単純で縫合した。その後、左大腿動脈にナノアパタイト複合化ステントを同様に留置した。さらに両側総頸動脈に同様にステントを留置した。

留置 1 週、2 週および 4 週後にそれぞれ 2 検体ずつ安楽死処置し、留置したステントおよび周囲組織を摘出した。摘出したステントは生理食塩水で洗浄し、その後、リン酸緩衝液（PBS）で洗浄後、10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬し、組織切片サンプルとした。評価としては、外観撮影および組織切片観察を行った。なお、組織切片は HE 染色後に観察した。

6-3. ステントグラフト

麻酔前に 2ml のセルシン注射液（ジアゼパム 10 mg 含有；武田薬品工業（株）製）および 2 ml の硫酸アトロピン注射液（硫酸アトロピン 1 mg 含有；田辺製薬（株）製）を投与し、注射麻酔として 0.8 ml/kg のラボナール（チオペンタールナトリウム 0.5 g；田辺製薬（株）製）を使用した。また、ペニシリン系抗生物質として注射用ビクシリン（アンピシリンナトリウム 1 g 含有；明治製菓（株）製）を用い、持続吸入麻酔剤として 1-2%イソフルラン（メルクホエイ社製エスカイン）を施行した。

ヘパリン（持田製菓（株）製 ノボ・ヘパリン）100 IU/kg を静脈注射し、内股部腹側正中切開した後、右大腿動脈を露出させ、動脈に対して垂直に切開し、X線透過装置を用いながらウイニングシース（日本シャーウッド（株）製、アーガイル 8F）および拡張用 PTA カテーテル（ジョンソン・エンド・ジョンソン（株）製、パワーフレックス P3）を用いて未処理ステントグラフトを留置し、

ナイロン縫合糸(アルフレッサファーマ(株)製、ネスコスーチャーUSP No. 7-0)を用い単純で縫合した。その後、左大腿動脈にナノアパタイト複合化ステントグラフトを同様に留置した。

留置1週、2週および4週後にそれぞれ2検体ずつ安楽死処置し、留置したステントおよび周囲組織を摘出した。摘出したステントは生理食塩水で洗浄し、その後、リン酸緩衝液(PBS)で洗浄後、10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬し、組織切片サンプルとした。評価としては、外観撮影および組織切片観察を行った。なお、組織切片はHE染色後に観察した。

C. 研究結果および考察

1. ナノアパタイト複合化グラフト

本研究に用いた、ナノアパタイト複合化グラフトの外観および走査型電子顕微鏡像を図1に示した。走査型電子顕微鏡像から、ナノアパタイトが均一に複合化されていることが確認できる。また、これまでの検討結果から、アルコキシシリル基を導入しない場合には超音波照射することでほぼすべてのナノアパタイトは脱落し、一方、アルコキシシリル基を導入した場合には脱落が観察されないことを確認しており、これは共有結合を介して強固に複合化されていることを示唆するものである。

図2には、ナノアパタイト複合化グラフトおよび比較として用いた未処理グラフトをイヌ頸動脈に置換した後の外観を示した。12週後に埋植したグラフトを摘出した結果、ナノアパタイト複合化グラフトを用いた場合では白色で光沢のある内膜形成を示した(図3)。未処理グラフトを用いた場合においても白色で光沢のある内膜形成が認められたものの、中央部に若干の赤色血栓

塊が確認できた。また、走査型電子顕微鏡観察を行った結果、ナノアパタイト複合化グラフト、未処理グラフトともに同様の潤滑面を形成していることが確認された(図4)

図5-7には、各組織切片像を示した。HE染色した組織切片像では、ナノアパタイト複合化グラフトは未処理グラフトと比較して細胞外マトリクスの成熟が認められた(図5)。また、 α -SMA染色を行った結果、両グラフトの上層部位に平滑筋細胞が配列し、その下層部位には線維芽細胞が存在することから生体血管の内膜構造に近いことが確認できた(図6)。さらに、vWF染色を行った結果、未処理グラフトを用いた場合では血管内皮細胞の配列が不均一・凹凸であったが、一方、ナノアパタイト複合化グラフトでは単層均一に血管内皮細胞が配列していることが確認された(図7)。これらの結果から、ナノアパタイト複合化グラフトを用いることで、遠隔期においても安定した新生内膜表面が得られることが明らかとなった。

図8には、グラフト表面へ伸展・被覆した平滑筋および血管内皮の吻合部から距離を示した。伸展距離は組織切片像から測定したものである。ナノアパタイト複合化グラフトは未処理グラフトに比べ、平滑筋細胞および血管内皮細胞ともに全ての期間において有意に長く伸展・被覆していることが明らかとなった。これらの結果は、血漿タンパク質の吸着性に優れるナノアパタイト表面が血液細胞などに対して良好な足場として働いたためと考えられる。

ここで、ポリエステル繊維製グラフトは、繊維間隙から漏血する構造であるが、埋植前に血液中に浸すこと(Preclotting操作)で繊維間隙を血栓で目詰まりさせることによって一時的に血液の

漏れない状態にして使用される。Preclotting により形成させた血栓が溶解し、細胞が繊維間隙に侵入することで漏血を防ぐ。しかし、このような Preclotting 操作は時間を要することや、また、血液そのものが凝固異常をきたしている場合には Preclotting が不十分になることが問題であった。このため、術中の Preclotting 操作の代わりに、予めコラーゲンやゼラチンなどを被覆したシールドグラフトが用いられる場合がある。シールドグラフトのシール剤として用いられているコラーゲンやゼラチンはウシ由来のものが主流であるが、コラーゲン中のテロペプチド部分は抗原性が高いため、抗原部を化学的にマスクしたものやペプシンで選択的に除去したアテロコラーゲン、あるいはさらに細かく裁断したゼラチンが使用されている。これらは水溶液の状態でポリエステル繊維に塗布され、ホルムアルデヒドやグルタルアルデヒドなどの化学架橋剤で処理することで溶解・分解性が制御される。コラーゲンやゼラチン自体は、細胞に対する良好な足場を与えるものであるが、使用する架橋剤の毒性のために足場としての特性は生かされていないのが現状である。さらに、牛海綿状脳症（Bovine Spongiform Encephalopathy ; BSE）問題を受けて、新たなシール剤が求められている。

本研究で開発したナノアパタイト複合化グラフトは、上記のような動物由来タンパク質を用いることなく早期に安定な新生内膜を得ることが可能となることから、安全性、保存性、滅菌性に優れた新規なグラフトとして期待できる。

2. ナノアパタイト複合化ステント

ステンレスに代表される金属材料の表面にアパタイト層を形成させる方法として、プラズマス

プレー法、パルスレーザーデポジションなどが提起されている。しかし、前述したように、従来の方法により得られるアパタイトは、生体中での分解・吸収性が高いアモルファス体であり、また、アパタイト-基材間の結合は弱いことが指摘されている。このため、アパタイト層を形成した後に800℃以上の高温において熱処理を行い、アパタイトの結晶性およびアパタイト-金属材料間の密着性を向上させる必要があった。しかし、金属材料およびアパタイトの一部が熱処理により劣化し、例えば、一般的な生体用ステンレスであるSUS316Lの場合、500～900℃の熱処理を行うことで、クロム炭化物などの化合物が結晶粒間に析出するために機械的強度が低下することや、金属が触媒となってアパタイトの一部が分解することが報告されている。一方、我々が提起する新規な複合化法を金属材料ならびにステントに適用することで、機械的物性を低下させることなく細胞接着性の付与が期待できる。また、ナノアパタイトを複合化させる際にコーティングする高分子によって、ステンレスからの金属イオン（ニッケルイオンなど）の溶出も防止できることが考えられる。

図9および図10には、作製したナノアパタイト複合化ステントの外観および走査型電子顕微鏡像を示した。走査型電子顕微鏡像からナノアパタイトが均一に複合化されていることが確認できる。

図11および図12には、イヌ大腿動脈にナノアパタイト複合化ステントを留置した状態を示した。左大腿動脈にナノアパタイト複合化ステントを留置し、比較対照として用いた未処理ステントは同一個体の右大腿動脈に留置した。

図13には、留置1週後に摘出したステント周

囲組織の切片像を示した。各図の (c) および (d) は血管内膜側を拡大したものである。ナノアパタイト複合化ステントおよび未処理ステントともに少量の赤色血栓が認められた。また、ナノアパタイト複合化ステントでは未処理ステントと比較して内膜が剥離することなく、安定して形成したことが確認される。

図 14 には留置 2 週後の組織切片を示した。未処理ステントでは内膜の肥厚およびステントに隣接する組織に炎症性細胞および異物巨細胞が確認された。一方、ナノアパタイト複合化ステントでは薄い内膜の形成および血栓形成の低減が認められた。

留置 4 週間後には、ナノアパタイト複合化ステントには血栓形成は見られず、内膜表面は滑らかに形成されていた (図 15)。一方、未処理ステントではステント表面に血栓付着が形成されおり、また、内膜表面にも血栓形成が残存していることが確認できる。

3. ナノアパタイト複合化ステントグラフト

作製したナノアパタイト複合化ステントグラフトの外観写真を図 16 に示した。作製したステントグラフトをシース内に装着し (図 17)、イヌ左大腿動脈および左側総頸動脈にナノアパタイト複合化ステントグラフトを留置した。比較として未処理ステントグラフトを右大腿動脈および右側総頸動脈に留置し、1、2、4 週間後に摘出して評価を行なった。

図 18-20 にはステント留置後の組織切片像を示した。各図の (c) および (d) は血管の内膜側を拡大したものである。未処理ステントグラフトの場合、留置 1 週間後では血栓を含む厚い内膜が形成しており、さらに、内膜とグラフトとの接触部

で剥離が生じていた (図 18)。留置 2 週間後では内膜増殖がさらに進行し、内膜とグラフトの接触部で広範囲に剥離が生じた (図 19)。留置 4 週間後では内膜剥離が生じており、さらにその内膜表面にも血栓形成が生じていた (図 20)。一方、ナノアパタイト複合化ステントグラフトの場合では、各留置期間において新生内膜は薄く、また、新生形成表面には血栓形成が少ないことが確認され、さらに、グラフトと内膜の密着性も確認された (図 18-20)。

D. 結論

これまでの検討によって創出したナノアパタイト複合化グラフト、ステント、および両者を一体化したナノアパタイト複合化ステントグラフトの有用性を動物実験によって評価した。

グラフトの置換実験において、ナノアパタイトを表面に複合化したグラフトを用いることで、埋植初期に薄く安定した新生内膜が形成されることが分かった。このことから、血栓の剥離が抑制され、さらに細胞外マトリクスが血管基材の界面に侵入するというアンカリング効果があることが分かった。

また、ステンレス (SUS316L) 製ステント表面にナノアパタイトを複合化することで、留置後初期の炎症性および異物巨細胞の出現および血栓形成の抑制効果が得られ、さらに、薄く安定した新生内膜が形成した。

さらに、両者を一体化したナノアパタイト複合化ステントグラフトを埋植することで、前述したような薄い新生内膜の形成に加えて、内膜とグラフトの接触部において接着性が確認でき、安定したステントグラフトの留置が実現できた。

以上の結果は、グラフト表面に強固に複合化し

たナノアパタイトの血漿タンパク質吸着性によるものであり、血液細胞などに対して良好な足場として働いたことによるものと考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) T. Furuzono, M. Masuda, M. Okada, S. Yasuda, H. Kadono, R. Tanaka, T. Inenaga, and K. Miyatake, Increase of cell adhesiveness on poly(ethylene terephthalate) fabric by coating of sintered hydroxyapatite nanocrystals for development of an artificial blood vessel, *ASAIO J.*, **52**, 315-320 (2006)
- 2) M. Okada, M. Masuda, R. Tanaka, K. Miyatake, D. Kuroda, and T. Furuzono, Preparation of hydroxyapatite-nanocrystals-coated stainless steel, and its cell interaction, *J. Biomed. Mater. Res.*, in contribution.
- 3) H. Kadono, M. Masuda, M. Ueki, M. Okada, S. Yasuda, R. Tanaka, K. Miyatake and T. Furuzono, Development of poly(ethylene terephthalate) vascular prostheses by coating of sintered hydroxyapatite nanocrystals, *J Artif. Organs*, in preparation

3. 学会発表、その他

- 1) 植木光樹, 益田美和, 角野弘幸, 安田昌司, 岡田正弘, 田中良一, 宮武邦夫, 古菌 勉, ナノアパタイトを被覆したポリエステル製人工血管の開発, 第 22 回日本医工学治療学会大会, 福岡国際会議場, 福岡 (2006.4.21-23)
- 2) M. Masuda, M. Okada, S. Yasuda, H. Kadono, R. Tanaka, K. Miyatake, and T. Furuzono, Increase of cell adhesiveness on poly(ethylene

terephthalate) fabric by coating of sintered hydroxyapatite nanocrystals, Society for Biomaterials 2006 Annual Meeting, Pittsburg, Pennsylvania, USA (2006.4.26-29)

- 3) 植木光樹, 古菌 勉, ステントグラフト実験計画, 第 1 回国循ステントグラフト班会議, 国立循環器病センター研究所, 大阪 (2006.5.19)
- 4) 益田美和, 植木光樹, 角野弘幸, 岡田正弘, 安田昌司, 田中良一, 宮武邦夫, 古菌 勉, ナノアパタイト/ポリエステル複合体からなる医療デバイスと血液接触界面の組織学的特性, 第 55 回高分子学会年次大会, 名古屋国際会議場, 愛知 (2006.5.24-26)
- 5) 岡田正弘, 益田美和, 植木光樹, 角野弘幸, 安田昌司, 田中良一, 宮武邦夫, 古菌 勉, セラミックス-高分子-金属三元複合化による生体親和材料の開発, 第 52 回高分子研究発表会, 兵庫県中央労働センター, 兵庫 (2006.7.21)
- 6) 植木光樹, 益田美和, 角野弘幸, 安田昌司, 岡田正弘, 田中良一, 宮武邦夫, 小山富久, 高久田和夫, 海本浩一, 古菌 勉, 早期安定内膜の形成を目的としたナノアパタイトコーティング人工血管, 第 44 回日本人工臓器学会大会, パシフィコ横浜, 神奈川 (2006.10.31-11.2)
- 7) 角野弘幸, 益田美和, 植木光樹, 岡田正弘, 安田昌司, 田中良一, 宮武邦夫, 小山富久, 高久田和夫, 古菌 勉, 高分散性ナノハイドロキシアパタイト複合化ポリエステル製人工血管の生体内反応, 第 28 回日本バイオマテリアル学会大会, アルカディア市ヶ谷, 東京 (2006.11.27-28)
- 8) 古菌 勉, 益田美和, 植木光樹, 角野弘幸, 小粥

康充, 田中良一, 小山富久, 高久田和夫, 岡田
正弘, 人工血管素材としてのナノ無機複合
体と *in vivo* 評価, 第 56 回高分子学会年次大
会, 国立京都国際会館, 京都 (2007.5.29~31)

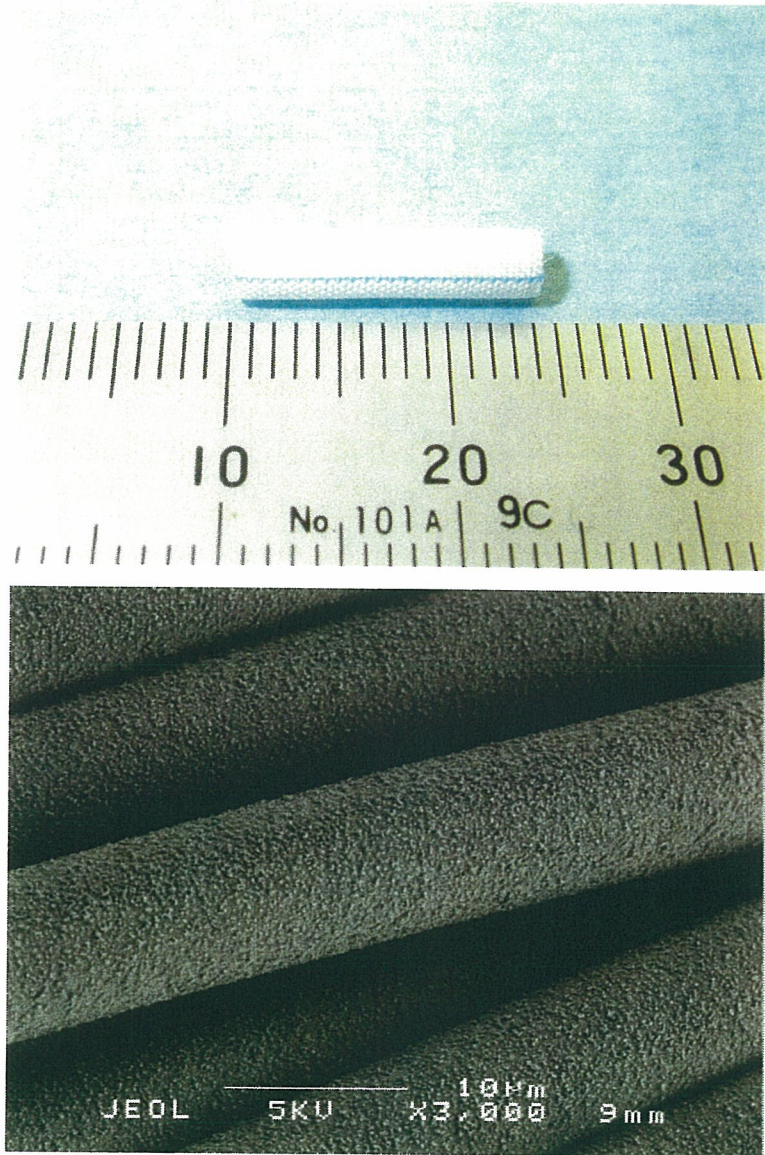


図1. ナノアパタイト複合化グラフトの外観（上図）および走査型電子顕微鏡像（下図）



図2. 交雑犬（雄、8ヶ月齢、25kg）の左右頸動脈を未処理グラフトおよびナノアパタイト複合化グラフトで置換した後の外観

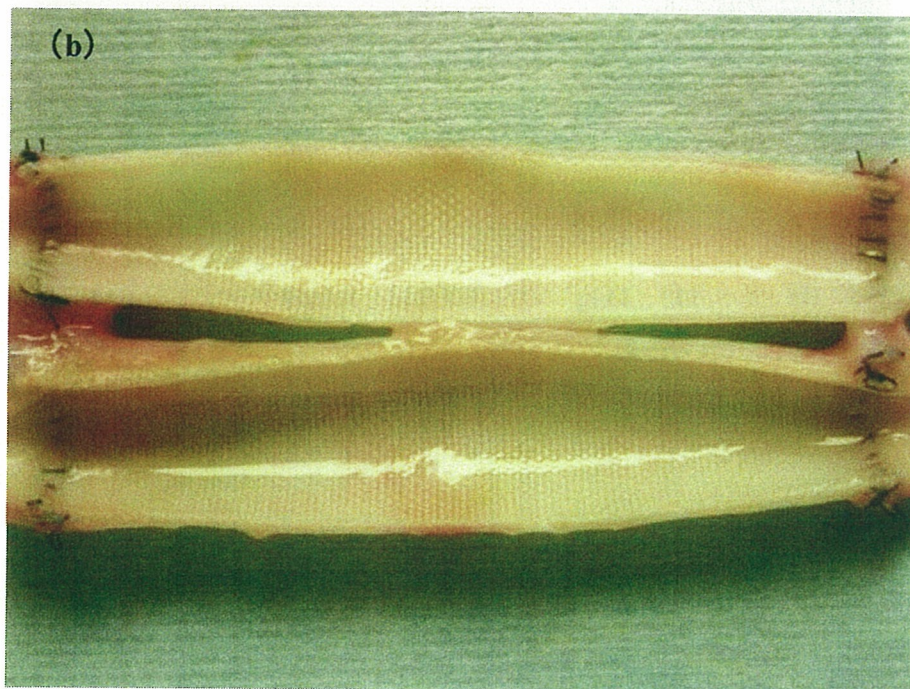


図3. 置換12週後のグラフト内腔の外観写真

(a) 未処理グラフト ; (b) ナノアパタイト複合化グラフト

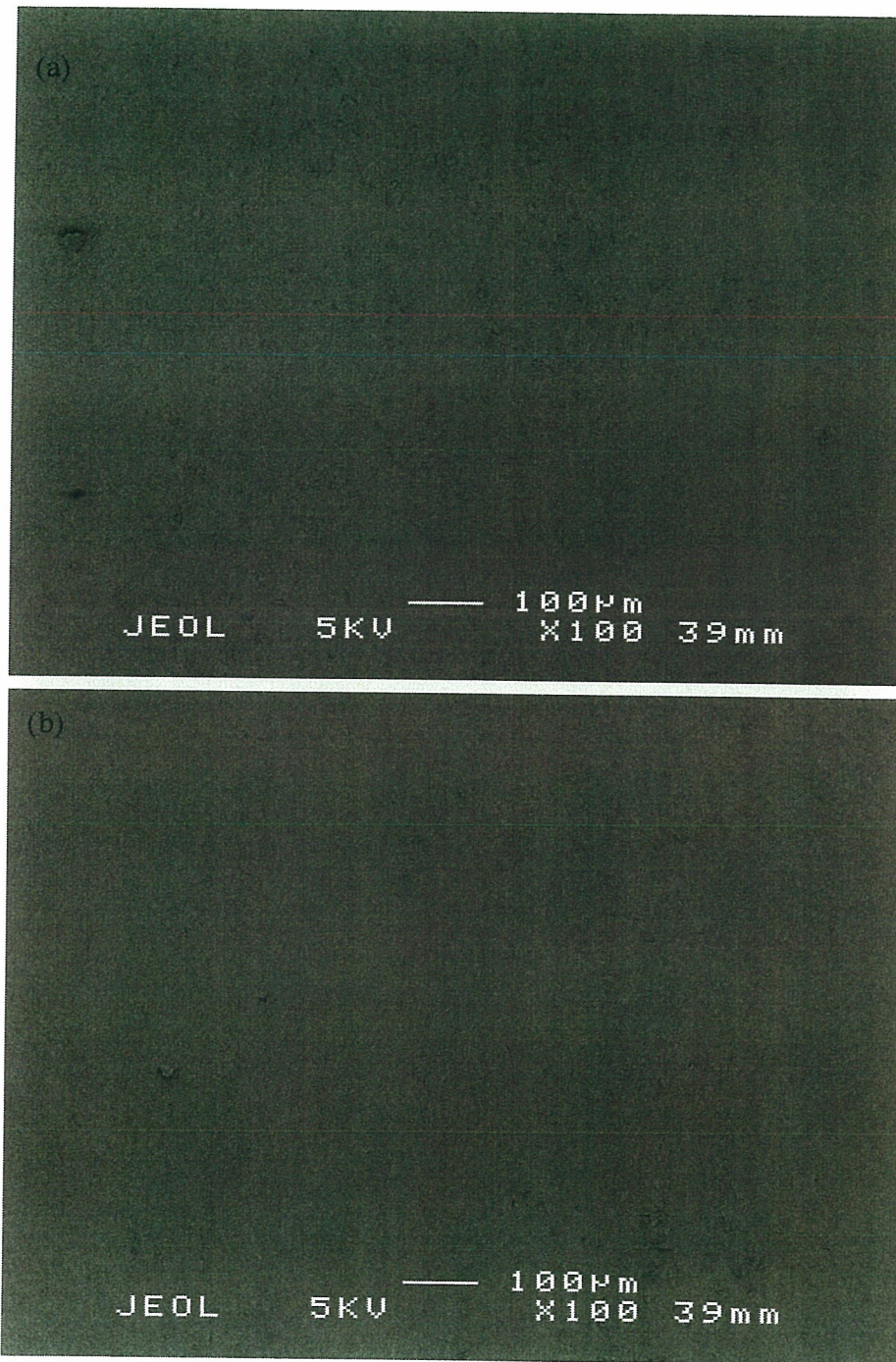


図4. 置換 12 週後の (a) 未処理グラフトおよび (b) ナノアパタイト複合化グラフトの
吻合部付近の走査型電子顕微鏡像

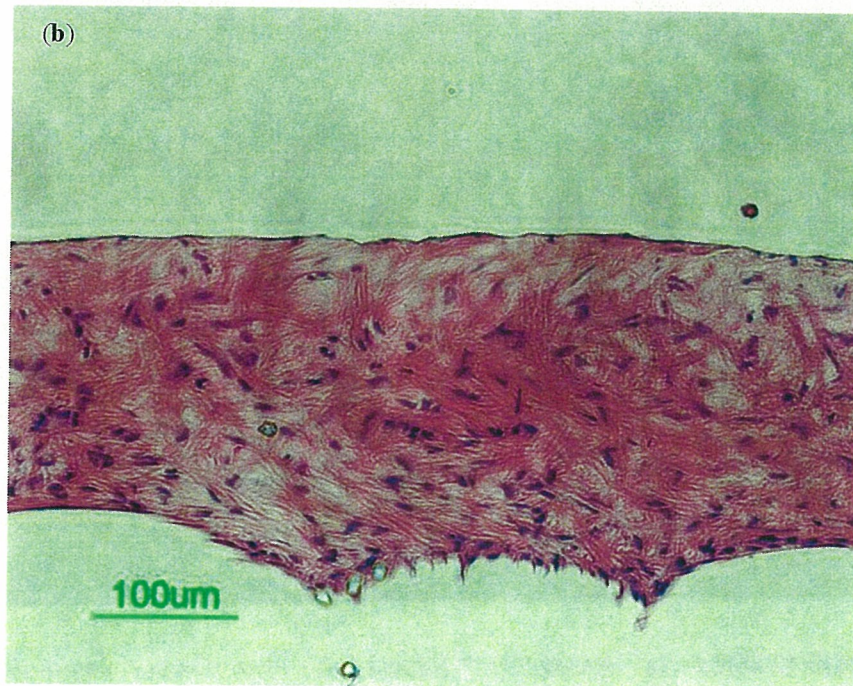
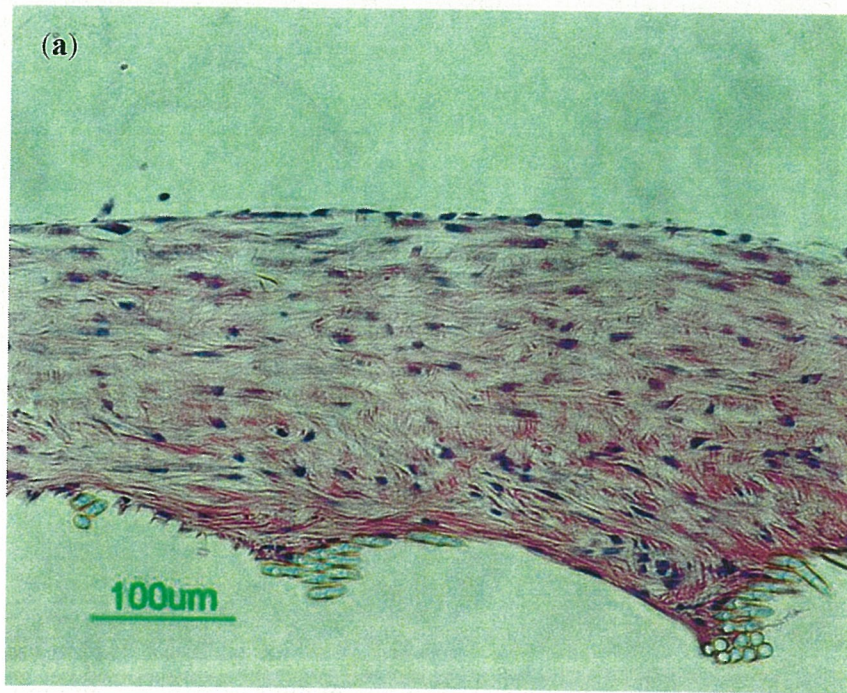


図 5. 置換 12 週後のグラフト内腔の組織切片像 (Hematoxylin-Eosin 染色)
(a) 未処理グラフト ; (b) ナノアパタイト複合化グラフト

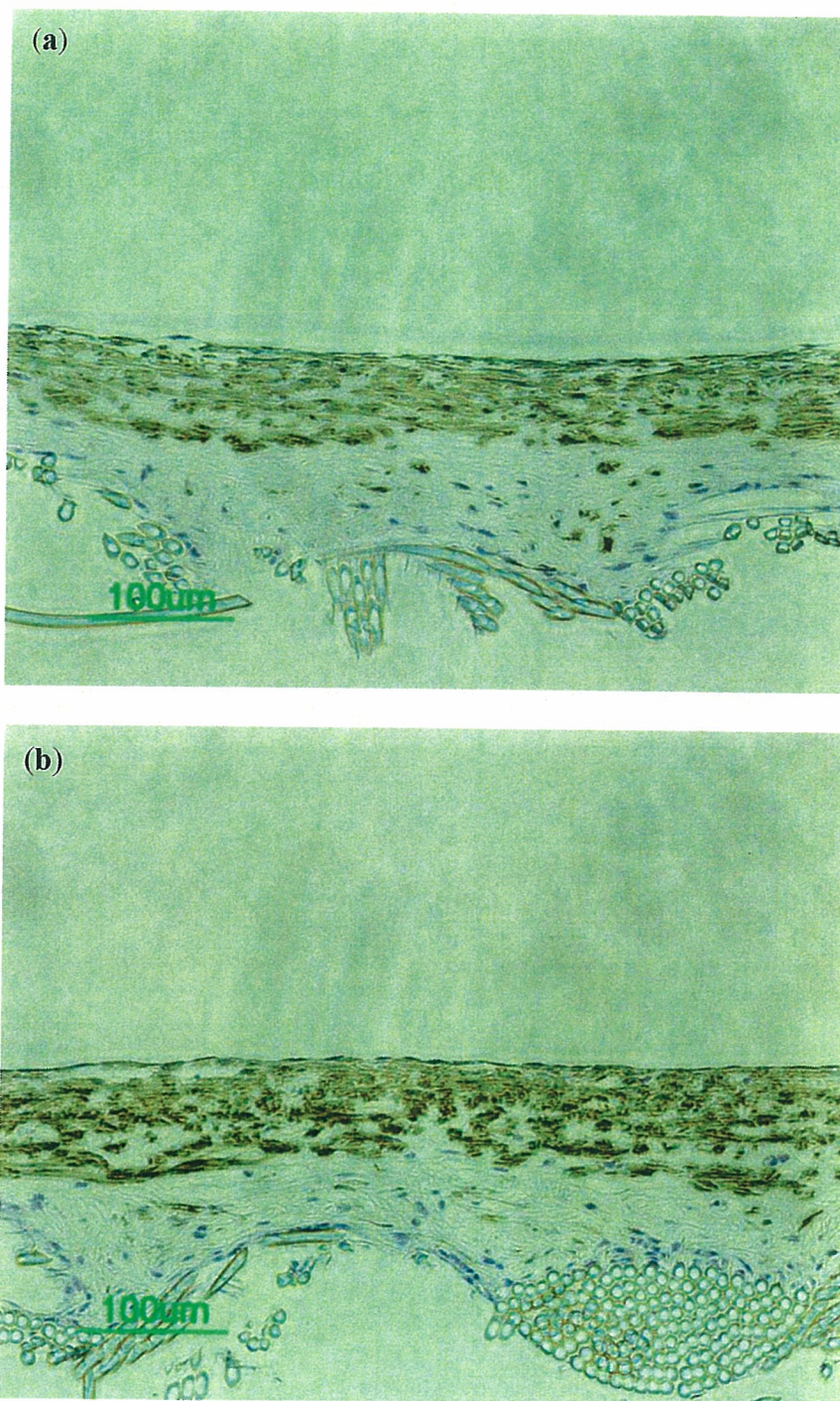


図6. 置換 12 週後のグラフト内腔の組織切片像 (α -Smooth Muscle Actin 染色)
(a) 未処理グラフト ; (b) ナノアパタイト複合化グラフト

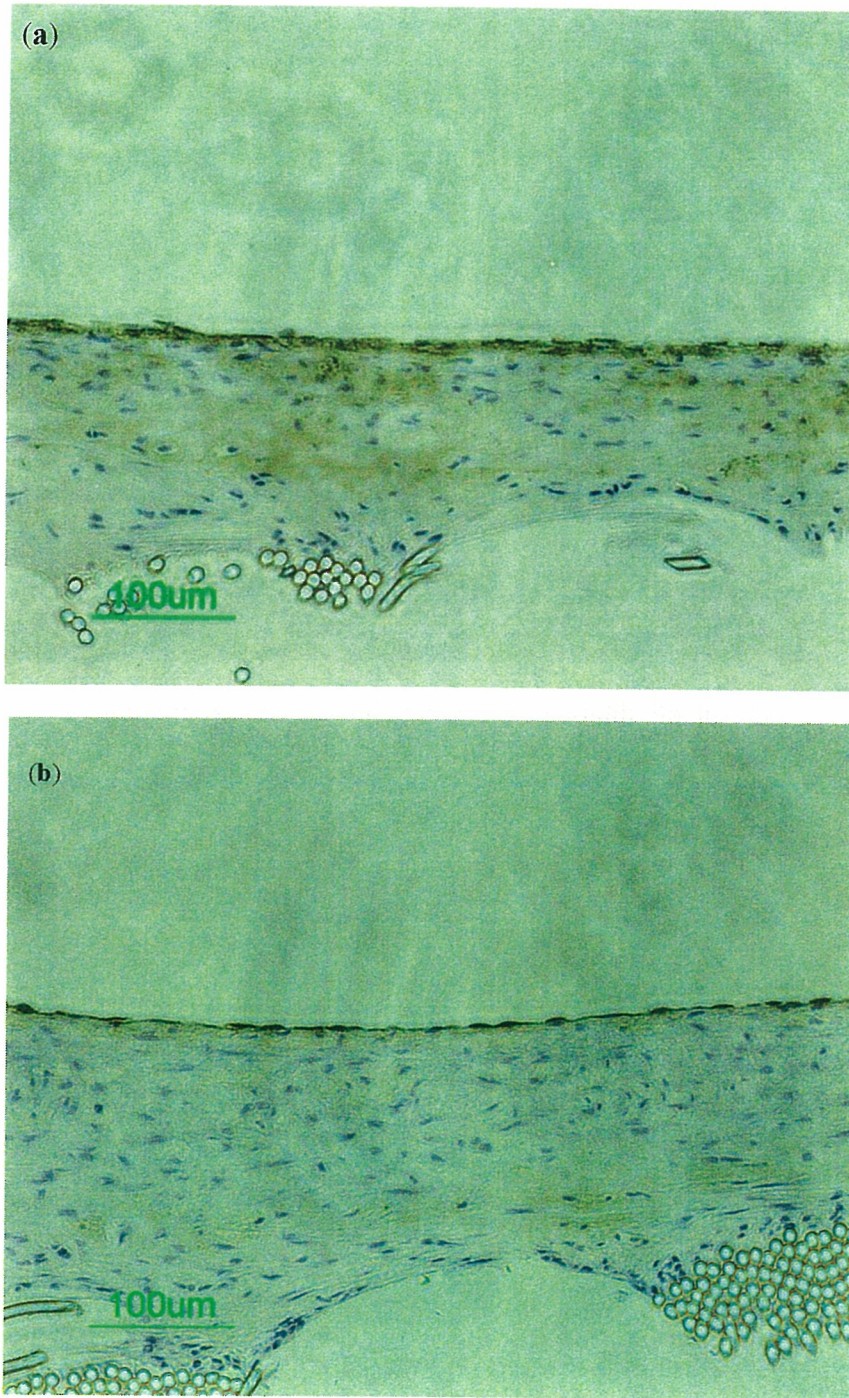


図7. 置換12週後のグラフト内腔の組織切片像 (von Willebrand Factor 染色)

(a) 未処理グラフト ; (b) ナノアパタイト複合化グラフト

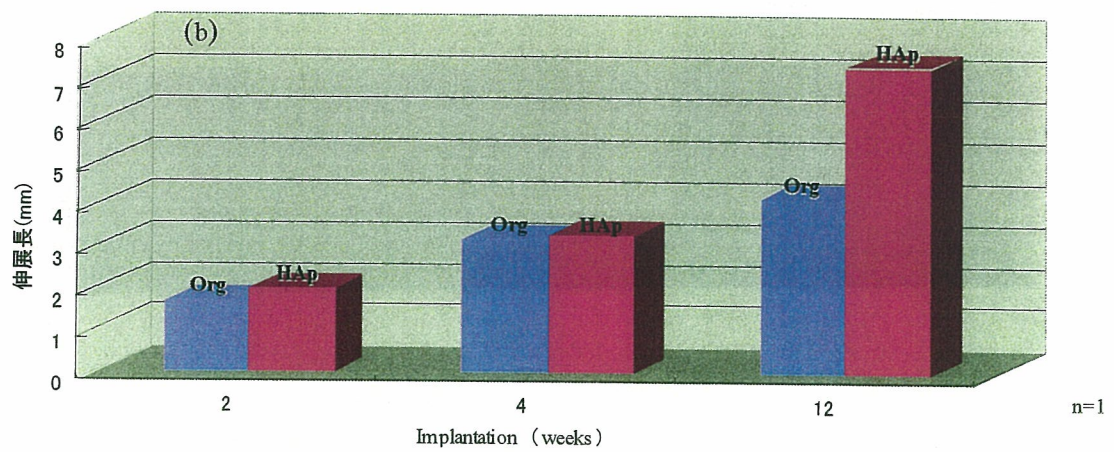
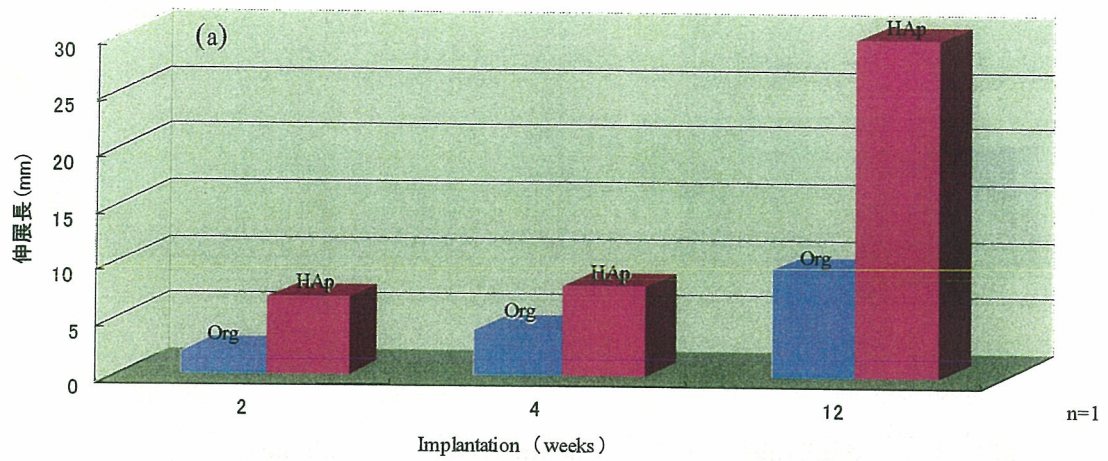


図8. 生体血管との吻合部からグラフトへ伸展した各細胞の伸展長さ
 (a) 平滑筋細胞 ; (b) 血管内皮細胞

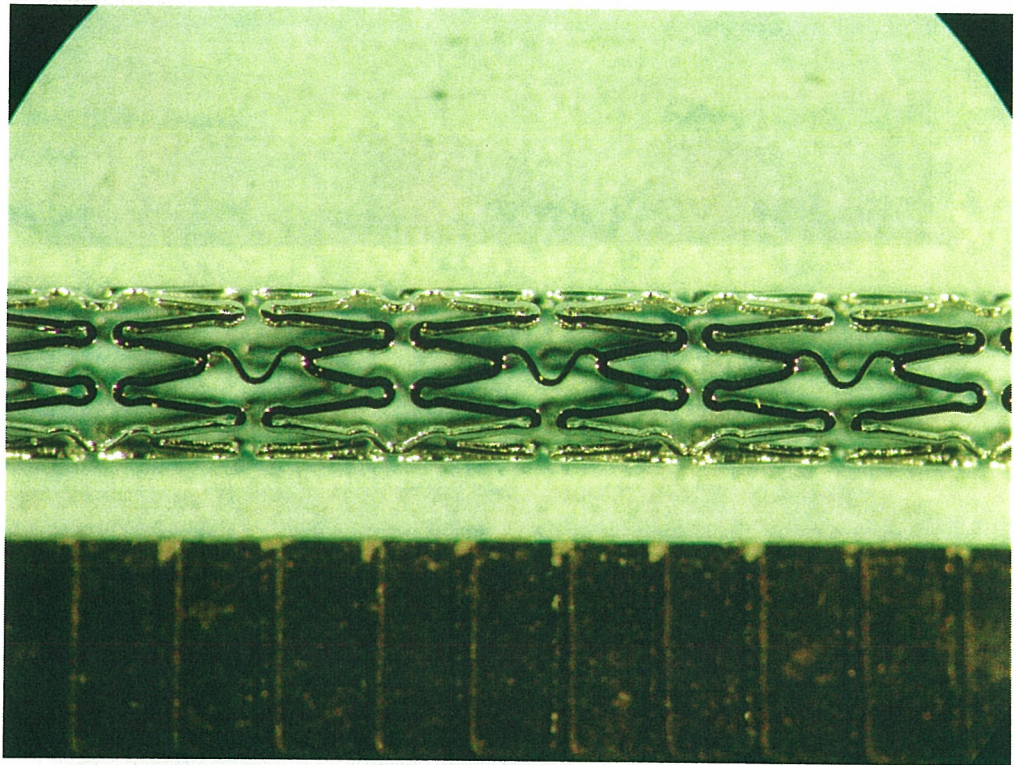


図9. ステント表面の外観写真

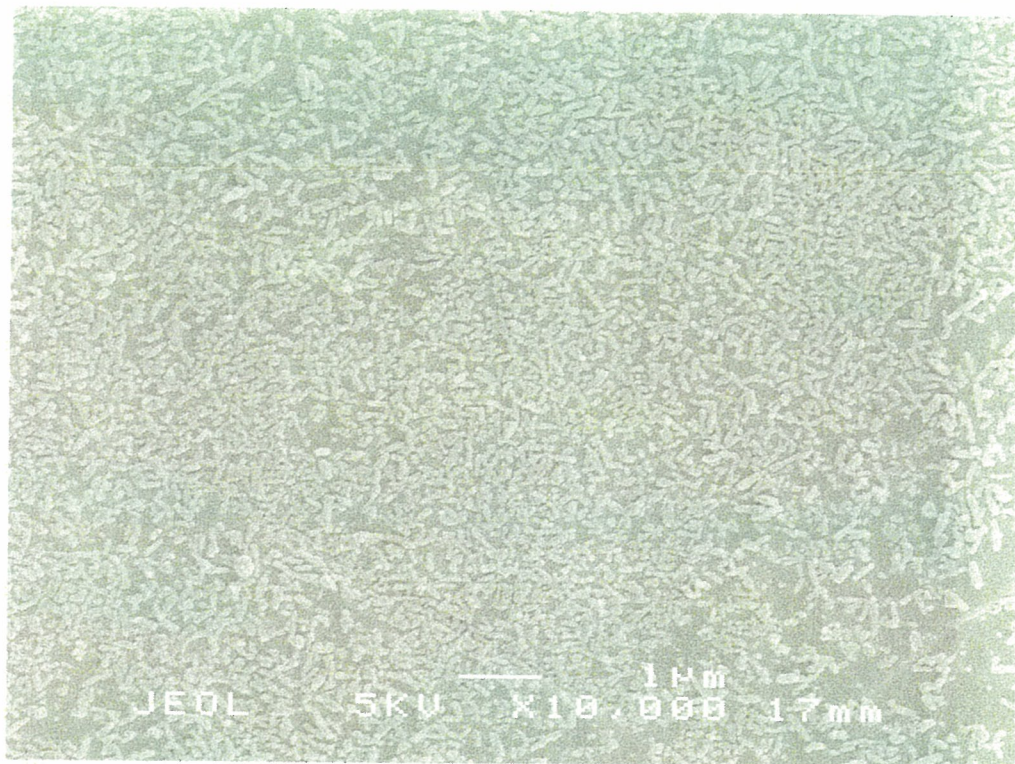


図 10. ナノアパタイト複合化ステント表面の走査型電子顕微鏡写真

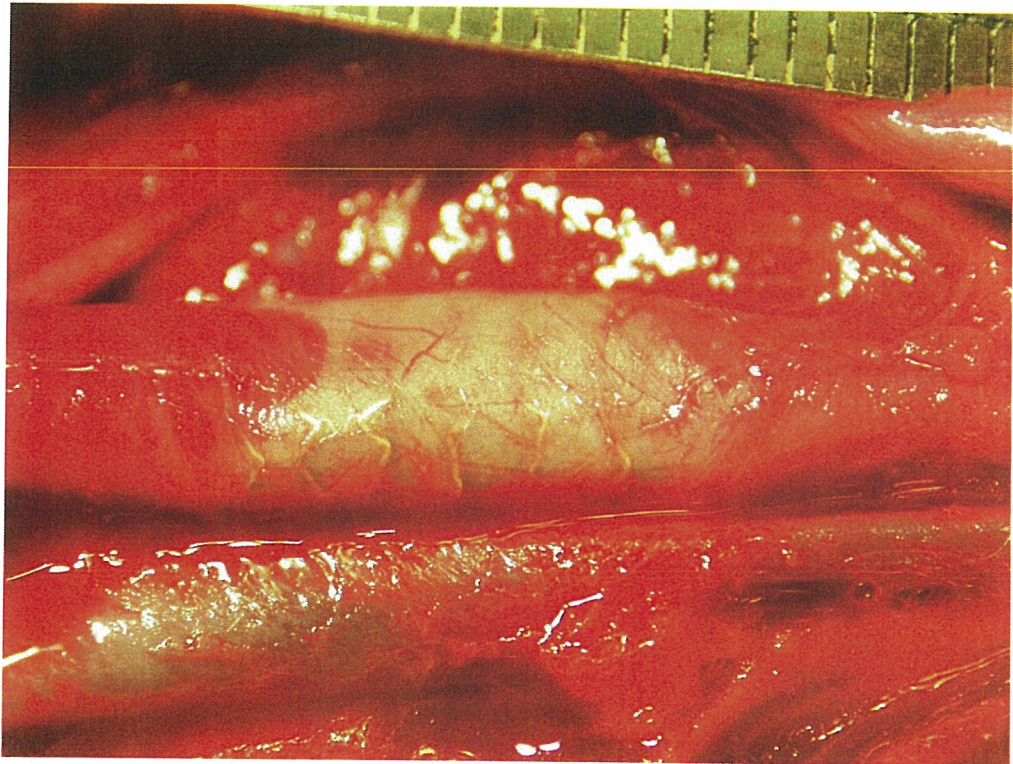


図 11. 交雑犬（雄、8ヶ月齢、25 kg）の大腿動脈にナノアパタイト複合化ステントを留置した状態の外観写真