

図 8. 各材料上の平滑筋細胞の光学顕微鏡観察結果 (5 日間培養後) : (a) 培養シャーレ (TCPS)、(b) ナノアパタイト複合化ポリエステル (HAp/PET)、(c) シロリムス担持ナノアパタイト複合化ポリエステル (Rap-HAp/PET)

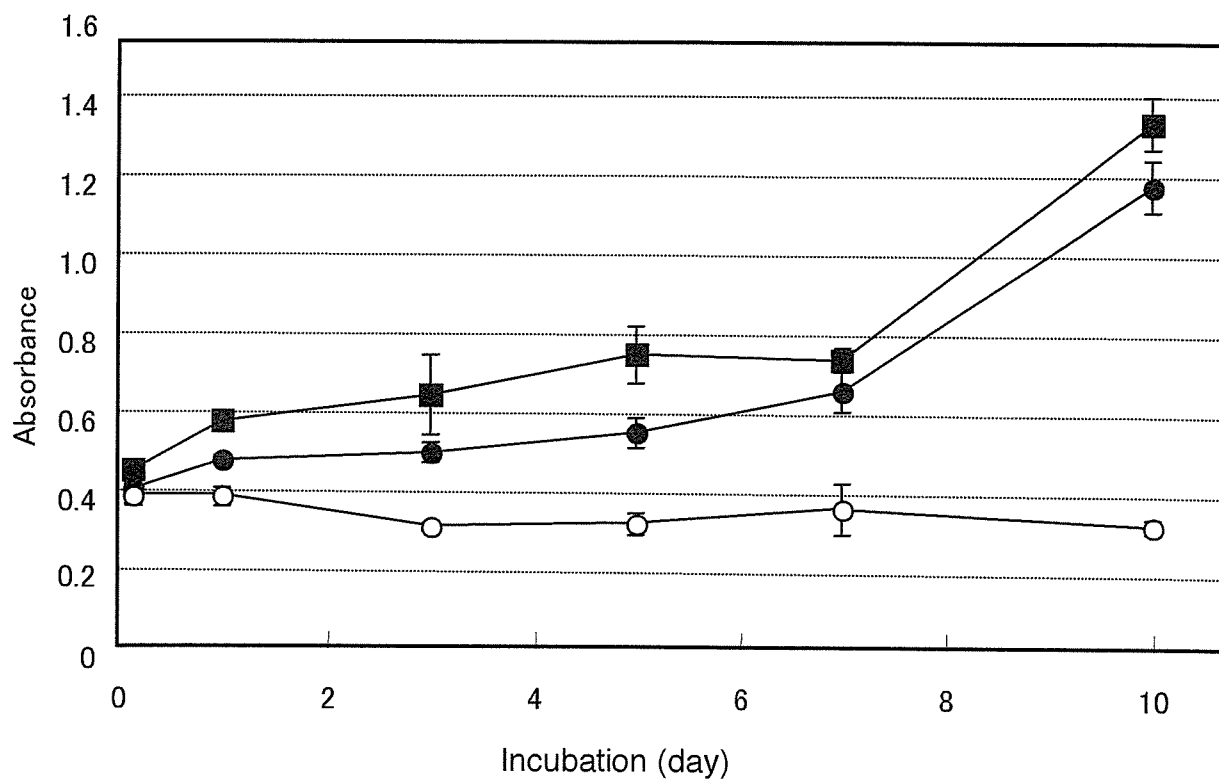


図9. 各材料上での平滑筋細胞の増殖挙動。■：培養シャーレ（TCPS）、●：ナノアパタイト複合化ポリエステル、○：シロリムス担持ナノアパタイト複合化ポリエステル

## 分担研究報告書

## 薬剤担持ステントの動物実験

分担研究者 田中 良一（岩手医科大学放射線医学講座・助手）

## 研究要旨

ナノアパタイト複合化ステントにシロリムスを担持させ、イヌ大腿動脈および両側総頸動脈への留置試験を行った。その結果、留置2週間における内膜の厚さは、未処理ステント、ナノアパタイト複合化ステント、シロリムス担持-未処理ステント、シロリムス担持-ナノアパタイト複合化ステントの順に薄くなった。このことから、ナノアパタイト複合化ステントに担持した薬物の短期（治癒期間）での放出、および、薬物放出後に露出するアパタイト表面の細胞接着性によって内皮細胞を被覆させることで、新生内膜過形成および血栓閉塞防止を可能とする新しいステント創出の可能性を見出した。

## A. 研究目的

現在市販されているシロリムス溶出ステントは、ステント表面に薬物担持用ポリマー（非吸収性）をコーティングしたものである。新生内膜の過形成による再狭窄に対しては大きな効果を示しているが、血流中にコーティングポリマーが露出し続けるために、炎症や遠隔期における再狭窄やステント血栓症の要因となりうる。このため、3ヶ月の塩酸チクロピジン投与および無期限のアスピリン投与など、長期間の抗血小板療法が必要となる。また、シロリムス溶出ステントを留置して1年後に抗血小板療法を中止したところ、ステント血栓症が続出したとの報告もあり、薬物担持のためのコーティングポリマーの関与が指摘されている。

このため、最近では、生体吸収性ポリマーであるポリ乳酸を薬物担持層としてステント表面にコーティングする技術や、コーティング素材を用

いずに薬物を直接ステント表面にコーティングする技術が開発されるなど、次世代型の薬剤溶出ステントへの関心が高まっている。

当該研究課題で開発してきたナノアパタイト複合化ステント表面にシロリムスを担持させ、短期（治癒期間）でのシロリムス放出後にアパタイトの細胞接着性によって内皮細胞を被覆させることで、再狭窄および血栓閉塞を防止できる新しいステントの創出が期待される。また、これまでの検討によって、ナノアパタイト複合化基材へのシロリムス担持に成功しており、さらに、*in vitro*において血管平滑筋細胞の増殖抑制効果を明らかとしている。

本研究では、ナノアパタイト複合化ステントの薬物溶出機能による新生内膜過形成抑制作用を *in vivo* で評価するために、シロリムス担持-ナノアパタイト複合化ステントをイヌ大腿動脈および両側総頸動脈に留置し、比較検討を行った。

## B. 研究方法

### 1. 試薬

ナノアパタイトは既報に従って作製した。薬物として用いたシロリムスは和光純薬工業（株）製のものを使用した。ステント（internal diameter 1.64mm ; length, 12mm）は SUS316L 製のものを用いた。モノマーとして用いた  $\gamma$ -methacryloxy-propyltriethoxysilane（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。その他の化学試薬はナカライテスク（株）製の特級試薬をそのまま用いた。

### 2. ナノアパタイト複合化ステントの作製

アセトン中に浸漬して超音波洗浄した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、エタノールによる洗浄後に 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 100 ml のフラスコ中に静置し、媒体であるトルエンを注入し、70°C において窒素置換を行った。その後、MPTS を添加し、ラジカル開始剤である 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (AIBN) を溶解したトルエンを添加することで高分子重合反応を開始させた。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い、室温において乾燥させた。

調製したナノアパタイトをエタノールに分散させ、その分散液中に高分子重合反応を行ったステントを浸漬し、5 分間超音波照射しながらナノアパタイトの吸着を行った。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。室温にて乾燥後、EOG 滅菌を行った。

次に、以下の手順に従ってステント表面にシロリムスを担持させた。まず、所定の濃度に調製したシロリムスのエタノール溶液を調製した。同エタノール溶液をナノアパタイト複合化ステントに添加することで、フィルム表面にシロリムスを担持させた（シロリムス担持量, 30  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ）。なお、比較として未処理ステントに同様の操作を行い、シロリムス担持-未処理ステントを作製した。

### 3. 埋植試験

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。

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。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 0.8 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ピクシリン（アンピシリンナトリウム 1 g 含有；明治製薬（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（持田製薬（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）を用いてシロリムス担持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、左大腿動脈にシロリムス担持ナノアパタイト複合化ステントを同様に留置した。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。さらに両側総頸動脈も同様に留置した。

留置2週後に2検体を安楽死処置の上、留置したステントを摘出した。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、組織切片観察を行った。なお、組織切片は Hematoxylin-Eosin（HE）染色を行った後に観察を行った。

### C. 研究結果および考察

イヌの左大腿動脈および両側総頸動脈にシロリムス担持-ナノアパタイト複合化ステントを留置し、その比較としてシロリムス担持-未処理ステントを用い、2週間後に摘出し、病理学的所見にて評価を行なった。

図1にはステント留置2週後に摘出した組織切片像を示した。図2はそれぞれの拡大写真である。シロリムス担持-ナノアパタイト複合化ステントの場合、新生内膜は薄い状態で保たれており、血

栓付着も少ないことが確認できた。一方、シロリムス担持-未処理ステントを用いた場合、その新生内膜は比較的薄いものの、多くの赤色血栓が認められた。

図3には、各組織切片像から測定した新生内膜の厚さを示した。留置2週間における内膜の厚さは、未処理ステント、ナノアパタイト複合化ステント、シロリムス担持-未処理ステント、シロリムス担持-ナノアパタイト複合化ステントの順に薄いが明らかとなった。シロリムスはFK506結合タンパク質（FKBP）12と結合し、さらにmTOR（mammalian Target of Rapamycin）と結合することでその活性を阻害することがこれまでに明らかとされている。mTOR作用の抑制によって、p27レベルが上昇し、サイクリン・CDK活性が抑制されることで、細胞増殖周期がG1後期で休止期に切り替わり、平滑筋細胞の増殖が抑制される。

### D. 結論

新しい機能を持った薬物溶出ステントを創出するために、ナノアパタイト複合化ステント表面へのシロリムス担持を行い、イヌ大腿動脈および両側総頸動脈への留置試験を行った。その結果、留置2週間における内膜の厚さは、未処理ステント、ナノアパタイト複合化ステント、シロリムス担持-未処理ステント、シロリムス担持-ナノアパタイト複合化ステントの順に薄くなった。このことからナノアパタイト複合化ステントによる短期（治療期間）での薬物放出、および、その後に露出するアパタイト表面の細胞接着性によって内皮細胞を被覆させることで、新生内膜過形成および血栓閉塞防止を可能とする新しいステント創出の可能性を見出した。

## E. 研究発表

### 1. 解説、総説

- 1) 田中良一, 腸骨動脈領域閉塞性疾患 血管内治療, *Angiology Frontier* (メディカルレビュー社), **5** (2), 18-22 (2006)
- 2) 田中良一, 画像診断と病理 大動脈疾患, *画像診断* (秀潤社), **26** (10), 1192-1193 (2006)
- 3) 田中良一, 座談会 10年後の循環器イメージング, *CARDIAC PRACTICE* (メジカルビュー社), **17** (4), 85-96 (2006)

### 2. 書籍

- 1) 田中良一, 腹部大動脈瘤ステントグラフト治療において重要な側副血行のCT診断, 田林 暁一, 栗林 幸夫編: 大動脈瘤・大動脈解離診療のコツと落とし穴 (中山書店), pp. 60-61 (2006)
- 2) 田中良一, 骨盤下肢動脈の PTA/ステント, 臨床放射線編集委員会編: *Interventional radiology* のコツ (金原出版), pp. 1641-1645 (2006)

### 3. 学会発表、その他

- 1) 田中良一, 益田美和, 岡田正弘, 安田昌司, 植木光樹, 角野弘幸, 宮武邦夫, 古菌 勉, ナノセラミクス複合化人工血管および金属ステントの開発, 第35回日本IVR学会総会, 大阪国際会議場, 大阪 (2006.5.19)
- 2) 田中良一, 古菌 勉, ステントグラフト一体化、留置法のレクチャー, 第2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 (2006.7.21)
- 3) 岡田正弘, 古菌 勉, Drug-Eluting Stent の開発, 第3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 (2006.10.20)

- 4) 植木光樹, 古菌 勉, 動物実験の進捗状況, 第3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 (2006.10.20)

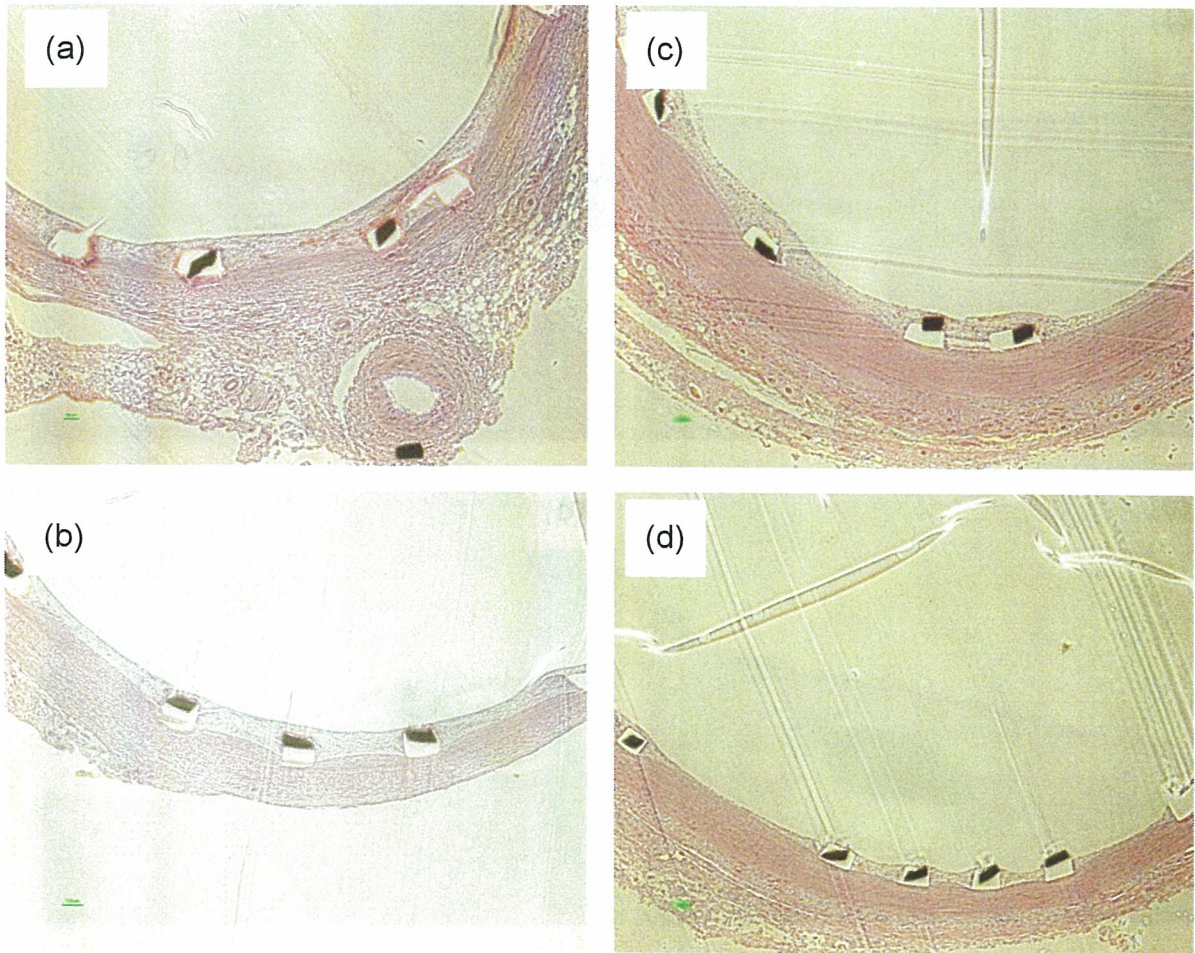


図1. 埋植2週後のステント周囲の組織切片像 (Hematoxylin-Eosin 染色) : (a) 未処理ステント、(b) シロリムス担持未処理ステント、(c) ナノアパタイト複合化ステント (d) シロリムス担持ナノアパタイト複合化ステント。

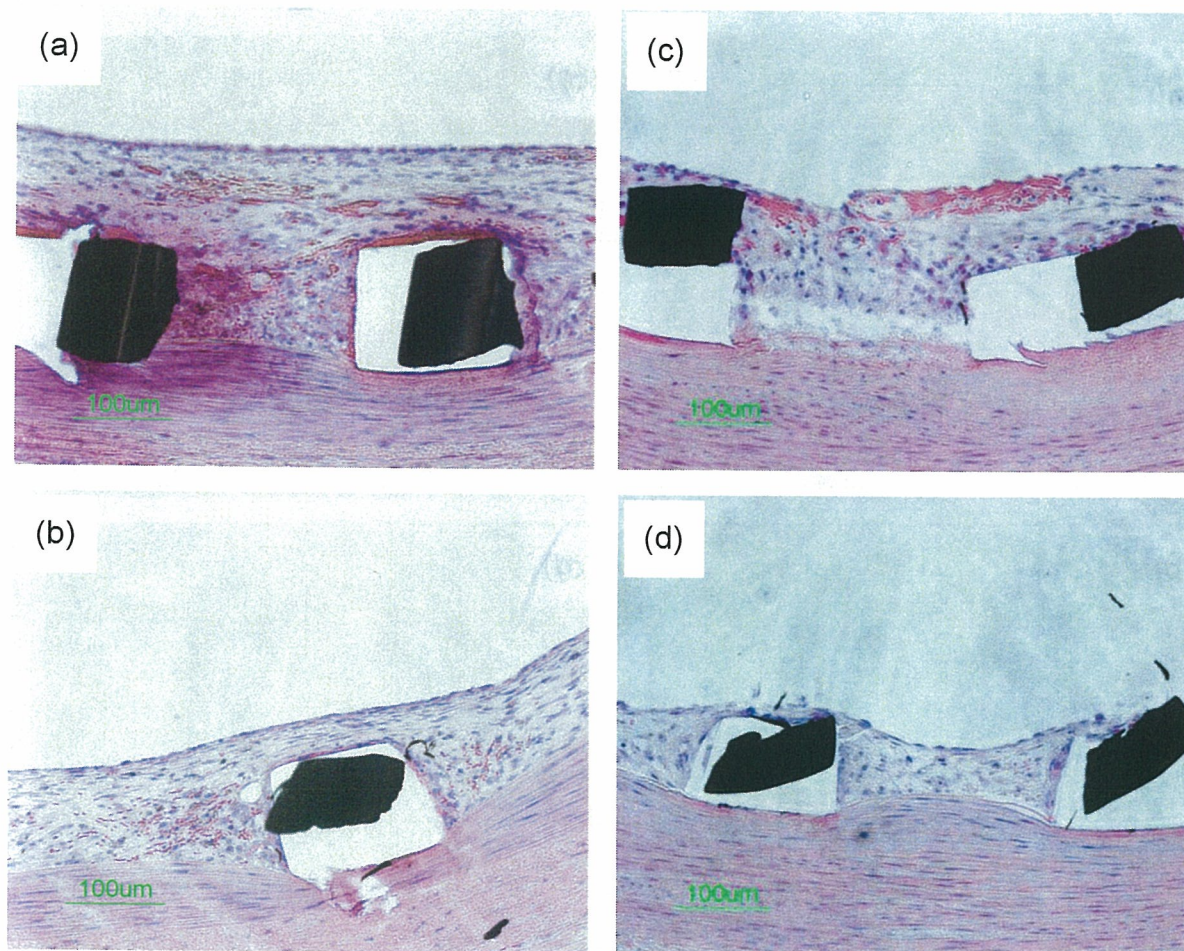


図2. 埋植2週後のステント周囲の組織切片像（Hematoxylin-Eosin染色）の拡大図：(a) 未処理ステント、(b) シロリムス担持未処理ステント、(c) ナノアパタイト複合化ステント (d) シロリムス担持ナノアパタイト複合化ステント。



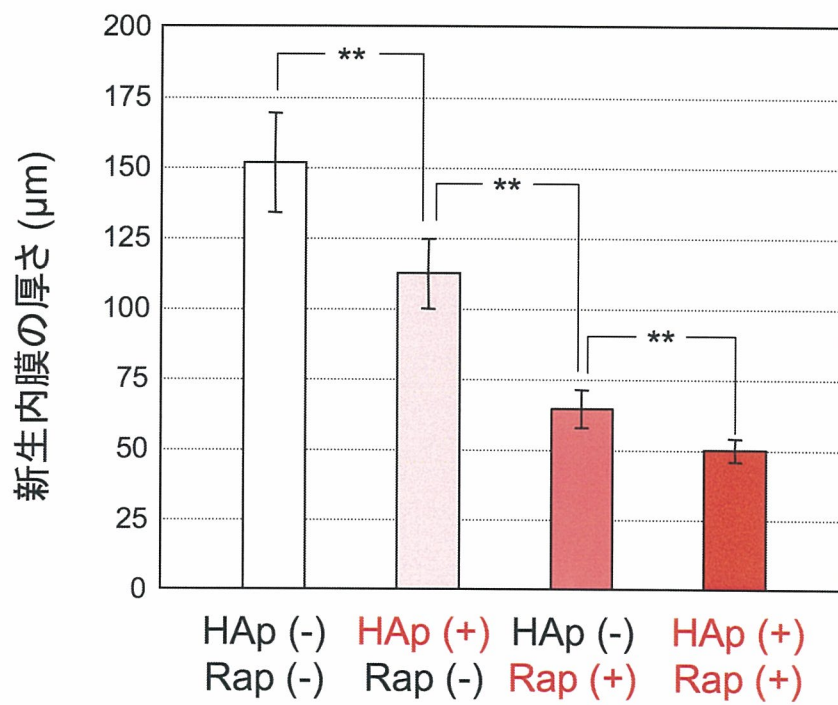


図3. 埋植2週後における新生内膜の厚さ：

HAp: ナノアパタイト複合化；Rap: シロリムス担持 (n=5, \*\* $p < 0.01$ )

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 1. 学会発表、その他

| 発表者氏名   | タイトル   | 学会名   | 開催地                                | 開催期間             |
|---|--|---|------------------------------------|------------------|
| 植木光樹, 益田美和,<br>角野弘幸, 安田昌司,<br>岡田正弘, 田中良一,<br>宮武邦夫, 古菌 勉                                     | ナノアパタイトを被覆したポリ<br>エステル製人工血管の開発,  | 第22回日本医工学<br>治療学会大会                                 | 福岡国際会議<br>場, 福岡                    | 2006.4.21<br>～23 |
| M. Masuda, M. Okada,<br>S. Yasuda, H. Kadono,<br>R. Tanaka, K. Miyatake,<br>and T. Furuzono | Increase of cell adhesiveness on<br>poly(ethylene terephthalate) fabric<br>by coating of sintered<br>hydroxyapatite nanocrystals | Society for<br>Biomaterials 2006<br>Annual Meeting, | Pittsburg,<br>Pennsylvania,<br>USA | 2006.4.26<br>～29 |
| 田中良一, 益田美和,<br>岡田正弘, 安田昌司,<br>植木光樹, 角野弘幸,<br>宮武邦夫, 古菌 勉                                     | ナノセラミクス複合化人工血管<br>および金属ステントの開発   | 第35回日本IVR学<br>会総会                                   | 大阪国際会議<br>場, 大阪                    | 2006.5.19        |
| 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<br>グラフト班会議                                | 国立循環器病<br>センター研究<br>所, 大阪          | 2006.5.19        |
| 益田美和, 植木光樹,<br>角野弘幸, 岡田正弘,<br>安田昌司, 田中良一,<br>宮武邦夫, 古菌 勉,                                    | ナノアパタイト/ポリエステル複<br>合体からなる医療デバイスと血<br>液接触界面の組織学的特性  | 第55回高分子学会<br>年次大会                                   | 名古屋国際会<br>議場, 愛知                   | 2006.5.24<br>～26 |
| 古川敬子, 河原 豊,<br>芹沢 武, 岡田正弘,<br>古菌 勉  | 新規なアパタイトナノ単結晶体<br>を用いた高分子界面複合体の微<br>細構造制御  | 第55回高分子学会<br>年次大会                                   | 名古屋国際会<br>議場, 愛知                   | 2006.5.24<br>～26 |
| 岡田正弘, 益田美和,<br>植木光樹, 角野弘幸,<br>安田昌司, 田中良一,<br>宮武邦夫, 古菌 勉                                     | セラミックス- 高分子- 金属三<br>元複合化による生体親和材料の<br>開発   | 第52回高分子研究<br>発表会                                    | 兵庫県中央労<br>働センター,<br>兵庫             | 2006.7.21        |

1. 学会発表（つづき）

| 発表者氏名   | タイトル                                  | 学会名                | 開催地               | 開催期間                |
|---|---------------------------------------|--------------------|-------------------|---------------------|
| 田中良一, 古菌 勉  | ステントグラフト一体化、留置法のレクチャー                 | 第2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 | 2006.7.21           |
| 岡田正弘, 古菌 勉  | Drug-Eluting Stentの開発                 | 第3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 | 2006.10.20          |
| 植木光樹, 古菌 勉  | 動物実験の進歩状況                             | 第3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 | 2006.10.20          |
| 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<br>～11.2 |
| 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<br>～28   |
| 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<br>～31    |
| 岡田正弘, 益田美和, 小粥康充, 古菌 勉  | アパタイト/高分子系ソフトナノセラミック・プロセッシングの精密制御     | 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<br>～31    |

## 2. 雑誌

| 発表者氏名         | タイトル名                       | 発表誌名                               | 巻号     | ページ       | 出版年  |
|---------------|-----------------------------|------------------------------------|--------|-----------|------|
| 田中良一          | 腸骨動脈領域閉塞性疾患 血管内治療           | Angiology Frontier<br>(メディカルレビュー社) | 5(2)   | 18-22     | 2006 |
| 田中良一          | 画像診断と病理 大動脈疾患               | 画像診断 (秀潤社)                         | 26(10) | 1192-1193 | 2006 |
| 田中良一          | 座談会 10年後の循環器イメージング          | CARDIAC PRACTICE (メディカルレビュー社)      | 17(4)  | 85-96     | 2006 |
| 古菌 勉,<br>岡田正弘 | 医療機器の素材としての有機- ナノ無機ハイブリッド材料 | 高分子                                | 56     | 129-132   | 2007 |

## 3. 書籍

| 著者氏名                                   | タイトル  | 編集者名                    | 書籍名   | 出版社名                           | ページ       | 出版年  |
|--|---|-------------------------|---|--------------------------------|-----------|------|
| 田中良一                                   | 腹部大動脈瘤ステントグラフト治療において重要な側副血行のCT診断  | 田林 暁一, 栗林 幸夫            | 大動脈瘤・大動脈解離診療のコツと落とし穴  | 中山書店                           | 60-61     | 2006 |
| 田中良一                                   | 骨盤下肢動脈のPTA/ステント   | 臨床放射線編集委員会              | Interventional radiologyのコツ   | 金原出版                           | 1641-1645 | 2006 |
| T. Furuzono,<br>S. Yasuda,<br>M. Okada | Nanofabrication of Inorganic-Organic Composites by Chemical Bonding for Medical Devices | K. Ariga,<br>H.S. Nalwa | BOTTOM-UP NANOFABRICATION: Supramolecules, Self-Assemblies, and Organized Films | American Scientific Publishers | in press  | 2006 |

## 4. 論文

| 発表者氏名  | 論文タイトル  | 発表誌名     | 巻  | ページ     | 出版年  |
|--|---|----------|----|---------|------|
| T. Furuzono, M. Masuda,<br>M. Okada, S. Yasuda,<br>H. Kadono, R. Tanaka,<br>T. Inenaga, and<br>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 |

4. 論文 (つづき)

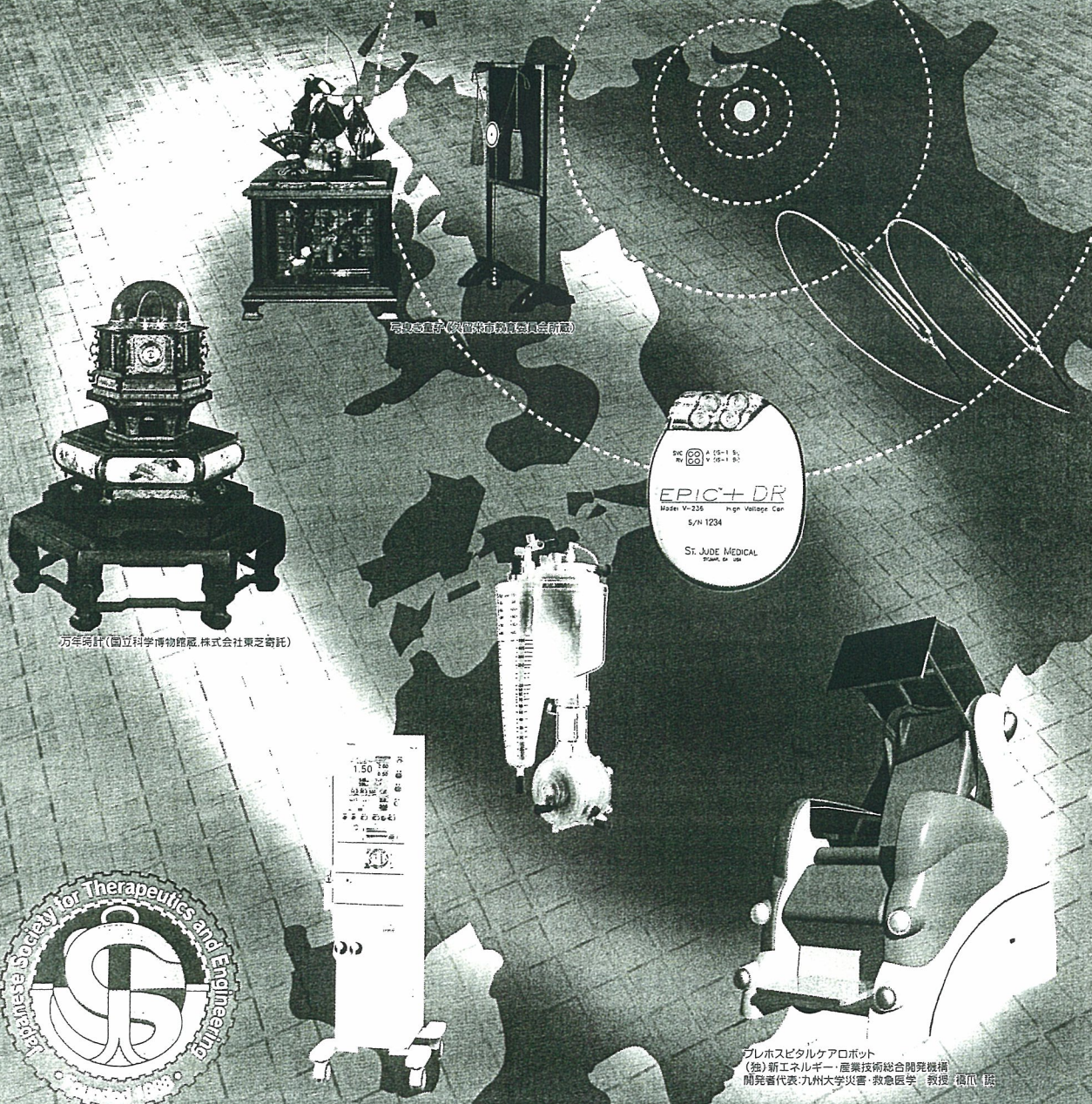
| 発表者氏名  | 論文タイトル   | 発表誌名                   | 巻   | ページ       | 出版年  |
|--|--|------------------------|---|-----------|------|
| T. Furuzono  | Development of Nano-Ceramic Coating on a Substrate through Covalent Linkage and Its Biological Properties          | Adv. Sci. Tech.        | 49  | 37-44     | 2006 |
| M. Okada<br>T. Furuzono  | Fabrication of high-dispersibility nanocrystals of calcined hydroxyapatite   | J. Mater. Sci.         | 41  | 6134-6137 | 2006 |
| M. Okada<br>T. Furuzono  | Nano-sized ceramic particles of hydroxyapatite calcined with an anti-sintering agent                               | J. Nanosci. Nanotech.  | 7   | 848-851   | 2007 |
| M. Okada, T. Furuzono  | Calcination of rod-like hydroxyapatite nanocrystals with an anti-sintering agent surrounding the crystals          | J. Nanoparticle Res.   | in press (published online on 22 July 2006) |           |      |
| 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                             |           |      |
| 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                              |           |      |
| M. Okada, K. Furukawa, H. Tanaka, T. Kawai and T. Furuzono                                 | Interaction between hydroxyapatite nanocrystal and substrate through ionic interactions and covalent bonding       | Langmuir               | in preparation                              |           |      |

# 医工学治療

*Therapeutics & Engineering*

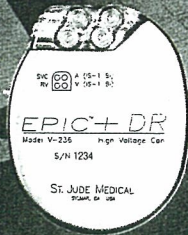
日本医工学治療学会 第22回学術大会抄録集

ent,2006  
52号



尾島高生氏(敬愛大学教員)の発明品

万年時計(国立科学博物館蔵、株式会社東芝寄託)



日本医工学治療学会  
Japanese Society  
for Therapeutics & Engineering

プレホスピタルケアロボット  
(独)新エネルギー・産業技術総合開発機構  
開発者代表:九州大学災害・救急医学 教授 福元 隆

## 37 乳幼児を対象とした無拘束モニタの基礎的研究

杏林大学保健学部 臨床生理学教室

三谷 博子、石山 陽事

【目的】これまで生体信号を電極や特別なトランスデューサを皮膚に直接接着せずに、心拍や呼吸動態などの生体信号の無拘束計測法について報告してきた。本検討では乳幼児の突然死症候群を始め乳児特有の生理学的変化を在宅で無拘束モニタリングするための検出センサ感度の改良とその雑音対策について行い、さらにこれらの結果に基づいた乳幼児のモニタリング結果について報告する。

【方法】センサには $\phi 27\text{mm} \times 2\text{mm}$ の圧電素子を用いるが、その台座に用いる素材としてステンレス板、アクリル板、画板、段ボールプレート、天然ゴム板その他を用いた。また新生児に見立てた水氷嚢に心拍を模擬したコインの落下実験を行った。次に在宅時の計測で問題となる周囲の足音や車の振動を模擬した振動による影響についても検討した。さらにセンサの違和感や被験者の自重による圧迫を防止するために、センサの上に厚さ10mmのウレタン吸収材を設置しその感度を測定した。本報告ではこれらの基礎実験の結果を基にして実際の乳幼児（両親より書面にて同意を得た生後1~6ヶ月の乳幼児4名）心拍、呼吸動態の無拘束モニタリングを行った。

【結果】圧電素子の台座として厚さ2mmのステンレス板が他の素材に比べて、心拍模擬による圧振動を最も感度良く検出することができた。また足音などの外部雑音対策としてはウレタン枚数の増加はウレタン自体の振動による雑音の増大と感度の低下をまねいた。次に被験者の自重によるセンサの違和感（圧迫感を含む）を防ぐ目的で設置したウレタンについては、ウレタン1枚の使用でも十分な感度が得られた。以上の基礎的検討をふまえて乳幼児被験者による安静時及び体動時の計測を行った結果、安静睡眠状態では心拍、呼吸動態共にS/N良く記録できたが、体動時の心拍動の検出は難しかった。しかし体動に続く乳幼児特有の無呼吸や周期性の無呼吸を観察することができた。

【考察】圧電素子の台座としてステンレス板が最も感度が良く、圧電素子の上にウレタン吸収材を用いることが乳幼児の自重による違和感を防止する上で有効であった。今後マルチセンサを用いてさらにS/N良い在宅型乳幼児無拘束モニタについて検討して行きたい。

## 38 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

<sup>1)</sup>国立循環器病センター研究所、<sup>2)</sup>東京医科歯科大、<sup>3)</sup>国立循環器病センター、<sup>4)</sup>大阪南医療センター

植木 光樹<sup>1)</sup>、益田 美和<sup>1)</sup>、角野 弘幸<sup>2)</sup>、安田 昌司<sup>1)</sup>、岡田 正弘<sup>1)</sup>、田中 良一<sup>3)</sup>、宮武 邦夫<sup>4)</sup>、古園 勉<sup>1)</sup>

【はじめに】バイオセラミックスの一種であるハイドロキシアパタイト (HAp) は硬組織だけでなく軟組織に対しても親和性が優れていることが知られているが、単独で用いた場合には硬く脆いという欠点がある。これまでに当研究室ではナノサイズのHAp結晶をシルクやシリコン基材に複合化することで、基材の柔軟性を保持したまま、細胞・組織接着性を付与できることを報告してきた。本研究ではナノHAp複合法法の応用範囲の拡大を目指し、ポリエステル繊維製の人工血管表面にナノHAp結晶を単層均一に複合化を行い、ナノアパタイトコーティング人工血管の特性を調べた。

【実験方法】内径5mmのポリエステル製人工血管表面にナノサイズのHAp単結晶を複合化した。ポリエステル製人工血管表面に末端にアルコキシシリル基を有するポリマーをグラフト重合した。その官能基とHApとを吸着および結合させることによりナノアパタイトコーティング人工血管を得た。そのIn vitroでの細胞接着性をヒト臍帯血由来血管内皮細胞 (HUVEC) を用いて評価した。

【結果】ポリエステル製人工血管表面にナノサイズのHAp単結晶はほぼ単層均一に固定化していることを走査型電子顕微鏡観察により確認した。また、in vitroにおける細胞接着性試験において、未処理のポリエステル繊維とHAp複合化繊維は比較して有意に高い接着性を示すことが確認できた。

【まとめ】人工血管表面にナノHAp単結晶を複合化することで血管内皮細胞の早期伸展が確認できた。本HAp複合法は生物由来タンパク質であるコラーゲンを用いることなく、細胞・組織接着性を向上できる。つまり人工物のみで構築していることから、生物安全性、滅菌性、輸送性、保存性に優れ、また随意に長さや径が揃えられることは新規人工血管として高い価値があると期待できる。

【謝辞】当該研究は厚生労働科学研究（循環器疾患等総合研究事業）により実施された。



# 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

○植木光樹<sup>1</sup>, 益田美和<sup>1</sup>, 岡田正弘<sup>1</sup>, 安田昌司<sup>1</sup>  
角野弘幸<sup>2</sup>, 田中良一<sup>3</sup>, 宮武邦夫<sup>4</sup>, 古菌 勉<sup>1</sup>

<sup>1</sup>国立循環器病センター研究所; <sup>2</sup>東京医科歯科大学;

<sup>3</sup>国立循環器病センター; <sup>4</sup>大阪南医療センター

## 人工血管とは

- ・血管外科領域において瘤切除時の形成や透析時のグラフト置換時に用いられる人工臓器である。
- ・人工血管の素材としてポリエステル(ダクロン)、ポリ四フッ化エチレン(PTFE、テフロン)、ポリウレタンが存在する。

## 人工血管の備えるべき条件

1. 生体内で物性が変化しない
2. 化学的に安定で、毒性がない
3. 異物反応がない
4. 発癌性がない
5. アレルギー反応がない
6. 疲労強度が大きい
7. 簡単に製造でき、低コストである
8. 消毒が簡単にできる

1. 優れた抗血栓性を有する
2. 生体血管に匹敵するコンプライアンスを有する
3. 適当な有孔性を持つ
4. 速やかに良好な新生内膜形成が得られる

臨床応用の蓄積に伴い性能に関する条件が必須



## 問題点

- ・ダクロン® やゴアテックス® からなる人工血管では自己の血管との吻合部から1~2cmの範囲でしか内皮細胞は被覆しない。
- ・内径6mm以下の動脈領域で人工血管は閉塞してしまう\*。

## 改善策

人工血管表面に内皮細胞などを播種し、組織工学を取り入れたハイブリット型人工血管が開発されている。

**In vitroでの内膜形成に時間を要する  
滅菌が困難  
取り扱いにくい**

\*野一色素晴, 高機能人工血管, 人工臓器・再生医療の最先端 (許 俊鋭ら編), 先端医療技術研究所, 2005

## 当研究室の技術



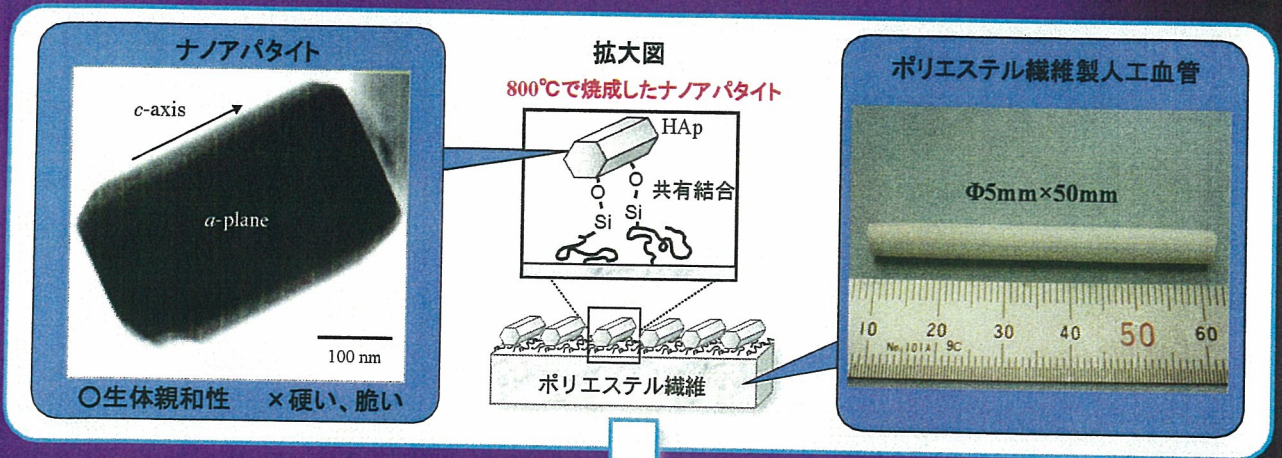
## 目的

ナノアパタイトコーティング法の応用範囲の拡大と人工物のみで新規人工血管の開発を試みる。

## 期待される効果

- ・薄い内膜の早期形成
- ・取り扱いの簡便性
- ・滅菌性・保存性・輸送性の向上

# ナノアパタイトコーティング人工血管の作製法



# ヒト臍帯血由来血管内皮細胞(HUVEC)の接着性

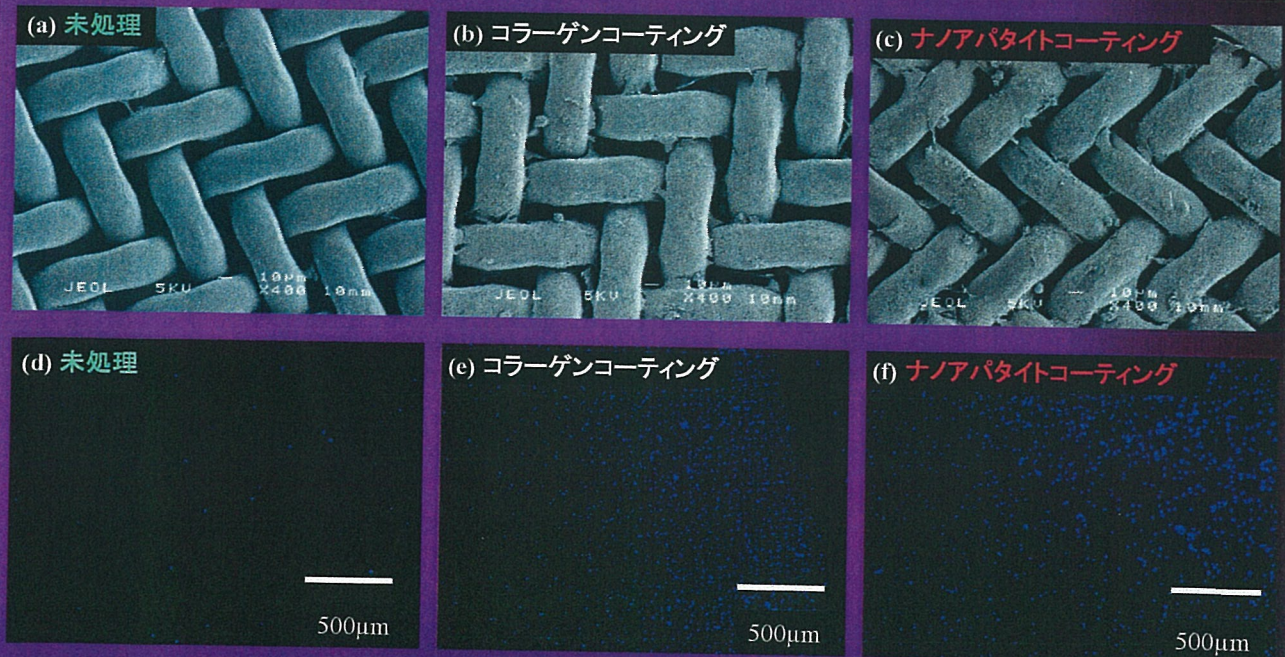


図. ヒト臍帯血由来血管内皮細胞を $1 \times 10^5$ 個播種し、4時間培養した後のSEM像(a-c)および蛍光顕微鏡像(d-f)。(a, d) 未処理PET; (b, e) コラーゲンコーティングPET; (c, f) HApコーティングPET

## 動物実験



・交雑犬(♂; 8ヶ月齢: 25~30 kg)

・麻酔前投与:

- ・セルシン: 10mg (in 2ml)
- ・硫酸アトロピン: 1mg (in 2ml)
- ・塩酸ケタミン: 10 mg/kg
- ・アンピシリンナトリウム: 1g (in 4ml)

・持続吸入麻酔剤:

- ・エスカイン(イソフルラン)
- ・ヘパリン(100IU/Kg)

・頸部腹側正中切開

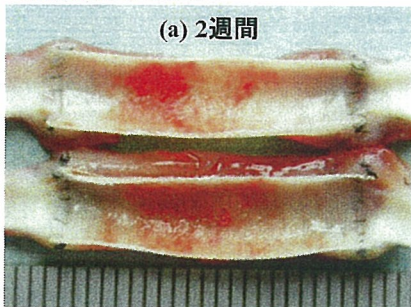
- ・右頸動脈分離50mm切除
- ・グラフト(φ5mm×50mm)縫合(7-0ナイロンにて単純吻合)
- ・左頸動脈分離50mm切除
- ・グラフト(φ5mm×50mm)縫合(7-0ナイロンにて単純吻合)

- ・筋、皮下をVicryl(4-0)にて連続縫合
- ・皮膚を(2-0)ナイロンにて結節十字縫合

## 置換後の人工血管内腔

未処理人工血管

(a) 2週間



血栓の付着

(b) 1ヶ月



血栓の付着

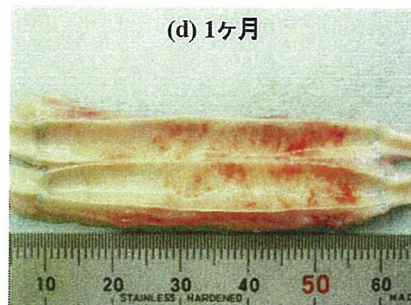
ナノアパタイトコーティング人工血管

(c) 2週間



血栓の付着

(d) 1ヶ月

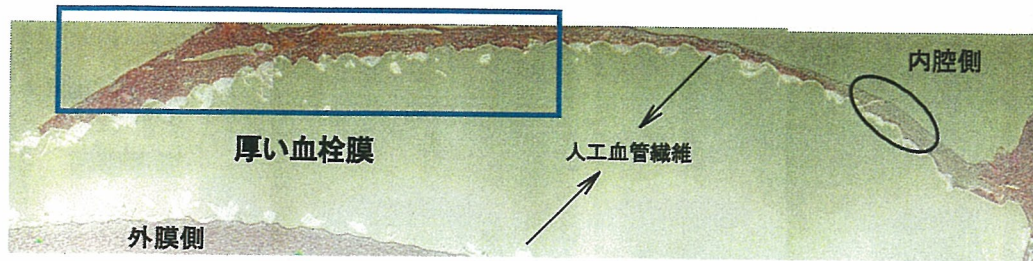


血栓の付着

図. 置換後の人工血管内腔の外観:(a, b) 未処理人工血管;(c, d) HApコーティング人工血管

## 人工血管の血栓形成の比較（置換後2週間）

### 未処理人工血管



### ナノアパタイトコーティング人工血管

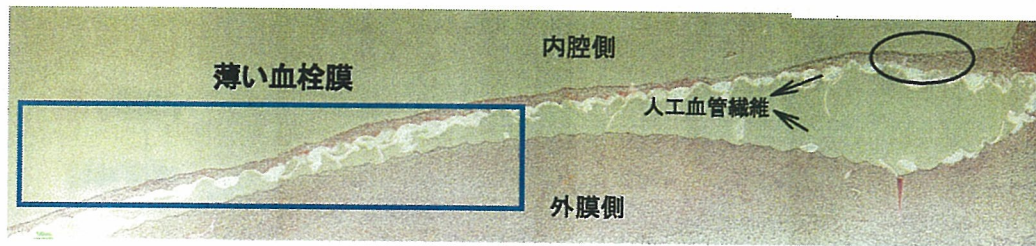
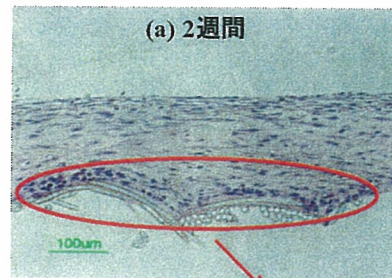


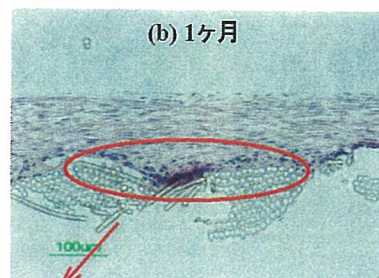
図. 人工血管の血栓形成の比較: 置換後2週間

## Hematoxylin-Eosin (HE) 染色

### 未処理人工血管



(a) 2週間

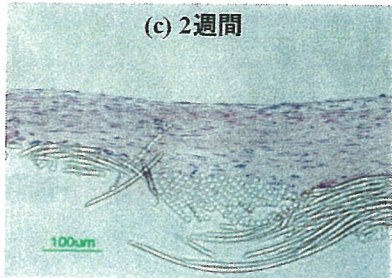


(b) 1ヶ月

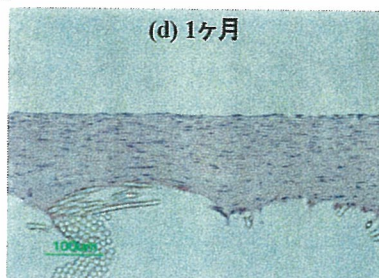
巨細胞の出現

内膜層  
↓  
細胞質  
+  
自己組織

### ナノアパタイトコーティング人工血管



(c) 2週間



(d) 1ヶ月

内膜層  
↓  
細胞質  
+  
自己組織

生体親和性に優れた材料

図. 人工血管内腔の HE 染色の組織切片像:  
(a,b) 未処理人工血管; (c,d) HApコーティング人工血管