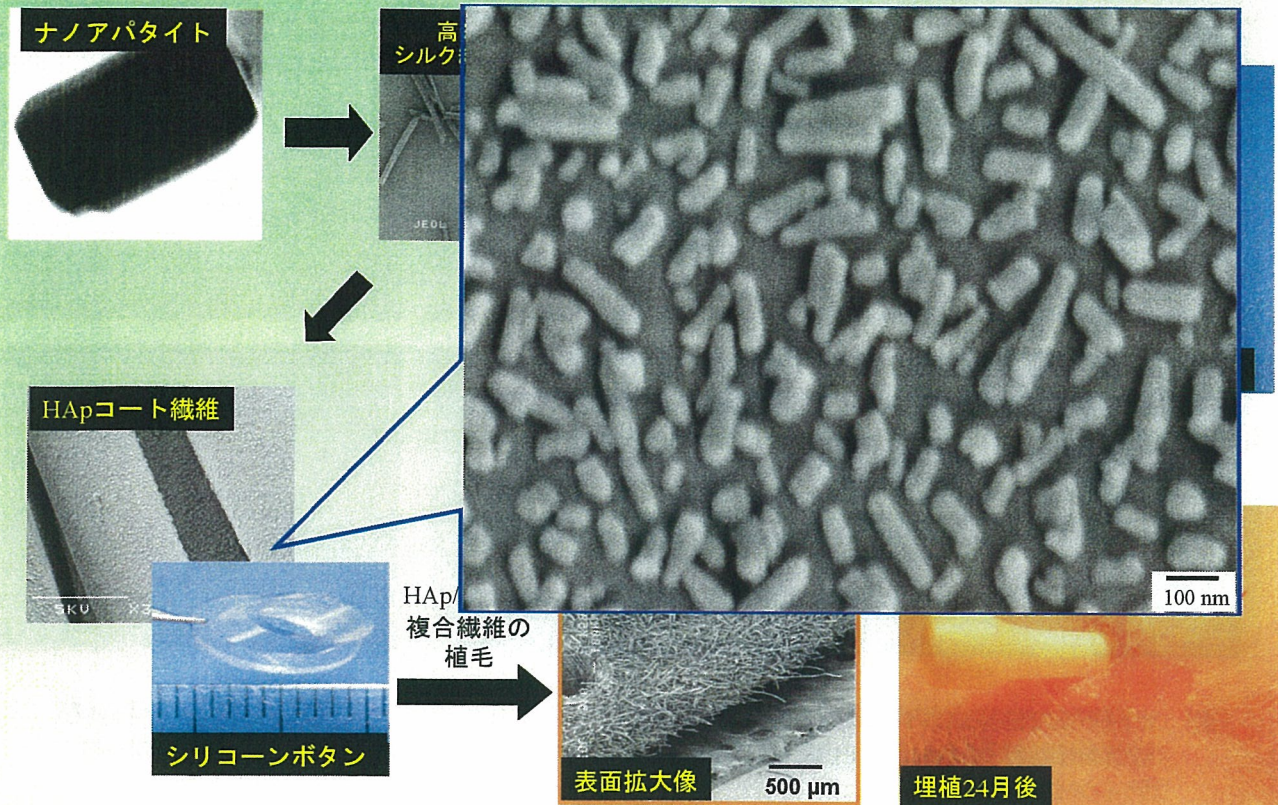


HAp/シルク(縫合糸)複合繊維を用いた新規経皮デバイスの作製



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

未処理人工血管(ポリエステル製)



ナノアパタイトコーティング人工血管



ヒト臍帯血由来血管内皮細胞(HUVEC)の接着性

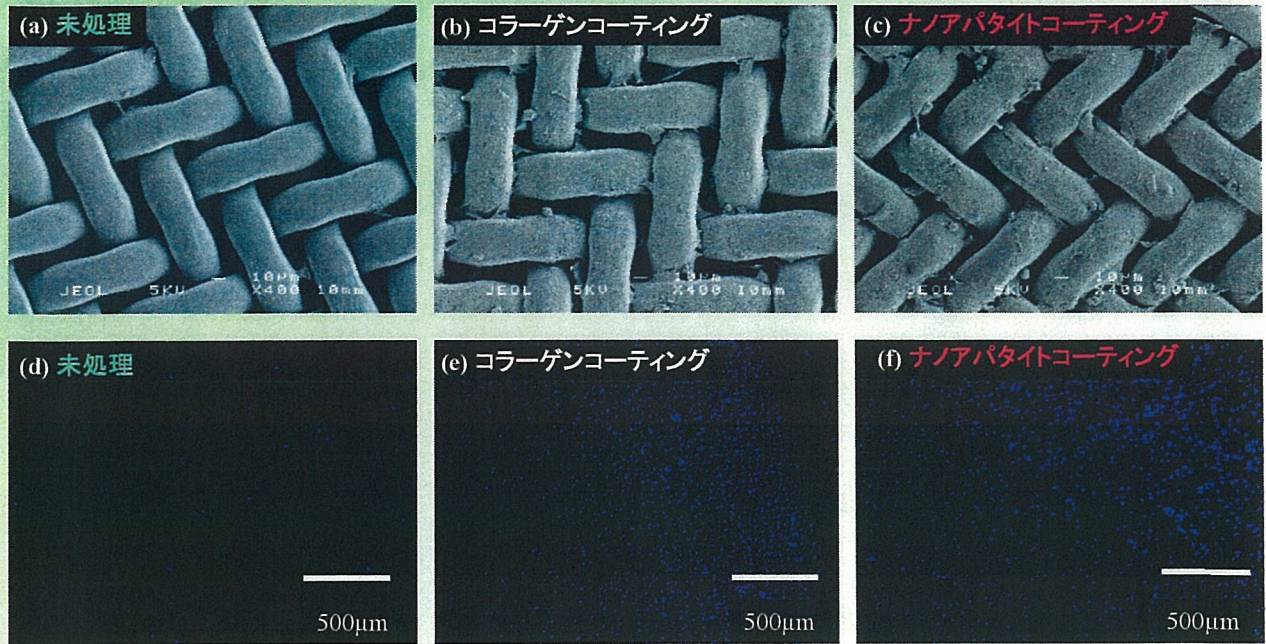


図. ヒト臍帯血由来血管内皮細胞を 1×10^5 個播種し、4時間培養した後のSEM像(a-c)および蛍光顕微鏡像(d-f)。(a, d)未処理PET; (b, e) コラーゲンコーティングPET; (c, f) HApコーティングPET

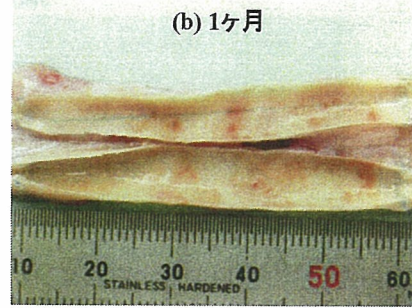
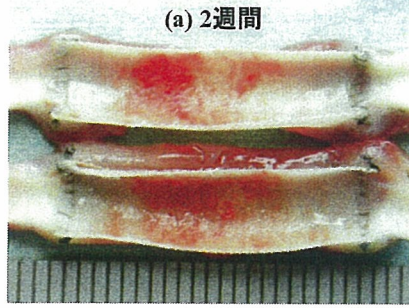
動物実験



- ・交雑犬(♂; 8ヶ月齢: 25~30 kg) n=8
- ・人工血管の透水率: 31.0ml/cm²/min
- ・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
- ・右頸動脈分離切除
- ・グラフト(φ5mm×30または50mm) 縫合(7-0ナイロンにて単純吻合置換)
- ・左頸動脈分離切除
- ・グラフト(φ5mm×30または50mm) 縫合(7-0ナイロンにて単純吻合置換)
- ・筋、皮下をVicryl(4-0)にて連続縫合
- ・皮膚を(2-0)ナイロンにて閉創

置換後の人工血管内腔

未処理人工血管



ナノアパタイトコーティング人工血管

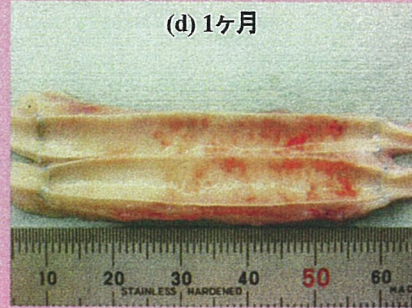
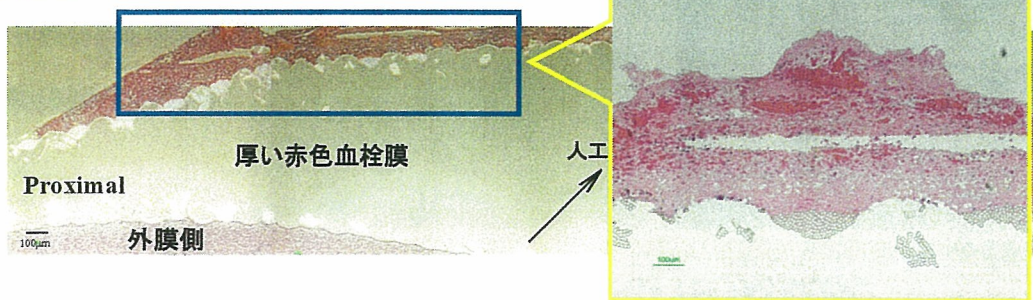


図. 置換後の人工血管内腔の外観 : (a, b) 未処理人工血管; (c, d) HApコーティング人工血管

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

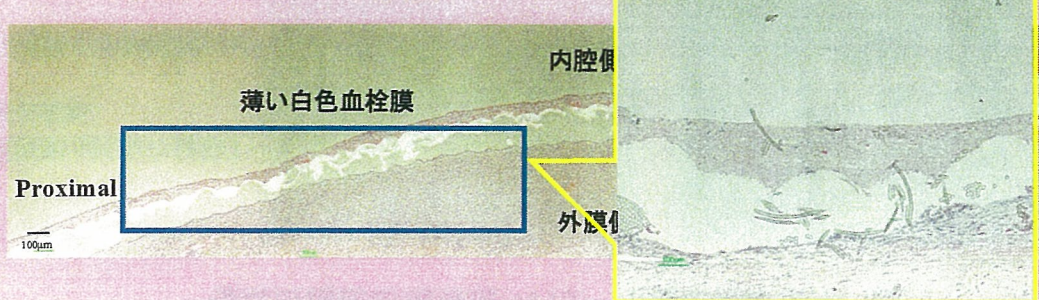
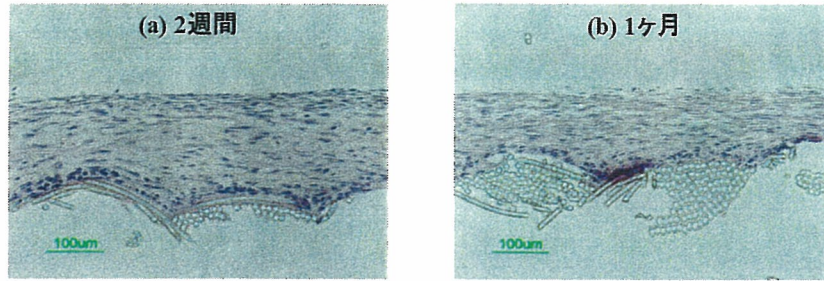


図. 人工血管の血栓形成の比較: 置換後2週間

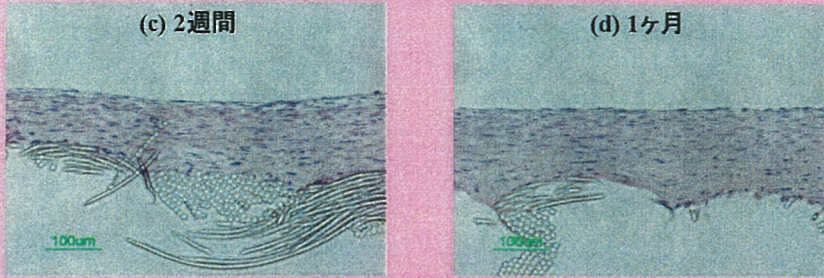
Hematoxylin-Eosin (HE) 染色

未処理人工血管



炎症性細胞の持続

ナノアパタイトコーティング人工血管

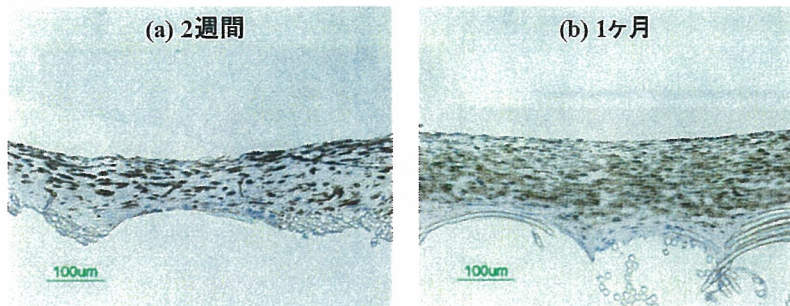


炎症性細胞の早期消退

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

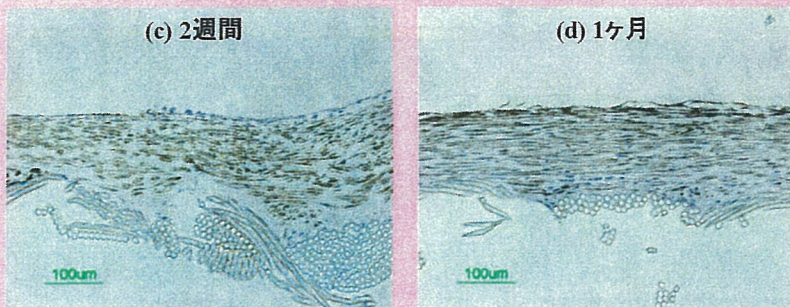
Smooth Muscle α -Actin (α -SMA) 染色

未処理人工血管



平滑筋細胞の発現: 弱い
↓
未成熟な内膜の形成

ナノアパタイトコーティング人工血管

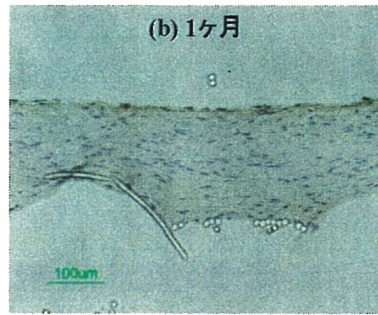
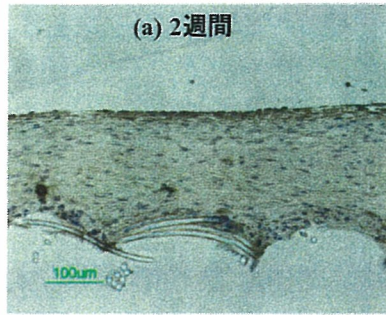


平滑筋細胞の発現: 強い
↓
より成熟した内膜の形成
(良好な平滑筋細胞の配向)

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

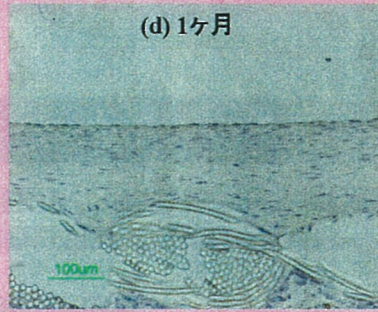
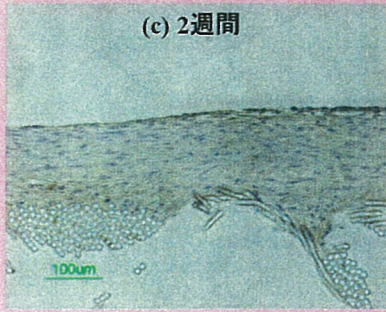
von Willebrand Factor (vWF) 染色

未処理人工血管



血管内皮細胞
↓
凹凸の形成

ナノアパタイトコーティング人工血管



血管内皮細胞
↓
平滑化

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

吻合部からの細胞伸展距離の比較

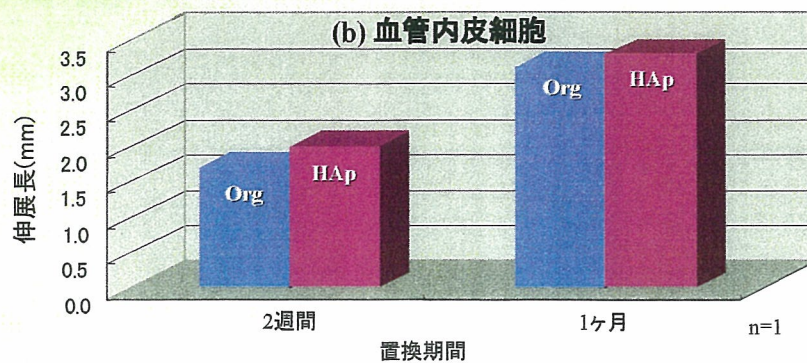
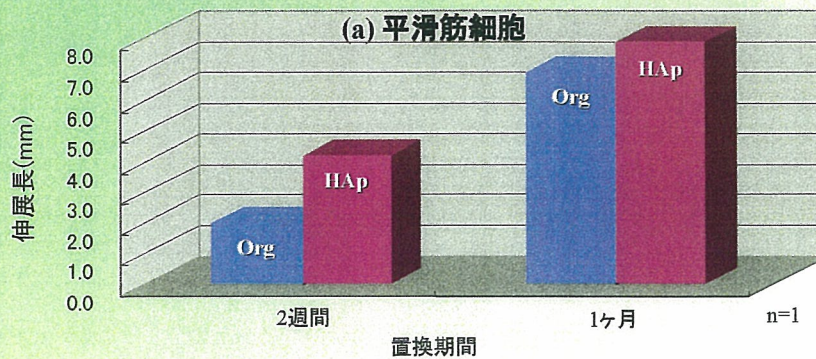


図. 吻合部からの細胞伸展距離の比較: ■ ナノアパタイトコーティング; ■ 未処理(Org)

まとめ

1. 新規人工血管の創出:
ナノアパタイトをコートしたポリエステル製人工血管を創出した。
2. *in vitro* 試験:
ナノアパタイトコーティングを行うことで、コラーゲンコーティングと同等の高い細胞接着性を付与することができた。
3. *in vivo* 試験:
 - ・ ナノアパタイト人工血管は未処理人工血管と比較して偽内膜層が薄く形成した。
 - ・ 早期内膜肥厚が見られず、未処理人工血管と比較してナノアパタイトコーティング人工血管への新生内膜の形成は早く、血管内皮細胞はより平滑に被覆した。

ナノアパタイトコーティングの利点

生体由来材料を用いることなく、人工物のみで構築しているため、
滅菌性、保存性、輸送性に優れている。

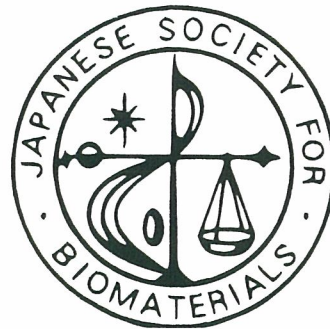
謝辞

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。

第28回

日本バイオマテリアル学会大会

予稿集



JSB

- 2006年11月27日～28日
- アルカディア市ヶ谷（私学会館）

第28回大会長 岡野光夫

金属材料への化学結合を介したナノアパタイト コーティング

○岡田正弘¹, 益田美和¹, 植木光樹¹, 角野弘幸^{1,2},
安田昌司¹, 黒田大介³, 田中良一⁴, 宮武邦夫⁵, 古蘭 勉¹

¹ 国立循環器病センター研究所, ² 東京医科歯科大学,
³ 岩手医科大学, ⁴ 鈴鹿工業高等専門学校, ⁵ 大阪南医療センター

1. 緒言

リン酸カルシウム系セラミックスであるハイドロキシアパタイト [HAp; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] は歯や骨の主成分であり、生体組織接着性に優れるが、「硬く脆い」という欠点がある。我々はこの欠点を克服するため、シリコンなどの柔軟な高分子表面にナノサイズの HAp を固定化した新規な複合材料を創出した。この材料は、基材である高分子の機械的物性を保ったものであり、表面に導入した HAp によって優れた軟組織接着性を示すことを確認している。

本研究では上記 HAp 複合法の応用範囲の拡大を目指し、優れた機械的特性をもつ金属材料（ステンレス SUS 316L）への HAp 複合化を試み、さらにその細胞接着性を評価した。

2. 実験

予め 800°C で焼成したナノサイズの HAp セラミックスを作製した。 γ -メタクリロキシプロピルトリエトキシシラン (MPTS) をステンレス基材表面にグラフト化し、HAp を吸着させ、シランカップリング反応を行うことで複合体を作製した。ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を複合体表面に播種し、24 時間培養後の接着細胞数を測定した。

3. 結果と考察

ステンレス SUS 316L を金属基材として選択し、まず、基材と HAp を結合させるために、HAp 表面の OH イオンとカップリング反応できるアルコキシシリル基を有する高分子をステンレス基材表面にグラフト重合した。ステンレス基材表面への MPTS のグラフト化は、FT-IR および XPS によって確認した。また、HAp は基材表面に単層で複合化されたことを電子顕微鏡観察によって確認している。

図 1 には、細胞接着試験の結果を示した。未処理のステンレス基材と比較して、HAp を複合化することで有意に高い HUVEC 接着性を示した。

これまで、プラズマプレー法などで金属基材表面に HAp がコーティングされているが、得られる HAp の結晶性は低く、基材との結合は弱い。このため、コーティング後に高温 (800°C) での熱処理などを行う必要があったが、高温処理時に基材の物性が低下することが報告されている。本 HAp 複合法は高温処理を行う必要がないため、基材の物性を損なうことなく生体組織接着性を付与できる方法であるといえる。

4. 謝辞

本研究は、厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患等総合研究事業）により実施された。

Coating of nano-sized hydroxyapatite crystals on metal through covalent bonding

M. Okada¹, M. Masuda¹, M. Ukeki¹, H. Kadono^{1,2}, S. Yasuda¹,

D. Kuroda³, R. Tanaka⁴, K. Miyatake⁵, T. Furuzono^{1,2}

¹National Cardiovascular Center Research Institute; ²Tokyo Medical and Dental University; ³Suzuka National College of Technology; ⁴Iwate Medical University; ⁵Osaka Minami Medical Center

Tel: +81-6-6833-5012 (ext. 2623), Fax: +81-6-6872-7485, E-mail: okada04@ri.ncvc.go.jp

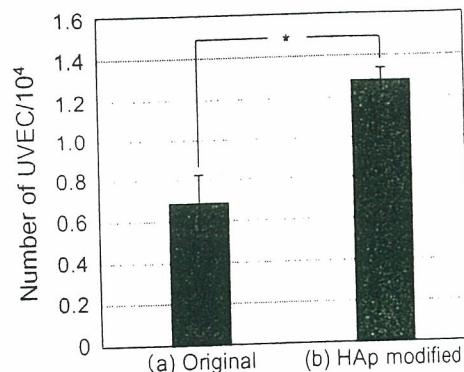


Fig. 1 HUVEC numbers adhered on the original (a) and HAp modified (b) and stainless steels, after incubation in 24-well multiplates at 37°C for 24 h.

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

○角野弘幸^{1,2}、益田美和²、植木光樹²、岡田正弘²、安田昌司²
田中良一³、宮武邦夫⁴、小山富久¹、高久田和夫¹、古菌 勉²

¹東京医科歯科大、²国立循環器病センター、³岩手医科大、⁴大阪南医療センター

1. 緒言

ハイドロキシアパタイト (HAp) は硬組織または軟組織への生体親和性に優れた生体材料であるが、硬くて脆いという欠点を持つ。われわれは、ナノサイズの高分散性 HAp 焼成体を高分子素材に共有結合により複合化させる技術を用いることで、柔軟性や加工性に優れる高分子材料の特性を温存したまま、生体親和性に優れる HAp の表面性質を示す複合体を開発してきた。今回、ポリエチレンテレフタレート (PET) 製人工血管にナノ HAp 粒子を単層均一に複合化した新規人工血管を作製し、これらの生体内反応を評価した。

2. 実験

PET 人工血管をコロナ放電後、水酸基を誘導するために 2-ハイドロキシチルメタクリレートグラフト化し、さらにアルコキシシル基を側鎖にもつ γ -メタクリロキシプロピルトリエトキシシランをグラフト化した。グラフト化 PET 材料表面に高分散性ナノ HAp を共有結合させ、新規複合化人工血管を作製した。直径 5mm の高分散性ナノ HAp 複合化 PET 人工血管と未処理 PET 人工血管を犬頸動脈の左右にそれぞれ置換し、2 週、4 週、3 ヶ月後にそれぞれ検体を採取し外観、組織学的評価 (HE、Elastica van Gieson、vWF、 α SMA 染色) を行った。

3. 結果および考察

図 1 および 2 には、置換 2 週後の HAp 複合化 PET 人工血管と未処理 PET 人工血管の中央部内腔の組織切片像 (HE 染色) を示した。未処理 PET 製人工血管の場合、緩く沈着凝集した赤色血栓が観察された。一方、HAp 複合化 PET 人工血管では過剰な赤色血栓の凝集が少なく、早期に薄い偽内膜形成の誘導をしめす平滑筋細胞、血管内皮細胞の浸潤、細胞外マトリックスの構築を促進する徴候が得られた。また、置換後 4 週、3 ヶ月においても同様の結果が得られた。

以上より、高分散性 HAp 複合化人工血管はその治癒過程を促進し、早期内膜形成、開存性へ大きく作用し、また動物由来タンパク質 (コラーゲン) などを用いず人工材料のみで構成されているため、生物学的安全性、滅菌性、輸送性、保存性にすぐれた新規人工血管として期待される。

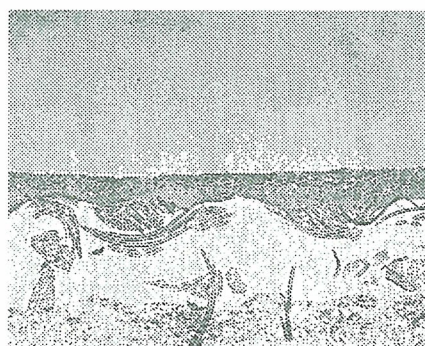


図 1. 置換 2 週後の HAp 複合化 PET 人工血管の中央部内腔 (HE、 $\times 100$)。過剰な血栓が認められず、早期偽内膜形成を誘導

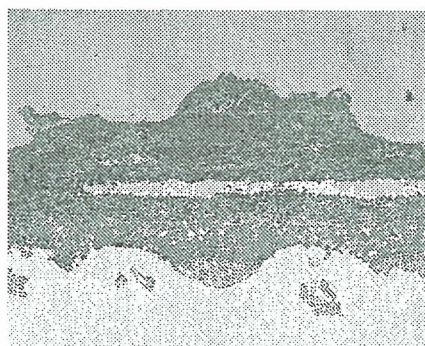


図 2. 置換 2 週後の未処理 PET 人工血管の中央部内腔 (HE、 $\times 100$)。緩く沈着凝集した赤色血栓

In Vivo Response Evaluation of Poly(ethylene terephthalate) Artificial Vascular Graft Coated with Calcined Hydroxyapatite Nanocrystals.

H. KADONO^{1,2}, M. MASUDA², M. UEKI², M. OKADA², S. YASUDA², R. TANAKA³,
K. MIYATAKE⁴, T. KOYAMA¹, K. TAKAKUDA¹ and T. FURUZONO²

¹Department of Biomechanical Engineering, Institute of Biomaterial and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University; ²Department of Bioengineering, Advanced Medical Engineering Center, National Cardiovascular Center, Research Institute; ³Iwate Medical University; ⁴National Hospital Organization Osaka Minami Medical Center

Tel: +81-6-6833-5012 (ext 2623), Fax: +81-6-6872-7485, E-mail: hiro@dmcgroup.co.jp

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

生体に接触もしくは埋め込む医療機器は、10年を超える開発期間を必要とするが、一医療機器の市場は数十～数百億円と創薬に比べ小規模である。上市・臨床というゴールに至るには、材料コンセプトがオリジナルかつゴールが明確である必要がある。ここでは有機-ナノ無機ハイブリッド材料から感染防止機器創出を目指した我々の取り組みを紹介する。

古 蘭 勉
岡 田 正 弘

1. はじめに

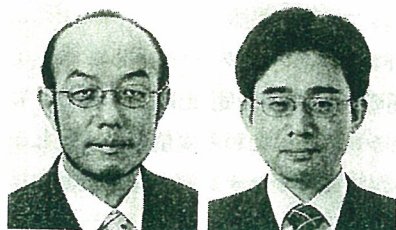
バイオマテリアル研究者が医療機器を設計する場合、一般に二通りの方法がある。一つは自己がすでに保有しているオリジナル材料もしくは他の産業で使用されている材料から、臨床で求められている医療機器を設計する方法である。もう一つは臨床で要求されているものの実現を目指し、ゼロから材料コンセプトを発案し機器を設計する方法である。この二者の違いは、材料開発の出発点にある。近年、わが国のバイオマテリアル開発の趨勢をみると、後者が増えているようである。他の産業に供せられる材料と異なり、生体に接触もしくは埋め込む医療機器は、創薬には及ばないが10年を優に超える開発期間を必要とする。国による規制も多く、臨床に近づくにつれてそのハードルはさらに高くなる。しかしながら一創薬の市場が数千億円規模であることに對し、一医療機器では数十億円～数百億円と比較的小さい。そのため上市・臨床というゴールに至るには、材料コンセプトがオリジナルであり、かつゴールが明確であり、さらにあきらめることなく強い情熱で推進することが必要である。本稿で紹介する有機-ナノ無機ハイブリッド材料は上記の二つの方法のうち、後者すなわち特定の医療機器の創出を目指しゼロから発案された材料の範ちゅうに入る。

ハイドロキシアパタイト [$\text{HAp: Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] は骨や歯の成分であり、整形外科および歯科領域に用いられて

いるバイオマテリアルである¹⁾。セラミックス固有の「硬い・もろい」という問題から応用範囲の拡大が制限されていたが、近年、この問題点を克服する技術が報告されるようになってきた。たとえば、高分子マトリックスの中にHAp微粒子を充填する方法²⁾、HApとコラーゲンを自己組織的に複合化する方法³⁾、生体模倣反応により基材表面にアモルファスHApを結晶成長させる方法⁴⁾、迅速・簡便にアモルファスHAp層を基材表面に形成させる方法(交互浸漬法)⁵⁾などである。筆者らはセラミックス固有の性質を重視し、焼成したHApナノ粒子(結晶)を化学結合で基材表面にコートし、機械的特性は基材に依存し表面は溶解性が低いHApセラミック層からなる有機-ナノ無機ハイブリッド材料を創出した。そのキーテクノロジーは①HApナノ粒子の粒径、形態および分散性制御、および②化学結合によるナノ界面複合化である。当該材料のゴールは細菌感染を防止する医療機器の創出である。

2. HAp ナノ粒子の粒径、形態および分散性制御

高分子の機械的特性を損なうことなくその表面にHApナノ粒子をコートするためには、HApの形態を制御して良好に基材への結合を促す必要がある。このために要求されるHApナノ粒子の条件は、①高分子基材とより広い接着面積にて結合する面を有する板状あるいはロッド状の形態であること、②分散媒体に分散しやすいこと、である。



FURUZONO, Tsutomu (左)

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(565-8565 吹田市藤白台5-7-1)・室長、博士(工学)。1996年鹿児島大学大学院工学研究科博士課程修了。専門はバイオマテリアル、人工臓器、血液浄化療法。

OKADA, Masahiro (右)

同上・流動研究員、博士(工学)。2004年神戸大学大学院自然科学研究科修士課程後期課程修了。専門は高分子化学、コロイド化学、バイオマテリアル。

An Organic-Nano Inorganic Hybrid Material as a Biomaterial for Medical Device

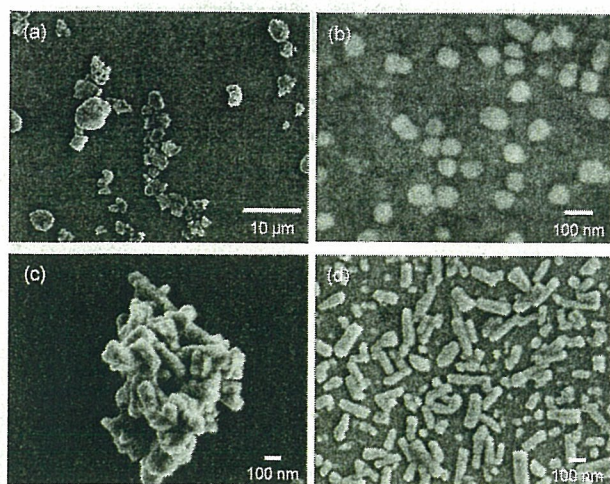


図1 球状 HAp (a, b) およびロッド状 HAp (c, d) を 800°C で 1 時間焼成した後の走査型電子顕微鏡写真
従来の焼成法 (a, c); マトリックス支援焼成法 (b, d)

筆者らは独自にマイクロエマルジョン法を改良することで、ロッド状の構造をもち、さらに、ナノスケールで粒子径を制御した HAp の合成法を提起している^{6), 7)}。この改良マイクロエマルジョン法は、油相中に形成させたノニオン性界面活性剤の逆ミセル中で HAp の核形成および成長を行うものであり、ノニオン性界面活性剤の曇点を利用して、反応温度を制御することで成長（粒子径）を制御することが可能となる。

ここで、マイクロエマルジョン法によって調製した HAp は、生体内での溶解性を低減させることを目的として、800°C で焼成して結晶性を高めた後に用いている。一般にセラミックスを焼成する場合、結晶化の進行と同時に粒子間の融着（焼結）によって多結晶体（二次粒子）が生成してしまうことが知られている^{8), 9)}。そこで、焼成時における HAp どうしの融着を防止するため、新規焼成法（マトリックス支援焼成法）を開発している^{10), 11)}。この焼成法は、融着防止剤（カルシウム/ポリアクリル酸複合体）中に HAp を内包することで HAp どうしの接触を防ぎ、さらに、焼成後に融着防止剤を除去することでナノサイズの HAp 単結晶体を取り出すものである。

改良マイクロエマルジョン法によって調製した球状およびロッド状 HAp を焼成した結晶の走査型電子顕微鏡 (SEM) 写真を図 1 に示した。従来の焼成法では結晶が融着したミクロンサイズの多結晶体がほとんどであったが、新規焼成法を行うことで個々の結晶がほぼ分離して観察された。赤外分光分析および X 線回折法の結果、新規焼成法を行った場合でも HAp 以外の結晶相の混入は認められず、単一の HAp 結晶相であることを確認している。

図 2 には、新規焼成法によって作製した HAp の透過型電子顕微鏡写真および電子線回折像を示した。個々の粒子は HAp の単結晶体であることがわかる。また、粒子成長を抑制した球状 HAp の表面には明確な結晶面は観察されていない。一方、ロッド状 HAp の長軸は HAp 格子の *c* 軸

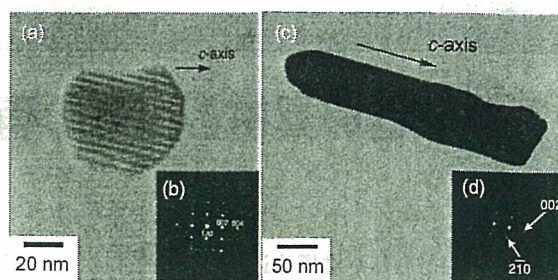


図2 球状 HAp (a, b) およびロッド状 HAp (c, d) を 800°C で 1 時間焼成した後の透過型電子顕微鏡写真 (a, c) と電子線回折像 (b, d)

方向であることがわかる。ここで、HAp の *a* 面はカルシウムイオンリッチであり、また *c* 面はリン酸イオンリッチであるとされており、HAp の形態を制御することで、粒子 1 個の電荷制御が可能であることを示している。

3. 有機-ナノ無機ハイブリッド材料

HAp ナノ粒子をほぼ単層で基材表面に結合させた有機-ナノ無機ハイブリッド材料を創出している。アルコキシシリル基およびイソシアネート基は HAp 結晶骨格の水酸基と共有結合で結合し、カルボキシル基は HAp 表面の Ca^{2+} とイオニックに相互作用する。筆者らはこれらの反応性基を有するポリマーを基材表面にグラフト重合し^{12)~14)}、このグラフト鎖を足場に HAp ナノ粒子をほぼ単層にてコートしている。ここではシルク繊維への HAp 複合法について説明する。まず重合ガラス管に十分に精製したシルク繊維、ラジカル開始剤である ammonium peroxodisulfate (APS) および水を混合し、その中に非イオン性界面活性剤と γ -methacryloxypropyl trimethoxysilane (MPTS) モノマーを混合した溶液を添加する。脱気・封かん後、所定時間および温度にて反応させ、得られた反応物は直ちに脱水エタノールにて洗浄し、グラフトに関与しないホモポリマーを取り除く。脱水エタノール中に分散させた HAp ナノ粒子希薄溶液中にグラフト重合させた繊維を浸漬し、ナノ粒子を吸着させた後、100°C 程度の温度でカップリング反応させ複合繊維を調製する。表面に重層した弱い相互作用のナノ粒子は超音波処理により取り除く。図 3 に高分子基材としてシルク繊維を用いた場合の有機-ナノ無機ハイブリッド材料表面の走査型電子顕微鏡像を示す。ロッド状 HAp ナノ粒子はほぼ単層で基材上に結合している様子が観察できる。媒体となるアルコールの極性を制御することにより、高分子表面の HAp ナノ粒子の表面被覆率を制御することが可能である。

原子間力顕微鏡 (AFM) のコンタクトモードによって HAp ナノ粒子-基板間の結合強度を定量的に評価している。まず AFM のカンチレバーのたわみ変位を一定とし、加わる力を一定に保った状態でカンチレバーを走査した。この際、HAp ナノ粒子に加わる力が HAp ナノ粒子-基板

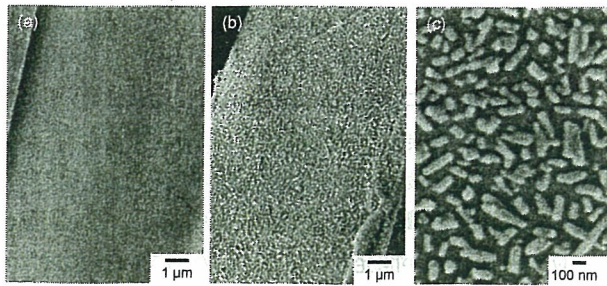


図3 未処理シルクフィブロイン繊維 (a) とロッド状 HAp/シルクフィブロイン複合体 (b, c) の走査型電子顕微鏡写真 (a, b) 低倍率写真; (c) 高倍率写真

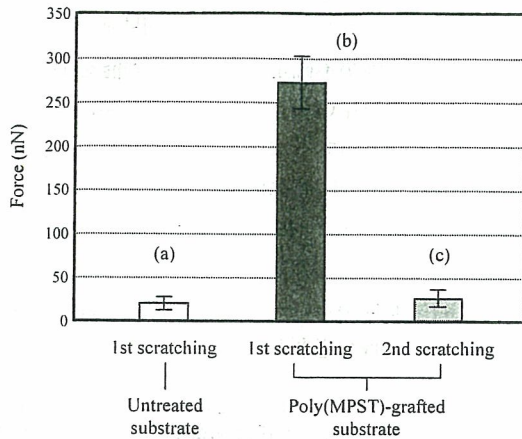


図4 AFM測定によって求めた未処理基板 (a) あるいはシランカップリング剤を側鎖にもつグラフト鎖を導入した基板 (b) に結合させた HAp ナノ結晶の結合強度. (c) は一度移動した粒子を再度測定した結果を示す.

間の結合力より小さい場合には HAp ナノ粒子は移動しないが、結合力よりも大きい場合に移動する。HAp ナノ粒子が移動するまでカンチレバーのたわみ変位を段階的に大きくしながら走査し、移動したときのたわみ変位から HAp ナノ粒子-基板間の結合強度を算出した。

結合強度の測定用の基板としては、表面にアルコキシシリル基をもつ高分子をグラフト化したステンレス (SUS316L) を用いた。日本ビーコ (株) 製 DI3100AFM およびカンチレバーとして MikroMasch 社製 CSC 37 / ALBS/15 (たわみバネ定数 k , 0.3 N/m) を用い、室温、大気圧下で測定した結果を図 4 に示した。未処理の場合と比較して、HAp ナノ粒子を吸着させた状態でシランカップリング処理を行うことで結合強度が約 13 倍に上昇した。また、移動後の HAp ナノ粒子を再度移動させた場合、結合強度が大幅に減少していることから、HAp ナノ粒子を移動させることで化学結合が切断されたことが確認できる。また、グラフト鎖長によって結合強度が向上することを示唆する結果を得ており、グラフト鎖長および密度を制御して基板-HAp 間の表面ラフネスの不一致を相補できる高分子効果の精密設計を進めるなど、界面複合化反応に関する基礎概念の構築も行っている。

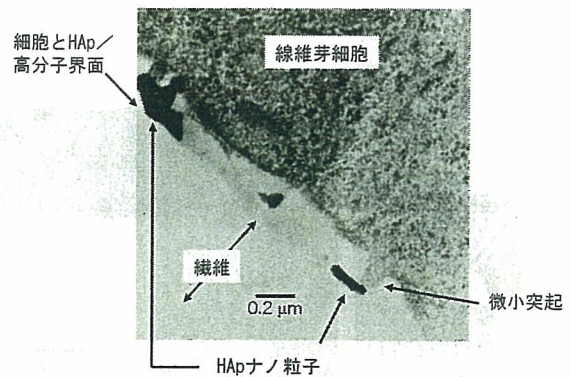


図5 線維芽細胞が接着したハイブリッド材料の断面像 (TEM, 24 時間培養) 黒く染色された箇所が線維芽細胞で、白く抜けた箇所が高分子基材の断面。線維芽細胞から微小突起が、繊維上に結合した HAp ナノ粒子上に選択的に延伸している。

4. ハイブリッド材料の細胞接着性

高分子もしくは金属基材表面に HAp ナノ粒子を化学結合させることで、細胞接着性を向上させることができる。現段階では、線維芽細胞、血管内皮細胞、平滑筋細胞、骨髄単核球細胞が接着性試験に試されている。細胞種による特異性はないように思われるが、ナノ粒子の粒径、被覆率など十分な検討が必要である。有機-ナノ無機ハイブリッド材料上に接着した線維芽細胞 (L929 細胞) をマイクロトームで切断し、透過型電子顕微鏡にて観察すると、接着初期において細胞から微小突起が HAp ナノ粒子に対して選択的に延伸していることがわかる (図 5)。基材表面に結合したロッド状 HAp ナノ粒子の場合、カルシウムリッチな a 面が表面に露出している可能性が高いことから、細胞膜表面が陰性荷電している細胞が接着しやすいことが推察される。さらに血清中の細胞接着性タンパク質 (フィブロネクチン、ビトロネクチン、ラミニンなど) や線維芽細胞から産生されるコラーゲンが HAp に吸着しやすいこと¹⁵⁾、塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF) が炭酸含有 HAp に強く吸着しやすいこと¹⁶⁾ などが知られている。筆者らの独自技術で c 軸方向への粒径および結晶面を制御した HAp ナノ粒子を表面に単層結合させた基材を用いて、接着性タンパク質の吸着挙動やコンホメーションを詳細に明らかにする必要がある。

5. デバイス加工と経皮的動物埋植実験による評価

皮膚組織と密着し細菌感染を防ぐデバイスは、最適化された形状に成形加工することにより創製される。まずシルク繊維を約 100 μm 長に裁断し、その繊維に HAp ナノ粒子を共有結合で単層結合させる。この HAp コーティング繊維をあらかじめ中心静脈カテーテル用に設計したシリコン製端子の表面に植毛 (フロック加工) することにより、セラミック経皮端子が製造される (図 6)。この端子は

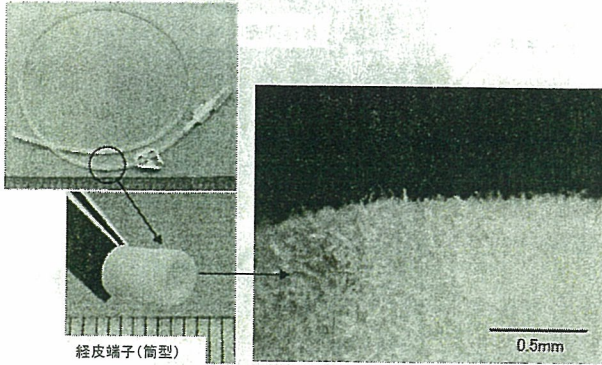


図6 フロック加工された経皮端子の外観
HApコート繊維（約100 μ m長）が三次元的にシリ
コン製端子上に植毛されている。

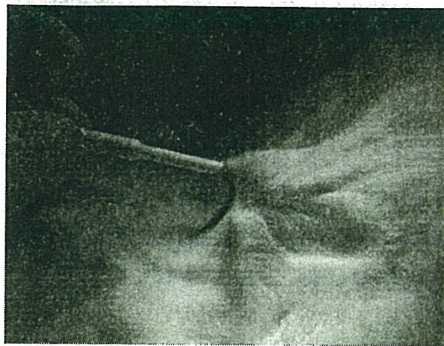


図7 ウサギ背部に経皮的に埋植された該経皮端子付きカ
テーテル（17カ月目）と周辺像。端子は皮下にある。

白色状でセラミックスでありながら柔軟性を有している。動物実験による軟組織密着性および感染防止の効能は、当該経皮デバイスを装着したカテーテルをウサギ背部に埋植し、病理学的評価、血液学的評価、外観（炎症、膿瘍の有無）、長期埋植を行うことで総合評価している。図7にウサギ背部に埋植した17カ月目の外観写真を示す。現在、もっとも長期の試験例は25カ月にも及び、皮膚組織はデバイスと密着し、外観上、大きな炎症や膿瘍などはとくに認められていない。

6. まとめ

感染防止を実現する医療機器（中心静脈用カテーテル）の開発を目指して、ソフトナノセラミック・プロセッシングにより有機-ナノ無機ハイブリッド材料を創出し、材料評価、デバイス加工、医療機器としての効能評価を行ってきた。

中心静脈用カテーテルのわが国における感染率は約10%であり、カテーテル感染が直接、死亡原因となるのは

2.3万人/年と推定されている〔肺炎と不慮の事故による死亡原因の中間（死亡統計の第5位）に位置〕¹⁷⁾。この数値から細菌感染は非常に重大な問題であることがわかるが、現実に臨床試験（治験）で10%という値を統計学的に有為に低減させることの実証は非常に困難である。これまで多くの方法論により皮膚貫通部の密着性を効能として、細菌侵入を防ぐデバイスが開発されてきた。海外では抗菌剤コートカテーテルが推奨されるが、わが国では過敏症により死亡例が発生したことにより販売中止となったこともあり、有効なカテーテル感染を防止する機器は現存しない。前述したように当該医療機器に関するわが国の市場規模が大きいこともあり、エンジニア側からの開発も医師側からの開発も、感染評価が不確定であるため効能を償還価格に反映させる可能性を見いだせず、よって開発に多くの予算と時間をかけることができない。ではどうすれば良いか。機器開発を推進すると同時に臨床におけるカテーテル感染評価法（1,000カテーテル日）と整合性のある前臨床感染評価法を発案・提唱し標準化することである。バイオマテリアルの成功はゼロからゴールまで国による規制を考慮しつつ絶え間ない挑戦が必要だ。

謝辞 AFM測定にご協力いただいた大阪大学産業科学研究所・田中秀和助教授、柳澤吉彦氏に感謝申し上げます。本総説は（独）科学技術振興機構研究成果活用プラザ大阪育成研究および厚生労働科学研究費の成果の一部をまとめたものである。

文 献

- 1) H. Aoki, *et al.*: *Med. Progr. Technol.*, **12**, 213 (1987)
- 2) M. Wang, *et al.*: *Biomaterials*, **19**, 2357 (1998)
- 3) M. Kikuchi, *et al.*: *Biomaterials*, **22**, 1705 (2001)
- 4) M. Tanahashi, *et al.*: *J. Am. Ceram. Soc.*, **77**, 2805 (1994)
- 5) T. Taguchi, *et al.*: *Chem. Lett.*, 711 (1998)
- 6) T. Furuzono, *et al.*: *J. Mater. Sci. Lett.*, **20**, 111 (2001)
- 7) K. Sonoda, *et al.*: *Solid State Ionics*, **151**, 321 (2002)
- 8) J. E. Barralet, *et al.*: *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, **11**, 719 (2000)
- 9) D. Bernache-Assollant, *et al.*: *J. Eur. Ceram. Soc.*, **23**, 229 (2003)
- 10) M. Okada, T. Furuzono: *J. Mater. Sci.*, **41**, 6134 (2006)
- 11) M. Okada, T. Furuzono: *J. Nanoparticle Res.*, in press (published online at 22 July 2006)
- 12) A. Korematsu, *et al.*: *J. Mater. Sci.*, **39**, 3221 (2004)
- 13) A. Korematsu *et al.*: *J. Mater. Sci.*, **16**, 67 (2005)
- 14) T. Furuzono *et al.*: *J. Artif. Organs*, **7**, 137 (2004)
- 15) K. L. Kilpadi, *et al.*: *J. Biomed. Mater. Res.*, **57**, 258 (2001)
- 16) V. Midy, *et al.*: *J. Biomed. Mater. Res.*, **41**, 405 (1998)
- 17) 武澤 純, 井上善文: “エビデンスに基づいた感染制御”, 小林寛伊, 吉倉 廣, 荒川宜親編, メデカルフレンド社, 2002, p. 28

別刷

Angiology Frontier

Vol.5 No.2
2006. 6

メディカルレビュー社

1. 腸骨動脈領域閉塞性疾患 血管内治療

Vascular intervention (iliac arterial steno-occlusive disease)

◆
田中 良一 Ryoichi Tanaka

国立循環器病センター放射線診療部
(現 岩手医科大学放射線科)

Summary

腸骨動脈における血管内治療はその低侵襲性と安定した治療成績により、適応が広がりつつある。また、種々のデバイスが開発され、使用可能となっていることも追い風となっている。同時に、重症病変に対する治療も多く行われるようになっており、合併症もわずかながら増加傾向にある。適応を重視し、手技に習熟すること、また、さまざまなデバイスの特徴を知り、治療にあたるのが重要である。さらに、領域ごとに異なる解剖や血行動態および病態を理解し、治療にあたるのが肝要である。

血管内治療は有用な治療方法であるが、対象の状態にあわせて外科的の血行再建や内科的治療と正しく組み合わせて行うことが最も重要である。

Key words

- 腸骨動脈
- 血管内治療
- スtent
- 合併症

はじめに

下肢閉塞性動脈疾患の血管内治療は低侵襲的治療として広く行われるようになってきているが、領域によってはいまだ安定した治療成績が出ていないのも現状である。そのなかで腸骨動脈領域では、バルーンによる血管拡張術(バルーンPTA)の時代から治療効果に対する研究がなされ、金属stentの登場により、安定した遠隔期治療成績を出せるようになってきている数少ない領域の1つである。また、本邦において血管系自己拡張型stentの適応症となっている唯一の領域でもある。

ここでは、腸骨動脈における閉塞性動脈疾患に対する血管内治療について、その特徴と変遷および問題点と今後の展望について自験例を交えながら記す。

1 腸骨動脈の特徴

腸骨動脈は下肢動脈のなかでも最も中枢に位置し、大動脈より連続している。下肢は体幹部に続き容積の大きい部位であり、その中枢に位置する腸骨動脈を流れる血液量も多い。したがって、腸骨動脈レベルでの

狭窄もしくは閉塞性病変は同側の下肢全体に影響を及ぼすことになる。

解剖学的には腸骨動脈は血管の蛇行が顕著に現れる部位である。拍動や下肢運動に伴う血管の変形が起こる部位でもあるが、この動きは比較的単純である。

また、腸骨動脈は下部腰椎レベルで分岐し、後腹膜で仙骨および腸骨の近傍を走行するため、これらの部位に外科的にアプローチするためには、それなりの侵襲が加わることになる。

2 腸骨動脈領域の側副路

腸骨動脈領域では側副路となる経路は比較的多い。たとえば腰動脈から病変側内腸骨動脈や深腸骨回旋動脈、対側内腸骨動脈から病変側内腸骨動脈、内胸動脈から下腹壁動脈を介して総大腿動脈などは重要な側副路であり、閉鎖動脈を介した総大腿動脈と内腸骨動脈の末梢吻合や両側外恥骨動脈の吻合もしばしばみられる。腸骨動脈病変の治療において総腸骨動脈から外腸骨動脈への連続病変の場合、内腸骨動脈入口部の処理は議論があるところである。一般に多くの症例で内腸骨動脈にすでに狭窄や閉塞病変が及んでいることも多く、また、豊富な側副路により保護されているため、万一入口部閉塞が起こっても重篤な合併症に結びつくことはほとんどないが、男性の場合はvascular impotenceが生じる可能性があることには留意が必要である。

豊富な側副路による代償により、腸骨動脈の部分的な病変の重症度と症状とは必ずしも相関しないことがある。ただし、これらの側副路だけでは負荷がかかった状態で十分な血流を確保することが難しく、側副路の発達だけで血行再建を必ずしも回避できるわけではない。また、側副路にも動脈硬化による閉塞性病変が生じることも多く、一般に閉塞性動脈疾患を有する症例での腸骨動脈領域では血流路は複雑である。とはいえ、側副路は治療のバックアップとなることも多く、側副路を温存するように治療することも重要である。また、血管造影で側副路の描出が消失することが治療成功の指標になることもある。

3 腸骨動脈閉塞性病変に対する血管内治療の変遷と現状

閉塞性動脈疾患に対する血管内治療の基本はバルーンPTAであり、腸骨動脈においてもバルーンPTAによる治療が行われてきた。バルーンPTAが主流の時代は限局性狭窄が主たる治療対象であったが、金属ステント¹⁾の登場によりびまん性病変への対応も可能となってきた。また、バルーン拡張型ステントでは柔軟性に乏しく、対応できる病変が限定されていたが、柔軟性に富む自己拡張型ステントが登場したことにより屈曲部病変への対応が可能となり、適応の範囲も広がってきた²⁾³⁾。金属ステントの登場により遠隔期成績が安定してきたことも、血管内治療の普及に拍車をかけたが、2000年のTransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC)⁴⁾に記されているように、腸骨動脈においても血管内治療の積極的適応とされる病変は比較的単純なものに限られていた。しかし、閉塞性病変における比較的安定した治療成績が報告されるようになり⁵⁾⁶⁾、腸骨動脈領域における血管内治療の役割は広がりつつある。特にTASC type C, Dに分類されるような比較的長区域の閉塞病変であっても、十分に手技に習熟すれば95%以上の成功率で治療を行うことが可能である(図1)。また、これらの病変を含む遠隔期治療成績も5年前後のprimary patencyで75~85%、secondary patencyでは80~90%と良好である。

4 金属ステントの使い分け

金属ステントの長期成績は腸骨動脈では良好であり、特に自己拡張型ステントの果たす役割は大きい。ステントの構造やデリバリーシステムの構造によりさまざまな特徴があり、留置時に注意すべきことや遠隔期に注意すべきこともおのずと異なってくる。Wallstentは本邦では腸骨動脈において最初に自己拡張型ステントとして認可を受けたものであり、なじみも深いステントであるが、留置時に短縮する構造であり、他の自己拡張型ステントとはかなり特徴が異なる。ステントの短縮はステントの拡張とともに起こるため、留置後も後拡張を行うとさらに短縮する。したがって、

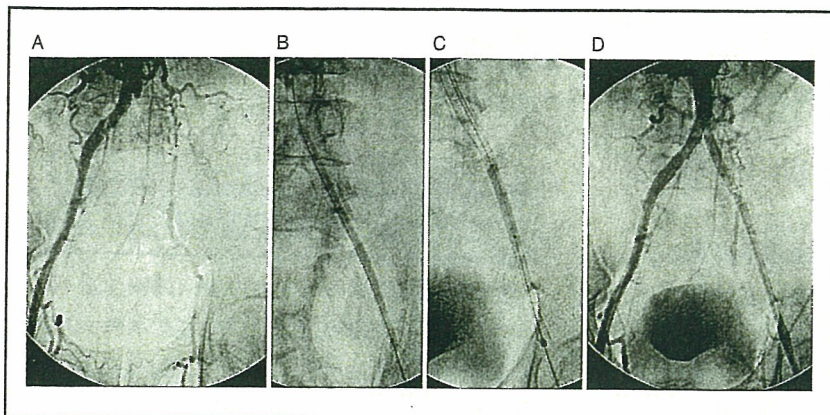


図 1

TASC type D長区域病変に対する血管内治療

A：治療前の血管造影。左総腸骨動脈から外腸骨動脈遠位までの長区域閉塞病変を認める。

B：前拡張。10cm長のlong balloonを使用している。

C：ステント挿入後、後拡張。

D：治療後の血管造影。良好に開存している。

(田中良一：腸骨動脈におけるインターベンション。Vascular Lab 2(4)：62-67, 2005より引用)

短縮率の予想をきちんと行っておかないと、最終的にステントの長さが足りない、もしくは長すぎるといった事態に陥ることもありうる。留置時に十分に短縮させておけば後拡張時に不要な短縮が起こることを防止でき、プッシュインテクニックはWallstent留置において重要なテクニックである。留置時の途中までであれば再収納が可能であるという特徴を同時に生かせば、Wallstentでもかなり厳密なステント留置が可能である。一方で、他のナイチノールステントでは短縮はほとんど起こらないため、ステント留置時の厳密な位置決めが比較的容易にできるものの、Wallstentとは異なり再収納はできないため、ステント留置は一発勝負である。また、ステント種によっては、ステントメッシュが大きく開いているため、間から内腔へプラークが突出することもある。特に閉塞性病変では非常に柔らかいプラークが含まれるため、できるだけメッシュが細かなステントを使用すべきであろう。

5 Kissing stentとsubintimal recanalization

Kissing stentは総腸骨動脈近位部病変に対する治療でしばしば使われる手段であるが、遠隔期の安定した成績も報告されており⁸⁾⁹⁾、大動脈に連続するような病変に対する治療法として重要である。

Subintimal recanalizationは大腿動脈や下腿動脈において意図的に内膜下を通して血流腔を確保する手技として考案されたものである。腸骨動脈における

subintimal recanalizationという報告もあるが¹⁰⁾、これは本質的に大腿動脈や下腿動脈におけるsubintimal recanalizationとは異なる。腸骨動脈においては閉塞部を再開通させる場合、結果的に途中でガイドワイヤーが内膜下を通ることがあるが、原則として真腔を通過させることが必要である。多くの場合、ガイドワイヤーは部分的に内膜下に存在するため、前拡張により病変部内膜が裂開し、ガイドワイヤーは真腔に戻る。したがって、問題になることは少ないが、内膜下の脆弱な腔にステントを留置するとステントエッジなどで損傷した場合、血管穿孔を起こすことになる(図2)。大腿動脈などで行うsubintimal recanalizationは閉塞の全長にわたって内膜下を通すテクニックであり、もともとステントを使用しないで再開通を得るために考案された方法である。したがって、バルーン拡張で内膜を扁位させ内膜そのものが裂開しないため、確保された血流腔の壁は薄く脆弱である。腸骨動脈では出血時には後腹膜腔に広く出血するため、止血が困難であり、このリスクを考慮すると同様の手技を腸骨動脈においては行うべきではないと考える。

6 血管内治療の合併症

閉塞病変に対する血管内治療が増加してきたことにより、若干ではあるが合併症の頻度も高くなっている。穿刺部関連の合併症などは従来同様であるが、比較的大きな遠位塞栓(図3)や血管穿孔が起こりうる。全合併症を含めても2~3%以内であるものの、重篤な合

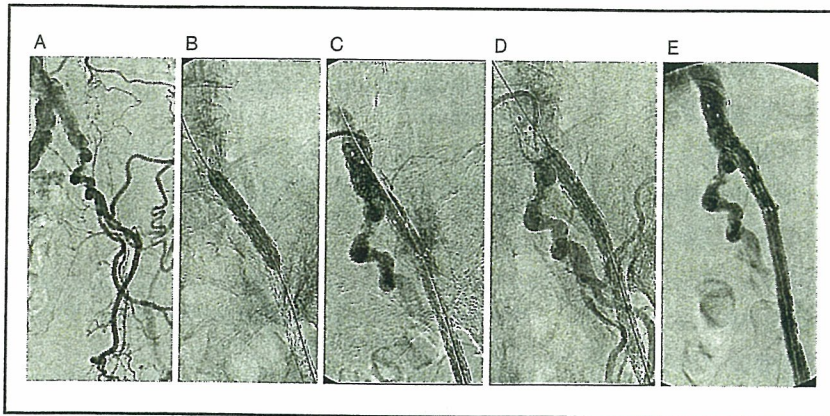


図2

血管穿孔

- A: 治療前。
 B: スtent留置後の後拡張。通常にはない強い痛みの訴えがあった。
 C: 血管造影にて血管外漏出を確認。
 D: 直ちにバルーンによる低圧拡張で血流を遮断し、ヘパリンを中和して止血を行った。
 E: 30分後の造影にて血管外漏出は消失。
 (田中良一: 腸骨動脈におけるインターベンション. Vascular Lab 2(4): 62-67, 2005より引用)

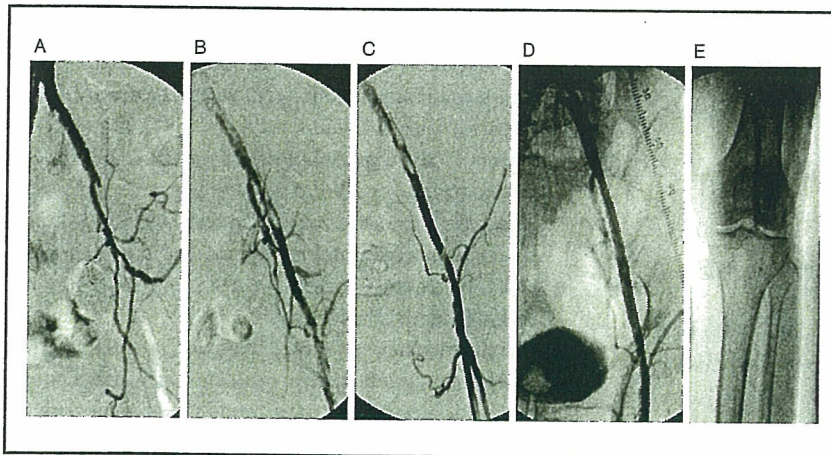


図3

遠位塞栓

- A: 治療前。
 B: 再開通後。前拡張にて外腸骨動脈にあったプラークが総大腿動脈に移動していることがわかる。
 C: 血栓溶解術後。血栓の関与も考えられたため血栓溶解術を施行し、総大腿動脈は開存。
 D: スtent後。Stent挿入により外腸骨動脈の残存狭窄を解除した。
 E: 左膝窩動脈部造影。残存したプラークが遠位塞栓を起こしている。引き続き外科的血栓除去術を施行した。
 (田中良一: 腸骨動脈におけるインターベンション. Vascular Lab 2(4): 62-67, 2005より引用)

併症には注意を要する。遠位塞栓に関しては閉塞部通過の際のガイドワイヤーに伝わる抵抗でプラークの性状を判断し、柔らかいものであれば前拡張などで過拡張することなく、メッシュが細かなステントで押さえ込むことで、ある程度回避可能である。場合によっては血栓吸引カテーテルなどにより柔らかい成分を吸引してしまうことも有効である。

血管穿孔に関しては慎重な手技を行うことが重要だが、特に前項に挙げたような意図的なsubintimal recanalizationを避けることが重要である。そのためには、血管の閉塞端を慎重に同定し、カテーテルとガイドワイヤーの先端形状をうまく利用して誘導することが重要であり、ガイドワイヤーが確実に通過するまでは無理なカテーテル操作を行わないことが重要である。なぜなら、ガイドワイヤーのみの穿孔であれば孔

が小さく、ほとんどが閉塞部内からの穿孔になるため、ガイドワイヤーを抜くだけで問題ない場合も多くあるからである。無理にカテーテルを先行させると血管の穿孔部近くまで血流腔が伸び、出血のコントロールが効かなくなると考えられ、生命にかかわる重篤な事態に結びつきうる。

7 血管内治療の適応と限界

下肢閉塞性動脈疾患に対する血管内治療は生命予後を改善しない¹³⁾。重症虚血肢の場合を除き、血管内治療の目的は症状の改善が主たるものであり、QOLの改善に対して作用するものである。したがって、病変の状態にかかわらず、症状がなければ原則として適応とはならない。また、外科的血行再建も含め、内科的治

療など総合的診療を行うことが重要である。閉塞性動脈疾患を有する症例は他の心血管系合併症を有することも多く、場合によっては合併症の治療を優先させる必要がある。また、下肢閉塞性動脈疾患の治療を優先する場合においても、合併症に対する治療の妨げになるような血管内治療は厳に慎むべきである。特に総大腿動脈は種々の治療のアクセスルートとして重要であり、可能な限り温存すべきである。また、大動脈を含む病変も慎重に適応を考えるべきであり、かなり多量のプラークが付着することもあるため、手技にも注意を要する。また、大動脈の閉塞を伴う症例においては、現時点では血管内治療は禁忌と考えるべきであろう。カバードステントや多量の塞栓子にも対応できるようなエンボリックプロテクションデバイスが出てくれば適応が広がる可能性もあるが、末梢の塞栓だけではなく腸や腎臓への塞栓性合併症が起こるリスクも高いからである。低侵襲な治療であるためには合併症を起こさないことが重要であり、また、合併症が発生した場合にも重篤な事態を回避するための、次善の策を用意しておくことが必要である。

文献

- 1) Palmaz JC : Balloon-expandable intravascular stent. *AJR Am J Roentgenol* **150**(6) : 1263-1269, 1988
- 2) Raza Z, Shaw JW, Stonebridge PA, et al : Management of iliac occlusions with a new self-expanding endovascular stent. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **15**(5) : 439-443, 1998
- 3) Rousseau H, Puel J, Joffre F, et al : Self-expanding endovascular prosthesis ; an experimental study. *Radiology* **164**(3) : 709-714, 1987
- 4) Dormandy JA, Rutherford RB : Management of peripheral arterial disease (PAD). TASC Working Group. TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC). *J Vasc Surg* **31**(1 Pt 2) : S1-S296, 2000
- 5) Murphy TP, Ariaratnam NS, Carney WI Jr, et al : Aortoiliac insufficiency ; long-term experience with stent placement for treatment. *Radiology* **231**(1) : 243-249, 2004
- 6) Carnevale FC, De Blas M, Merino S, et al : Percutaneous endovascular treatment of chronic iliac artery occlusion. *Cardiovasc Intervent Radiol* **27**(5) : 447-452, 2004
- 7) Uher P, Nyman U, Lindh M, et al : Long-term results of stenting for chronic iliac artery occlusion. *J Endovasc Ther* **9**(1) : 67-75, 2002
- 8) Haulon S, Mounier-Vehier C, Gaxotte V, et al : Percutaneous reconstruction of the aortoiliac bifurcation with the "kissing stents" technique ; long-term follow-up in 106 patients. *J Endovasc Ther* **9**(3) : 363-368, 2002
- 9) Mouanoutoua M, Maddikunta R, Allaqaband S, et al : Endovascular intervention of aortoiliac occlusive disease in high-risk patients using the kissing stents technique ; long-term results. *Catheter Cardiovasc Interv* **60**(3) : 320-326, 2003
- 10) Thava VR, Stead RE, Smith RP : Subintimal recanalisation and stenting of a common iliac artery occlusion by a left axillary and an ipsilateral femoral retrograde approach using modified gooseneck grab aided by balloon dilatation of "dissection port". *Clin Radiol* **59**(6) : 527-530, 2004
- 11) Klein WM, van der Graaf Y, Seegers J, et al : Long-term cardiovascular morbidity, mortality, and reintervention after endovascular treatment in patients with iliac artery disease ; The Dutch Iliac Stent Trial Study. *Radiology* **232**(2) : 491-498, 2004

CARDIAC PRACTICE

別刷

(株)メディカルレビュー社