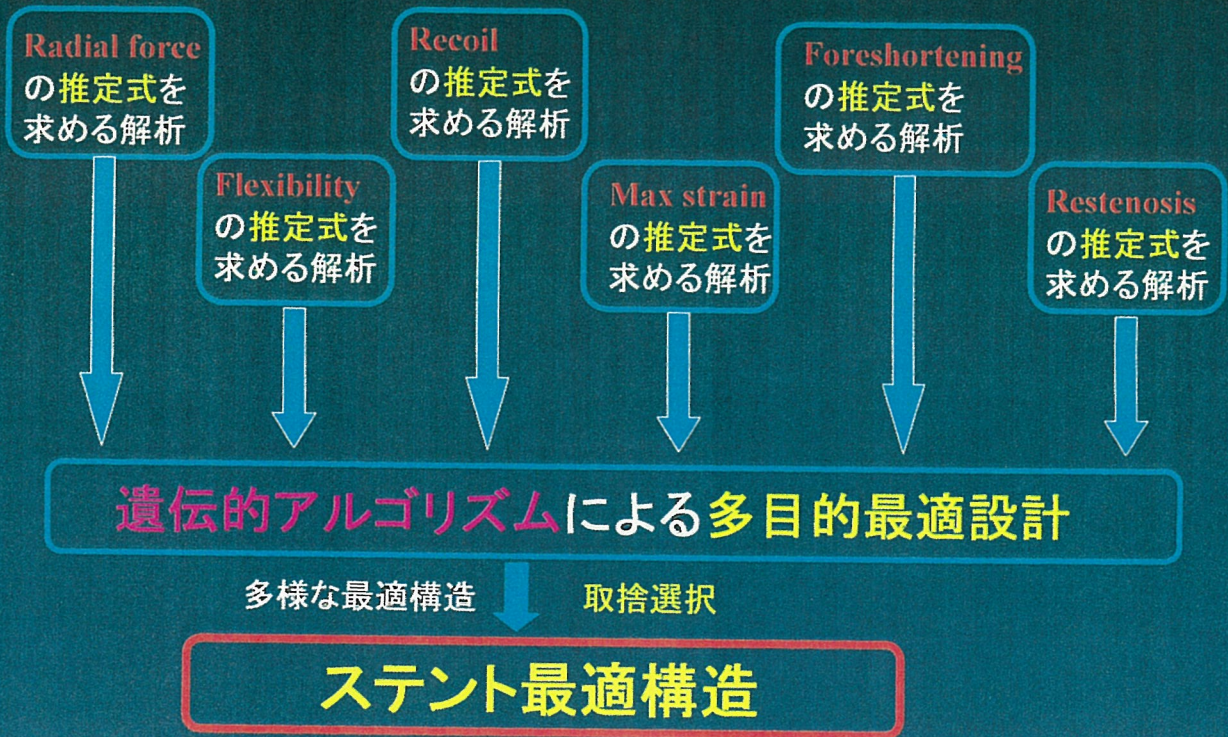


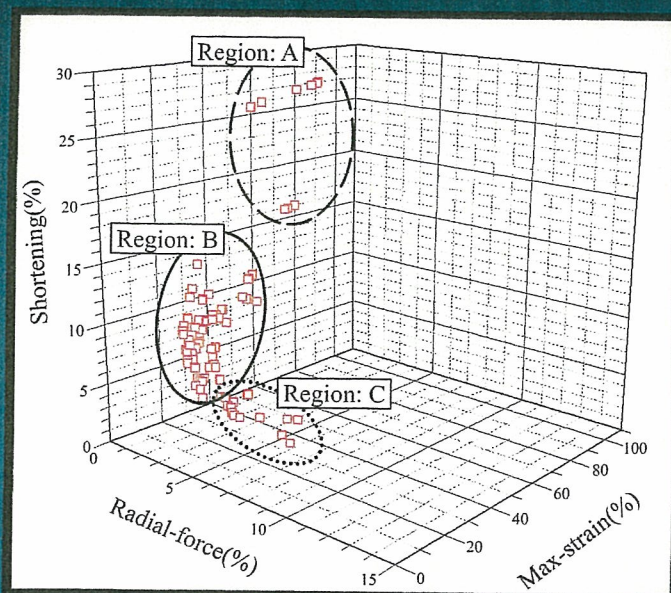
ステント形状設計ソフト

(ステントに様々な特性を盛り込んで最適設計が可能)



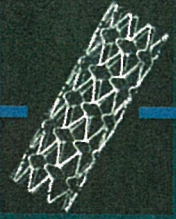
ステント形状設計ソフトに基づく最適設計結果

■ 最適解を分布傾向により3領域に分けることができる

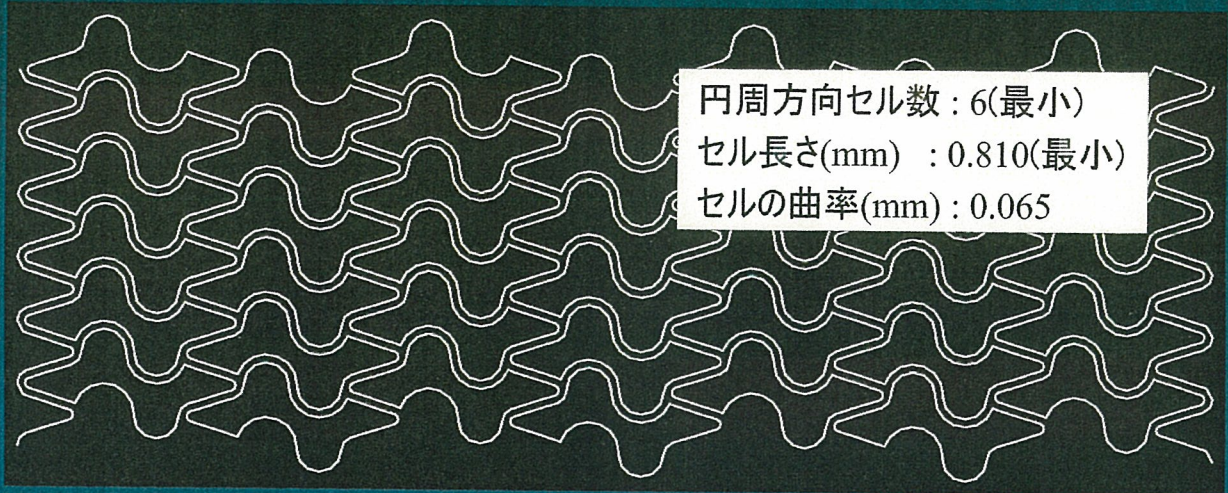


- Region: A
半径方向剛性のみ最適化
- Region: B
半径方向剛性 } バランスよく
最大ひずみ } 最適化
ショートニング }
- Region: C
最大ひずみ } 2個だけ最
ショートニング } 適化

Region: Aでの最適解例



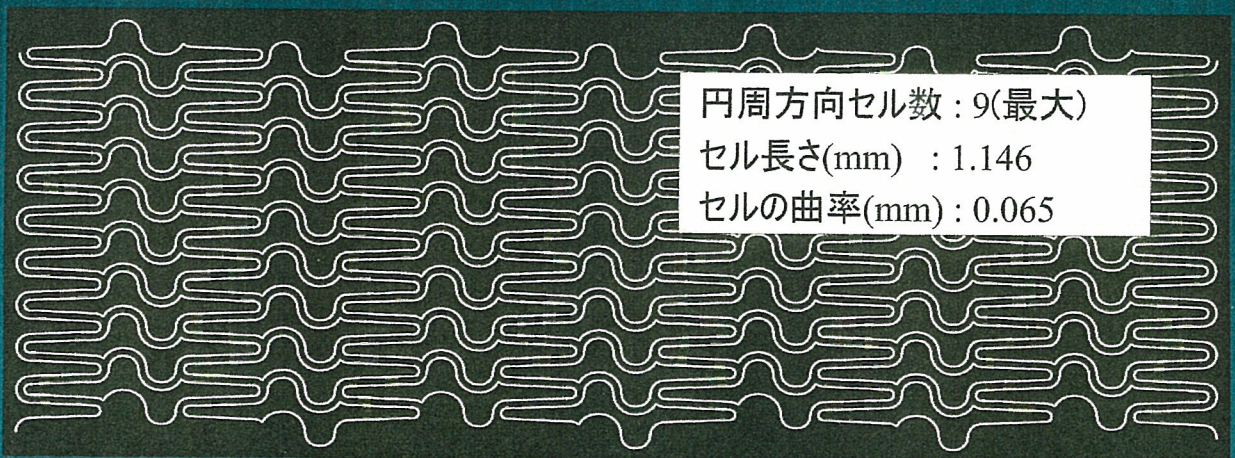
Region: A → 半径方向剛性のみ最適化



Region: Bでの最適解例



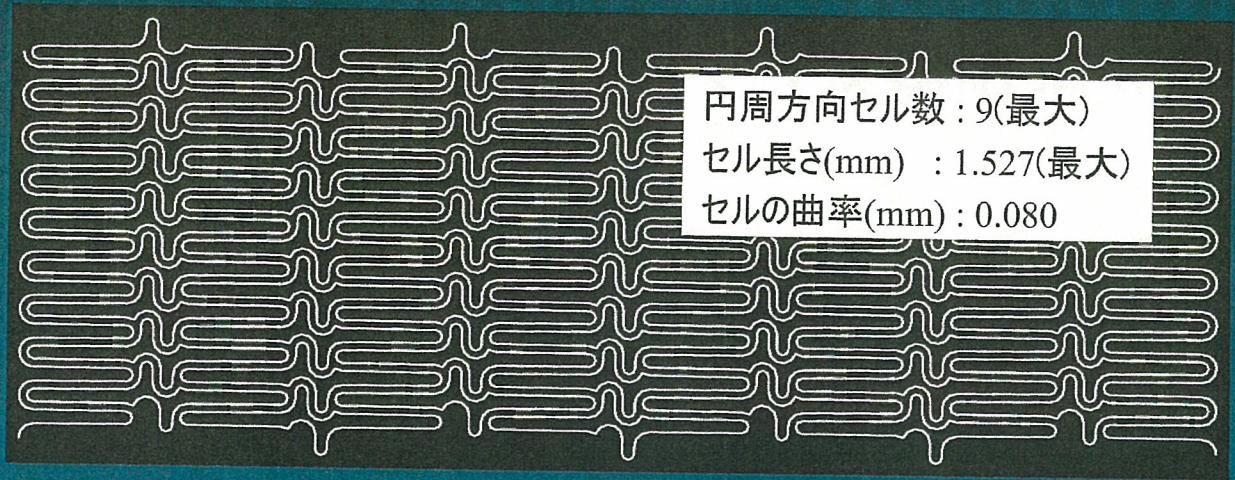
Region: B → 3つをバランスよく最適化



Region: Cでの最適解例



Region: C → **最大ひずみ, ショートニングを最適化**



複数の力学特性を最適化

→ **多様な最適設計構造**が分かる

第4回国循環ステントグラフト研究会講演会

日時：平成17年3月7日（月）午後6時
場所：国立循環器病センター研究所
研究所本館2階 カンファレンス室

お知らせ No. 4 (最終版)

平成17年3月2日

第4回国循ステントグラフト研究会講演会のお知らせ

国循ステントグラフト研究会メンバーの先生方におかれましては、ますますご清栄のこととお喜び申し上げます。

この度、第4回国循ステントグラフト研究会講演会と称して「ステントによる透析ブラッドアクセス修復法」に関する講演会を開催致します。今回は、ステントを用いた透析ブラッドアクセス修復術の第一線でご活躍されているお二人の先生をお呼びして、治療法の実際とステント設計についてご講演を賜ることとなりました。我々研究会の得るところが大変多いかと存じます。ご参加のほどよろしくお願い申し上げます。

講演会の名称：第4回国循ブラッドアクセス研究会講演会

—ステントによる透析ブラッドアクセス修復術—

日時：平成17年3月7日(月)午後6時～

場所：研究所本館2階会議室

講師：東北大学放射線科助手 高瀬圭先生(講演40分/討論5分)

タイトル：「透析シャント IVR の現状とステントへの期待」

(座長) 国立循環器病センター放射線診療科 田中良一先生

講師：福岡赤十字病院腎センター副部長 池田 潔先生(講演40分/討論5分)

タイトル：「Vascular access におけるステント留置の成績と問題点—理想的ステント」

(座長) 日本海員救済会門司病院内科腎センター 稲永 隆先生

総合討論(30分～)

(司会) 国立循環器病センター研究所 古菌 勉

研究会世話役 古菌 勉

内線：2623

平成17年3月7日

第4回国循環ステントグラフト研究会講演会

講師：東北大学放射線科助手 高瀬圭先生

(講演40分/討論5分)

タイトル：「透析シャントIVRの現状とステントへの期待」

(座長) 国立循環器病センター放射線診療科 田中良一先生

講師：福岡赤十字病院腎センター副部長 池田 潔先生

(講演40分/討論5分)

タイトル：「Vascular access におけるステント留置の成績と問題点—理想的ステント」

(座長) 日本海員救済会門司病院内科腎センター 稲永 隆先生

総合討論：透析ブラッドアクセス用ステントグラフトの設計指針について (30分)

(司会) 国立循環器病センター研究所 古菌 勉



【総合討論】

透析ブラッドアクセス用ステントグラフトの設計指針について

- (1) 透析用ブラッドアクセスに求められているものは何か？
- (2) 他のステントとの相違点は何か？
- (3) ブラッドアクセスでステントグラフトが使われているか？その有意性は？
- (4) 具体的な設計指針は？
 1. 機械的物性 (硬さ・柔らかさ)
 2. 形状 (長さ、拡張時外径/内径)
 3. 動物実験評価法 (動物種、どの血管を使うか、インプラント期間、評価法)
- (5) その他

【研究会総評】 宮武副院長

「第 4 回国循環ステントグラフト研究会講演会」議事録

1. 日 時 平成 17 年 3 月 7 日 (月) 18:00～20:30

2. 場 所 研究所本館 2 階会議室

3. 講演内容

18:00～19:00 「透析シャント IVR の現状とステントへの期待」

講師：東北大学放射線科助手 高瀬 圭先生

座長：国立循環器病センター放射線診療科 田中 良一先生

- ・シャントトラブルおよびその治療法についての一般論
- ・シャントトラブルへステントグラフトが用いられる際の具体例
 - 1) シャント瘤
 - 2) 過剰血流シャントに対するフローコントロールドステントグラフト
 - 3) バイパスステント術
- ・今後のステントに期待するもの
 - 1) 穿刺可能なもの：メッシュが（全体または部分的に）荒いもの
 - 2) 生体吸収型
 - 3) 血管径の変化に対応可能なもの（円錐状）
 - 4) 折り畳んだ時と拡張時で長さがあまり変化しないもの
 - 5) 屈曲に強いもの（径の変化、破損がないもの）

19:00～20:00 「Vascular access におけるステント留置の成績と問題点-理想的ステント」

講師：福岡赤十字病院腎センター副部長 池田 潔先生

座長：国立循環器病センター放射線診療科 田中 良一先生

- ・Vascular access ガイドラインについて
- ・福岡赤十字病院腎センターでの治療方針について
- ・福岡赤十字病院腎センターでの症例紹介
- ・市販ステントの紹介と各ステントを用いた際の開存率について
- ・理想的なステントの提案
 - 1) 穿刺可能なもの
 - 2) 内皮の肥厚が起こらないもの
 - 3) 折り畳んだ時 6 Fr 以下の大きさのもの

20:00～20:30 総合討論

司会：国立循環器病センター研究所 古菌 勉

- ・ステントグラフトのズレについて：シャント不全の治療の際にはズレは見られない。

・グラフトについて：

- 1) 臨床では PTFE が一番良好である：伸びる、他の素材より再狭窄しにくい。
- 2) シースを細くするために、薄いグラフトが望ましい。
- 3) 内皮へのステント埋没を防ぐため、グラフト-ステント-グラフトの三層構造がよいのではないか、という提案。

・ステントについて：

- 1) 素材：臨床では、素材自体よりも物性の方を考慮している。
- 2) デザイン：メッシュの大きさ、屈曲性、エッジ部の刺激を考慮すべきである。

・サイズについて：臨床では、5～6 mm 径、60 mm 長のものでほとんどである。

・動物実験について：

- 1) Native A-V をわざわざ作製する必要はない。
- 2) まず犬の頸動脈で実験を行い、内皮肥厚の抑制を確認する。
- 3) 過剰血流の抑制という目的の提案。

ポリアクリル酸を融着防止助剤として用いた ナノアパタイト仮焼体の作製

国循セ ○岡田正弘・古蘭勉

<緒言>

これまで我々は、ナノサイズのハイドロキシアパタイト (HAp) 単結晶体を医用高分子材料表面に共有結合を介して固定化した新規な無機/有機界面複合材料を開発し、その軟組織適合材料としての有用性を報告してきた。ここで、HAp 粒子は仮焼を行い、結晶性を高めた後に用いている。しかし、仮焼時に HAp 一次粒子同士が融着・結合した二次粒子が形成し、媒体中における HAp の分散性および比表面積が低下するという問題があった。

本報告では、HAp 単結晶 (仮焼体) 間の融着を防止すること目的とし、HAp 粒子表面にポリアクリル酸カルシウム (PAA-Ca) を存在させ、HAp 粒子同士の接触を防いだ状態で仮焼を行った。

<実験>

作製したナノサイズの低結晶性 HAp 粒子表面にポリアクリル酸をアルカリ条件下において吸着させた。その HAp 分散水溶液中に $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 飽和水溶液を添加することで HAp 粒子表面に PAA-Ca を析出させた。得られた HAp/PAA-Ca 混合物を乾燥後、 800°C において 1 時間仮焼を行い、HAp 表面に残存する酸化カルシウムを水で洗浄することで除去した。

<結果・考察>

Fig. 1 には、粒子表面に PAA-Ca を存在させ、HAp 粒子間の接触を防いだ状態で仮焼を行った HAp 単結晶体の走査型電子顕微鏡 (SEM) 写真および仮焼後の粒子をエタノールに分散させた状態での粒子径分布を示す。ここで、粒子表面に存在する PAA-Ca は仮焼の際に熱分解し、酸化カルシウムとして残存することを確認しており、仮焼後に水洗することで除去した。SEM 観察から、粒子径が $30\sim 60\text{ nm}$ の球状粒子であった。仮焼後の粒子をエタノールに分散させた状態で粒子径を測定したところ、PAA-Ca を存在させずに仮焼した場合には一次粒子が融着したミクロンサイズの二次粒子凝集体としてエタノール中に分散していた。一方、PAA-Ca を存在させた場合、エタノール分散状態での粒子径は SEM 観察から求めた粒子径と一致しており、一次粒子として分散していることが確認できた。また、X線回折、IR 測定、および元素分析から、本アパタイトはカルシウム欠損アパタイトであった。以上の結果から、PAA-Ca を粒子表面に存在させて仮焼を行うことで粒子間の融着が防止でき、仮焼後に残存する酸化カルシウムを洗浄することで、一次粒子として媒体中に分散可能なナノサイズの HAp 単結晶粒子の作製に成功した。

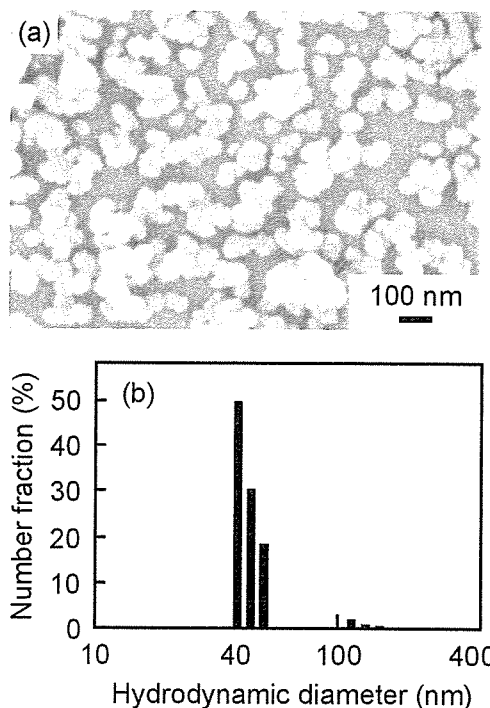


Fig. 1 A SEM photograph (a) of hydroxyapatite particles calcined at 800°C for 1 h in the presence of poly(acrylic acid calcium salt) on their surfaces, and the size distribution (b) of the calcined HAp particles in ethanol medium

Production of nano-sized hydroxyapatite crystals calcined with poly(acrylic acid calcium salt) used as an anti-sintering agent

Masahiro OKADA¹, Tsutomu FURUZONO¹ (¹Department of Biomedical Engineering, National Cardiovascular Center Research Institute, Osaka 565-8565, Japan)

Tel: +81-6-6833-5004 (ext. 2623), Fax: +81-6-6872-7485, E-mail okada04@ri.ncvc.go.jp

Key Word: nano-sized hydroxyapatite particle / composite / covalent bonding / sintering / acrylic acid

Abstract: The calcined hydroxyapatite (HAp) nano-crystals having good dispersibility in media were successfully prepared by the calcination of low crystallized HAp particles at 800°C for 1 h in the presence of poly(acrylic acid calcium salt) (PAA-Ca) coated on the particle surfaces, and subsequent removal of CaO, which was the thermal decomposed product of PAA-Ca. In the case of the calcination without PAA-Ca, large agglomerates consisting of sintered HAp polycrystals were observed after the product was dispersed in ethanol medium. On the other hand, in the case of the calcination with PAA-Ca coated on the particle surfaces, the size of the HAp crystal dispersed in ethanol medium was corresponded to that of the HAp single crystal determined from electron micrographs, which indicates that the sintering among the HAp particles during the calcination could be avoided by preventing the contact among the HAp particles by PAA-Ca coating.

過酸化水素処理によるポリエステル繊維への 焼成アパタイト複合化と細胞接着性の検討

国循セ ○益田美和・安田昌司・岡田正弘・田中良一・宮武邦夫・古蘭 勉

<緒言>

我々はこれまで、硬組織および軟組織親和性に優れるハイドロキシアパタイト(HAp)焼結体を医用高分子であるシルクやシリコン表面に共有結合を介して複合化することで、高分子の機械的特性を保ったまま組織親和性を発現する新規な複合材料を開発してきた。本研究では応用範囲の拡大を目指し、医用材料として広範に利用されているポリエチレンテレフタレート(PET)繊維とナノサイズの HAp 焼結体からなる複合体 (HAp/PET 複合体) の調整を試みた。さらに、作製した HAp/PET 複合体の細胞接着性を検討したので報告する。

<実験>

PET を水酸化ナトリウムで加水分解することで表面に水酸基を導入した後、過酸化水素を開始剤として 85°C、2 時間シランカップリング剤を側鎖に有する γ -メタクリロキシプロピルトリエトキシシラン(MPTS)のグラフト重合を行った。その後、PET 表面にナノ HAp (粒径 50~100nm) を吸着させ、HAp の水酸基と PET 表面に導入したアルコキシシリル基を 80°C、2 時間、真空中で反応させることで、共有結合を介した複合化を行った。

<結果・考察>

PET 表面の poly(MPTS)導入率は、時間が経過する毎に増加し、約 2 時間で 4.15%となり、X 線光電子分光分析法および重量法により、PET 表面に poly(MPTS)が導入されていることを確認した。poly(MPTS)を導入した PET に HAp 焼結体を複合化させた表面の SEM 写真を Fig.1 に示す。HAp 焼結体は PET 表面上に単層で、分散した状態で結合していた。ここで、poly(MPTS)を導入していない PET に物理吸着させた HAp は超音波洗浄にてほぼ脱離し、一方、poly(MPTS)を導入した PET の場合ではまったく脱離しないことから、poly(MPTS)を介して HAp と PET が結合されていることが示唆された。すでに間接的な方法で poly(MPTS)と HAp が共有結合で結合していることは前報で報告している。作製した HAp/PET 複合体を用いて細胞毒性試験を行った結果、複合体には細胞 (線維芽細胞) への毒性がないことが確認された。以上の結果から、医用材料として広範に利用されている PET 表面に HAp を複合化することに成功した。さらに細胞接着性について検討した。

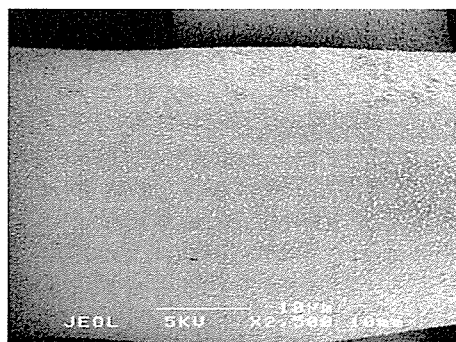


Fig.1 A SEM photograph of the surface of hydroxyapatite/poly(ethyleneterephthalate) composite.

Improvement of cell adhesiveness of poly(ethylene terephthalate) by surface modification with hydroxyapatite nanocrystals through covalent bonding

Miwa MASUDA¹, Shoji YASUDA¹, Masahiro OKADA¹, Ryoichi TANAKA², Kunio MIYATAKE³, and Tsutomu FURUZONO¹ (¹Department of Biomedical Engineering, National Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishirodai, Suita-shi, Osaka 565-8565, Japan ²Department of Radiology, National Cardiovascular Center, 5-7-1 Fujishirodai, Suita-shi, Osaka 565-8565, Japan ³National Cardiovascular Center, 5-7-1 Fujishirodai, Suita-shi, Osaka 565-8565, Japan)

¹Tel: +81-6-6833-5012 ext 2623, Fax: +81-6-6872-7485, E-mail: furuzono@ri.ncvc.go.jp

Key Word: H₂O₂ / poly(ethylene terephthalate) / sintered hydroxyapatite / composite / endothelial cells

Abstract:

In this study, a novel composite for a soft-tissue-compatible material was developed. A surface of poly(ethylene terephthalate) (PET) fabric was modified with nano-sized hydroxyapatite (HAp) crystals through covalent bonding. In order to make covalent bonding between the HAp crystal and the PET surface, poly(γ -methacryloxypropyl triethoxysilane) [poly(MPTS)] was grafted on the PET surface treated by H₂O₂. The surface modification of PET with poly(MPTS) was confirmed by the weight gaining and X-ray photoelectron spectroscopy. The chemical reaction between OH groups on the HAp crystals and ethoxysilyl groups on the PET was conducted at 80°C for 2h in reduced pressure. It was confirmed that HAp/PET composite was not toxic by microscopic observation. The cell adhesion test of HAp/PET composite will be reported on the presentation.

高分子学会予稿集

第54回(2005年)

高分子学会年次大会 5月25日~27日 パンフィコ横浜

54 卷 1 号

プログラム、招待講演・若手招待講演・受賞講演
研究発表者名索引、高分子分析測定機器・書籍展示目録

Polymer Preprints, Japan
Vol. 54, No. 1



高分子学会 THE SOCIETY OF POLYMER SCIENCE, JAPAN

ポリアクリル酸を融着防止助剤として用いた
ナノアパタイト仮焼体の作製

園 循 七 ○ 岡 田 正 弘 ・ 古 蘭 勉

< 緒 言 >

これまで我々は、ナノサイズのハイドロキシアパタイト (HAp) 単結晶体を医用高分子材料表面に共有結合を介して固定化した新規な無機/有機界面複合材料を開発し、その軟組織適合材料としての有用性を報告してきた。ここで、HAp 粒子は仮焼を行い、結晶性を高めた後に用いている。しかし、仮焼時に HAp 一次粒子同士が融着・結合した二次粒子が形成し、媒体中における HAp の分散性および比表面積が低下するという問題があった。

本報告では、HAp 単結晶体 (仮焼体) 間の融着を防止すること目的とし、HAp 粒子表面にポリアクリル酸カルシウム (PAA-Ca) を存在させ、HAp 粒子同士の接触を防いだ状態で仮焼を行った。

< 実 験 >

作製したナノサイズの低結晶性 HAp 粒子表面にポリアクリル酸をアルカリ条件下において吸着させた。その HAp 分散水溶液中に $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 飽和水溶液を添加することで HAp 粒子表面に PAA-Ca を析出させた。得られた HAp/PAA-Ca 混合物を乾燥後、 800°C において 1 時間仮焼を行い、HAp 表面に残存する酸化カルシウムを水で洗浄することで除去した。

< 結 果 ・ 考 察 >

Fig. 1 には、粒子表面に PAA-Ca を存在させ、HAp 粒子間の接触を防いだ状態で仮焼を行った HAp 単結晶体の走査型電子顕微鏡 (SEM) 写真および仮焼後の粒子をエタノールに分散させた状態での粒子径分布を示す。ここで、粒子表面に存在する PAA-Ca は仮焼の際に熱分解し、酸化カルシウムとして残存することを確認しており、仮焼後に水洗することで除去した。SEM 観察から、粒子径が $30\sim 60\text{ nm}$ の球状粒子であった。仮焼後の粒子をエタノールに分散させた状態での粒子径を測定したところ、PAA-Ca を存在させずに仮焼した場合には一次粒子が融着したミクロンサイズの二次粒子凝集体としてエタノール中に分散していた。一方、PAA-Ca を存在させた場合、エタノール分散状態での粒子径は SEM 観察から求めた粒子径と一致しており、一次粒子として分散していることが確認できた。また、X線回折、IR 測定、および元素分析から、本アパタイトはカルシウム欠損アパタイトであった。以上の結果から、PAA-Ca を粒子表面に存在させて仮焼を行うことで粒子間の融着が防止でき、仮焼後に残存する酸化カルシウムを洗浄することで、一次粒子として媒体中に分散可能なナノサイズの HAp 単結晶粒子の作製に成功した。

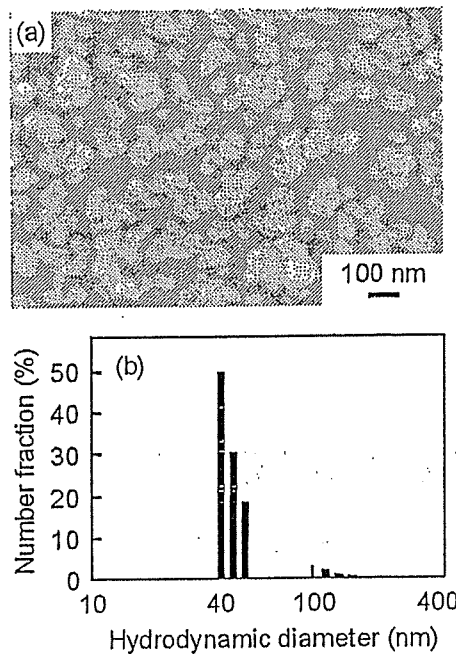


Fig. 1 A SEM photograph (a) of hydroxyapatite particles calcined at 800°C for 1 h in the presence of poly(acrylic acid calcium salt) on their surfaces, and the size distribution (b) of the calcined HAp particles in ethanol medium

Production of nano-sized hydroxyapatite crystals calcined with poly(acrylic acid calcium salt) used as an anti-sintering agent

Masahiro OKADA¹, Tsutomu FURUZONO¹ (¹Department of Biomedical Engineering, National Cardiovascular Center Research Institute, Osaka 565-8565, Japan)

Tel: +81-6-6833-5004 (ext. 2623), Fax: +81-6-6872-7485, E-mail okada04@ri.ncvc.go.jp

Key Word: nano-sized hydroxyapatite particle / composite / covalent bonding / sintering / acrylic acid

Abstract: The calcined hydroxyapatite (HAp) nano-crystals having good dispersibility in media were successfully prepared by the calcination of low crystallized HAp particles at 800°C for 1 h in the presence of poly(acrylic acid calcium salt) (PAA-Ca) coated on the particle surfaces, and subsequent removal of CaO , which was the thermal decomposed product of PAA-Ca. In the case of the calcination without PAA-Ca, large agglomerates consisting of sintered HAp polycrystals were observed after the product was dispersed in ethanol medium. On the other hand, in the case of the calcination with PAA-Ca coated on the particle surfaces, the size of the HAp crystal dispersed in ethanol medium was corresponded to that of the HAp single crystal determined from electron micrographs, which indicates that the sintering among the HAp particles during the calcination could be avoided by preventing the contact among the HAp particles by PAA-Ca coating.

過酸化水素処理によるポリエステル繊維への
焼成アパタイト複合化と細胞接着性の検討

園循七 ○益田美和・安田昌司・岡田正弘・田中良一・宮武邦夫・古蘭 勉

<緒言>

我々はこれまで、硬組織および軟組織親和性に優れるハイドロキシアパタイト(HAp)焼結体を医用高分子であるシルクやシリコン表面に共有結合を介して複合化することで、高分子の機械的特性を保ったまま組織親和性を発現する新規な複合材料を開発してきた。本研究では応用範囲の拡大を目指し、医用材料として広範に利用されているポリエチレンテレフタレート(PET)繊維とナノサイズの HAp 焼結体からなる複合体 (HAp/PET 複合体) の調整を試みた。さらに、作製した HAp/PET 複合体の細胞接着性を検討したので報告する。

<実験>

PET を水酸化ナトリウムで加水分解することで表面に水酸基を導入した後、過酸化水素を開始剤として 85°C、2 時間シランカップリング剤を側鎖に有する γ -メタクリロキシプロピルトリエトキシシラン (MPTS) のグラフト重合を行った。その後、PET 表面にナノ HAp (粒径 50~100nm) を吸着させ、HAp の水酸基と PET 表面に導入したアルコキシシリル基を 80°C、2 時間、真空中で反応させることで、共有結合を介した複合化を行った。

<結果・考察>

PET 表面の poly(MPTS) 導入率は、時間が経過する毎に増加し、約 2 時間で 4.15% となり、X 線光電子分光分析法および重量法により、PET 表面に poly(MPTS) が導入されていることを確認した。poly(MPTS) を導入した PET に HAp 焼結体を複合化させた表面の SEM 写真を Fig.1 に示す。HAp 焼結体は PET 表面上に単層で、分散した状態で結合していた。ここで、poly(MPTS) を導入していない PET に物理吸着させた HAp は超音波洗浄にてほぼ脱離し、一方、poly(MPTS) を導入した PET の場合ではまったく脱離しないことから、poly(MPTS) を介して HAp と PET が結合されていることが示唆された。すでに間接的な方法で poly(MPTS) と HAp が共有結合で結合していることは前報で報告している。作製した HAp/PET 複合体を用いて細胞毒性試験を行った結果、複合体には細胞 (線維芽細胞) への毒性がないことが確認された。以上の結果から、医用材料として広範に利用されている PET 表面に HAp を複合化することに成功した。さらに細胞接着性について検討した。

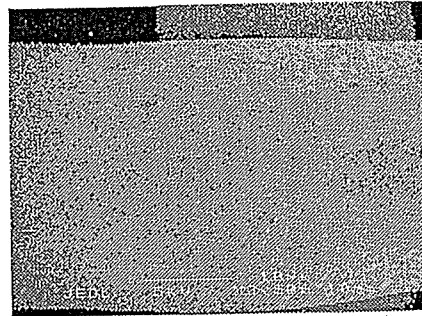


Fig.1 A SEM photograph of the surface of hydroxyapatite/poly(ethyleneterephthalate) composite.

Improvement of cell adhesiveness of poly(ethylene terephthalate) by surface modification with hydroxyapatite nanocrystals through covalent bonding

Miwa MASUDA¹, Shoji YASUDA¹, Masahiro OKADA¹, Ryoichi TANAKA², Kunio MIYATAKE³, and Tsutomu FURUZONO¹ (¹Department of Biomedical Engineering, National Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishirodai, Suita-shi, Osaka 565-8565, Japan ²Department of Radiology, National Cardiovascular Center, 5-7-1 Fujishirodai, Suita-shi, Osaka 565-8565, Japan ³National Cardiovascular Center, 5-7-1 Fujishirodai, Suita-shi, Osaka 565-8565, Japan)

¹Tel: +81-6-6833-5012 ext 2623, Fax: +81-6-6872-7485, E-mail: furuzono@ri.nccvc.go.jp

Key Word: H₂O₂ / poly(ethylene terephthalate) / sintered hydroxyapatite / composite / endothelial cells

Abstract:

In this study, a novel composite for a soft-tissue-compatible material was developed. A surface of poly(ethylene terephthalate) (PET) fabric was modified with nano-sized hydroxyapatite (HAp) crystals through covalent bonding. In order to make covalent bonding between the HAp crystal and the PET surface, poly(γ -methacryloxypropyl triethoxysilane) [poly(MPTS)] was grafted on the PET surface treated by H₂O₂. The surface modification of PET with poly(MPTS) was confirmed by the weight gaining and X-ray photoelectron spectroscopy. The chemical reaction between OH groups on the HAp crystals and ethoxysilyl groups on the PET was conducted at 80°C for 2h in reduced pressure. It was confirmed that HAp/PET composite was not toxic by microscopic observation. The cell adhesion test of HAp/PET composite will be reported on the presentation.

International Symposium on Soft-Nanotechnology 2005 (ISSN2005)

Date

June 20 and 21, 2005

Venue

Conference Hall, Hokkaido University

Chairpersons

Yoshihito Osada (Hokkaido University)
Teruo Kishi (NIMS)

Secretary General

Masatsugu Shimomura (Hokkaido University)
Junzo Tanaka (NIMS/ Hokkaido University)

Host Organizations

Hokkaido University
National Institute for Materials Science (NIMS)

Co-Organizations

Encouraging Development of Strategic Research Centers,
Special Coordination Funds for Promoting Science and Technology

Hokkaido University 21st Century COE Program
"Center of Excellence for Advanced Life Science on the Base of Bioscience and Nanotechnology"

Nanotechnology Researchers Network Center of Japan,
Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology

Support

The Biophysical Society of Japan; Bioimaging Society; The Ceramic Society of Japan
The Chemical Society of Japan; The Japan Institute of Metals; Japanese Society for Biomaterials
The Japanese Society of Microscopy; Hokkaido Branch of The Society of Polymer Science, Japan
The Society of Polymer Science, Japan

CALCINED HYDROXYAPATITE NANOCRYSTALS DISPERSIBLE IN LIQUID MEDIA AS SINGLE CRYSTALS

Masahiro OKADA and Tsutomu FURUZONO

Department of Biomedical Engineering, National Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan

E-mail: okada04@ri.ncvc.go.jp.

Introduction: Hydroxyapatite (HAp) is a major inorganic component of bone and teeth. Artificially synthesized HAp has been extensively used in a variety of applications, such as biomaterials, adsorbents, and catalysts, by exploiting its biocompatibility and adsorbability of many compounds. When low-crystallinity HAp nanoparticles are calcined to increase thermal and chemical stability, the particles typically sinter into large agglomerates. Thus, calcined HAp crystals dispersed in liquid media on a nanoscale have been difficult to obtain. Here we report the preparation of such HAp nanocrystals by calcination with an anti-sintering agent interposed among the particles and the subsequent removal of the agent. Thus, there was no contact between the particles during calcination.

Materials & Method: In order to intersperse $\text{Ca}(\text{OH})_2$ used as an anti-sintering agent, low-crystallinity HAp aqueous dispersion was added into a saturated aqueous $\text{Ca}(\text{OH})_2$ solution and the mixture was dried. The resultant HAp/ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (1/1, w/w) mixture was calcined at 800°C for 1 h in air (heating rate; $10^\circ\text{C}/\text{min}$). After calcination, the mixture was centrifugally washed with water to remove $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Results and Discussion: $\text{Ca}(\text{OH})_2$ was selected as an anti-sintering agent because it would not melt at the calcination temperature (800°C), presumably not dissolve the HAp, and could be removed by washing with water after calcination. After the calcination with $\text{Ca}(\text{OH})_2$ interposed among the particles, the size of the HAp particles dispersed in an ethanol medium was corresponded to that of HAp single crystal measured from electron microscopic observation. This indicate that the HAp particles calcined with $\text{Ca}(\text{OH})_2$ could be dispersed in liquid medium as single crystals. The HAp nanocrystals obtained here should be suitable for the above applications owing to their high dispersibility in liquid media, high specific surface area, and high thermal and chemical stability.

Acknowledgement: This work was supported by a grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

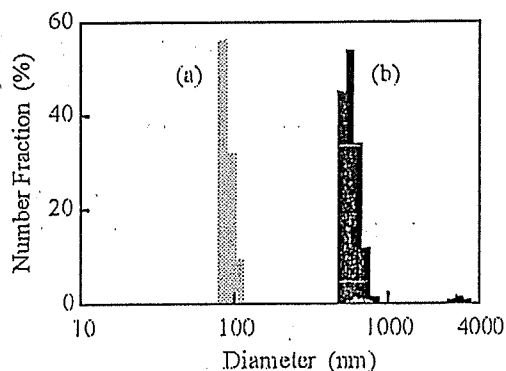
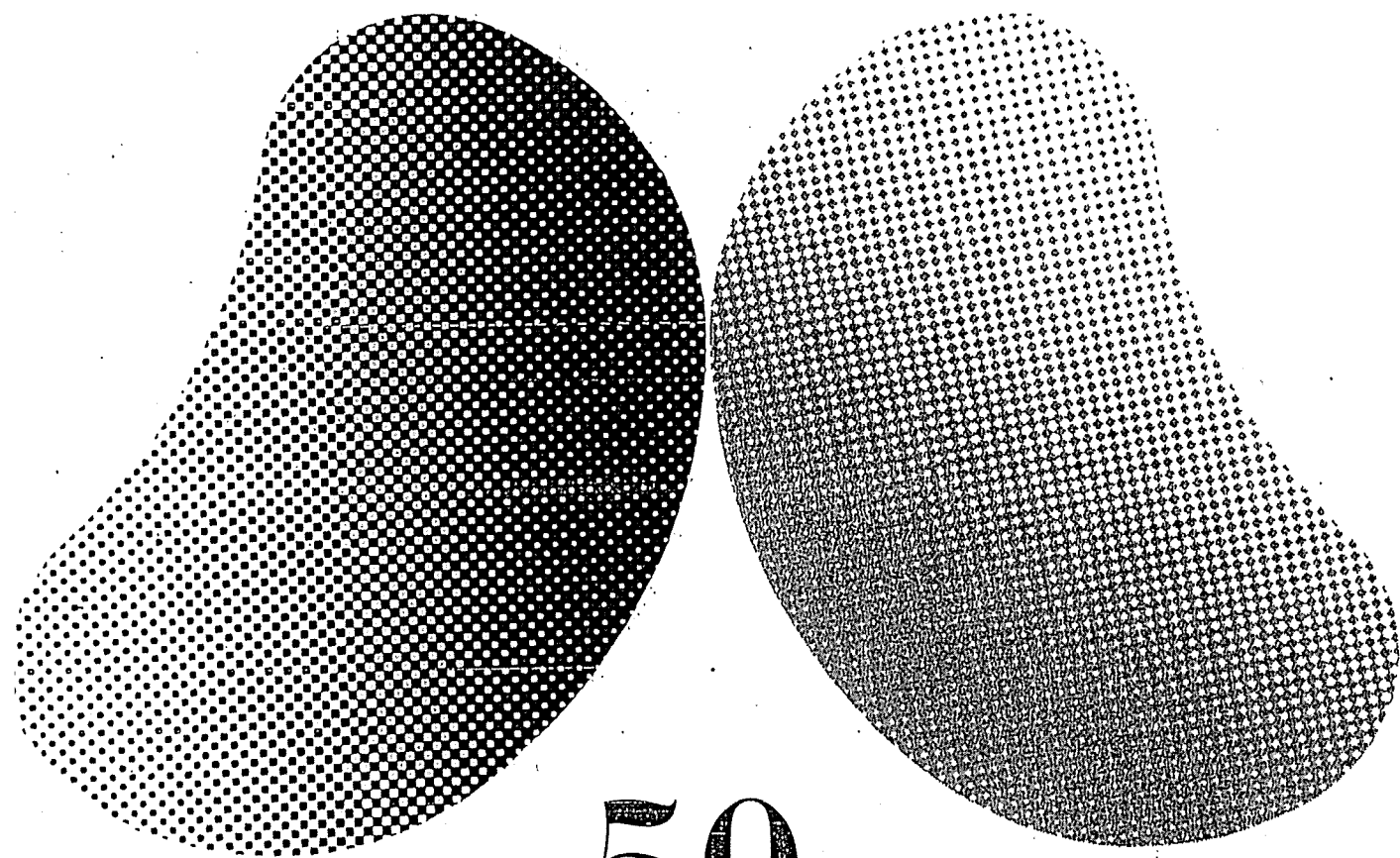


Fig. 1 Size distributions of HAp particles calcinated at 800°C for 1 h with (a) and without $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (HAp/ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ = 1/1 w/w) interposed among the HAp particles. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ was centrifugally washed with water after the calcination. The size distribution was measure in ethanol

Journal of Japanese Society for Dialysis Therapy
日本透析医学会雑誌

38 2005・JUNE
Supplement・1



第 50 回

(社)日本透析医学会学術集会・総会特別号
The 50th Congress of Japanese Society for Dialysis Therapy.

透 析 会 誌

J. Jpn. Soc. Dial. Ther.

2005年6月



日本透析医学会

[D-WS-1-1]

遺伝子治療の腎疾患治療への応用

大阪大学医学部附属病院

○今井圓裕 (いまい えんゆう), 高島義嗣, 猪阪善隆

【目的】遺伝子治療は臨床試験に関する指針が改正され、対象疾患も拡大している。現在、いくつかの臨床試験が行われており、有効性、安全性が確認されつつある。遺伝子治療の技術的な課題は、ターゲットとなる標的細胞あるいは臓器への選択的な遺伝子導入と遺伝子発現の強度と期間の制御である。基礎的な検討では糸球体細胞や腎間質細胞への遺伝子導入法が開発され、腎臓への遺伝子導入効率は改善し、遺伝子治療のツールもRNA interferenceなど多様になってきている。臨床応用として腎臓に関する遺伝子治療は末期病に限られるが臨床応用がなされている。実験腎炎や腎線維化に対する遺伝子治療は、モデル動物を用いて実験が行われ、良い成績がでてきている。今後、単一遺伝子の異常に対する先天性腎疾患で腎不全をきたすAlport症候群や多発性嚢胞腎に対する遺伝子治療の開発が期待されている。一方、慢性進行性の糸球体腎炎や尿管間質障害に対する遺伝子治療は実験動物での有効性が報告されているが、長期間の治療となるため人に対する安全性と有効性に対する確認が必要である。移植腎は体外で遺伝子を導入できるメリットを持つユニークな治療対象である。われわれはブタを使った前臨床試験を行い、肝細胞増殖因子(HGF)遺伝子による遺伝子治療が腎線維化を抑制することを示した。これらを含めて腎疾患に関する遺伝子治療に対して概説する。

[D-WS-1-2]

透析患者の重症下肢虚血に対する自家骨髄単核細胞移植の可能性

大阪市立大学大学院医学研究科

○福本真也 (ふくもと しんや), 小山英則, 前野孝明, 西沢良記

【目的】近年、自家骨髄細胞移植を用いた血管新生療法が重症心筋虚血や重症下肢虚血に対して臨床応用されるようになりその高い治療効果に多くの期待が寄せられている。しかしその臨床報告はまだ少なく、治療効果に対する影響因子についての検討も遅れている。今回我々は透析患者2例を含む末梢動脈疾患6例に対して自家骨髄細胞移植を施行し、その有効性を検討した。

【方法】対象はすべてFontaine IV度の末梢動脈疾患の患者で、経皮的血管拡張術(PTA)や血行再建手術の適応なく、保存的治療にて増悪傾向を示した患者である。骨髄細胞は、全身麻酔下にて体重1kgあたり15mlの骨髄液を両側の腸骨稜より採取し、血液成分分離装置を用いて骨髄単核球を濃縮分離(最終30-50ml)することで得た。移植は、得られた骨髄単核球すべてを0.3-0.5 mlづつ23G針を用いて虚血下肢筋肉内に注入して行った。

【結果】自家骨髄単核細胞移植を行った6例中、5例は著効を示したが1例のみ無効であった。スコア化した治療効果は糖尿病や透析に関係なく、移植細胞数と有意な相関を示した($r = 0.850, p = 0.032$)。治療が無効であった症例は透析患者であったが、移植細胞数が極端に少なく、このために治療が無効であったと考えられた。また、骨髄採取に先だって施行した試験的骨髄穿刺によって得られた骨髄単核細胞中のCD34陽性率は実際の治療で採取された体重1kgあたりの骨髄細胞数と強い相関($r = 0.854, p = 0.031$)を認めた。

【まとめ】糖尿病や慢性腎不全では近年の基礎的研究から血管新生が抑制されることが予測されるが、今回の検討では十分な移植細胞数が得られればそれらの疾患においても本治療は有効であると考えられた。また、試験的骨髄穿刺による細胞解析(CD34陽性率)は採取される骨髄細胞数を予測しうることが示された。

[D-WS-1-3]

ナノテクノロジーによる細菌感染防止デバイスの開発

国立循環器病センター研究所

○古菌・勉 (ふるぞの つとむ)

【目的】ハイドロキシアパタイト(HAp)は、骨や歯のような硬組織ではなく、軟組織に対しても高い親和性があることが知られており、その特性を用いて体外から体内へと貫通する経皮デバイスの細菌感染防止として応用されたが、セラミックスが有する硬い脆いという性質が臨床で有効ではなかった。これらの経緯から、真に長期に生体と外部からの細菌感染を防止する経皮デバイスが強く望まれていた。本研究では基材となる高分子の機械的特性を保持したまま、HApセラミックスの生体活性を発現する新しい材料・デバイスの開発を目指した。

【方法、結果及び考察】(1) ナノテクノロジーによる無機・有機複合材料：新規な無機・有機複合材料を創出するために、次の二つの基盤を開発した；基盤技術一：ナノスケールHAp単結晶体の粒径制御技術、基盤技術二：界面共有結合導入による無機・有機複合材料のマイクロエマルジョン法を独自に改良することによって、結晶体の粒径および形態制御が可能であることを見いだした。用いたHApナノ粒子は長径100~200nmで板状~ロッド状構造中にカーボネートを含むことから高い生体活性を有すると考えられた。アルコキシシリル基を末端に有するモノマーを高分子(ポリアクリル酸)上にグラフト重合し、そのグラフト鎖を足場としてHApナノ粒子を固定化した。このナノHAp粒子と繊維上にグラフトされた官能基を介して共有結合させ二元複合体を創出した。得られた複合材料の機械的特性は未処理繊維とほぼ同一でありながら、その表面はセラミックスの特性を示した。

(2) 経皮デバイスへの加工：調製したHAp化繊維を繊維長約100mmに切断し、シリコンラバーで成型加工したボタン状基板に複合繊維を接着剤を用いて三次元的にコートして、ボタン状構造体を製造した。構造体の中心部に空けた孔を通してカテーテル本体を挿入する。さらに、経皮デバイス試作品を製造した。経皮ボタンの大きさ、角度等は、動物実験を繰り返すことにより最適化した。現在進行中の動物インプラント試験では半年以上の有効な生体接着性が得られた。

[D-WS-1-4]

ハイブリッド型人工腎臓を用いた薬物の除去

自治医科大学

○鶴岡秀一 (つるおか しゅういち), 山本尚史, 草野英二, 藤田

【背景】腎臓には糸球体濾過、尿管分泌、ホルモン産生など多岐にわたる機能がある。しかし、現行の血液透析法は濾過・透析による小分子の除去のみが可能であり、腎臓の全ての機能を代行できているわけではない。一方、尿管分泌機構の解明が進み、様々な溶質をより大きな培養尿管細胞を作成できるようになった。我々はこの培養尿管細胞を用いたハイブリッド型人工腎臓の作成を目指して検討を行った。ここに紹介する。

【方法、結果】近位尿管における薬物輸送体の一つである多量糖鎖糖蛋白(MDR)-1遺伝子を培養尿管細胞(PCTL)に導入した。このPCTL-MDRにおけるMDR-1蛋白発現量および基質薬物(ジゴキシン, ドキソルピシン)分泌能は、PCTLの約10倍であった。この培養尿管細胞を用いたハイブリッド型人工腎臓(H)上にコンフルエントなまで培養したのちジゴキシン, ドキソルピシンのin vitro除去能を検討したところ、PCTLを用いた場合に比較して約8倍の除去能を示した。同時に添加したイヌリンは除去されず、その分泌には影響がみられた。また、このモジュールを10個並列接続することによりジゴキシン中毒イヌを治療可能であった。更に臨床血液透析用ポリアクリル酸製透析器(0.8m²)1個を用いてハイブリッド型人工腎臓を用いても同様の選択的な治療が可能であった。

【結論】遺伝子改変した培養尿管細胞と臨床血液透析用Hを用いたハイブリッド型人工腎臓を作成し、動物モデルを用いて薬物の除去能を明らかにした。今後は異なる遺伝子を用いて様々な薬物除去能を持った細胞を作成することで、より生体に近い尿管細胞をもったハイブリッド型人工腎臓を作成できると考えられる。これにより、現行の血液透析では除去されにくい尿毒症物質の一つであるドキシソルピシンを除去可能なシステムを作成しつつあるので、さらなる改良により、より生体の腎臓に近い機能を付与することが可能となる。

The 8th SPSJ international Polymer Conference (IPC 2005)

– Emerging Horizons in Polymer Science and Technology –

Fukuoka, Japan

July 26 ~ 29, 2005

PROGRAM



The Society of Polymer Science, Japan

Calcination of hydroxyapatite nanoparticles with poly(acrylic acid, calcium salt)
as an anti-sintering agent surrounding the particles

M. Okada, T. Furuzono

Department of Biomedical Engineering, National Cardiovascular Center Research Institute
5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan

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

Hydroxyapatite (HAp) has been extensively used in a variety of applications, such as biomaterials, ion exchangers, adsorbents, and catalysts. When low-crystallinity HAp nanoparticles are calcined to increase thermal and chemical stability, the particles typically sinter into large agglomerates. Thus, calcined HAp crystals dispersed in liquid media on a nanoscale have been difficult to obtain. In this study, in order to fabricate such crystals, particles were calcined with an anti-sintering agent interspersed between the particles and the subsequent removal of the agent. As an anti-sintering agent, poly(acrylic acid) calcium salt (PAA-Ca) was used. After adsorption of poly(acrylic acid) (PAA) onto HAp nanoparticles, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ aqueous solution was added into the PAA-stabilized HAp suspension to precipitate PAA-Ca on particle surfaces. After calcination at 800°C for 1 h, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, which was thermally decomposed product of PAA-Ca, was removed by washing with water. It was confirmed that heat treatment with PAA-Ca at 800°C for 1 h did not influence on the crystal phase of HAp. From electron microscope observations (Fig. 1) and size distribution measured in ethanol medium (Fig. 2), HAp crystals calcined without an anti-sintering agent (Figs. 1b and 2b) were sintered polycrystals. On the other hand, the HAp crystals calcined with PAA-Ca could be dispersed as single crystals in ethanol (Figs. 1a and 2a). The HAp nanocrystals obtained here should be suitable for the above applications owing to their high dispersibility, high specific surface area, and high thermal and chemical stability.

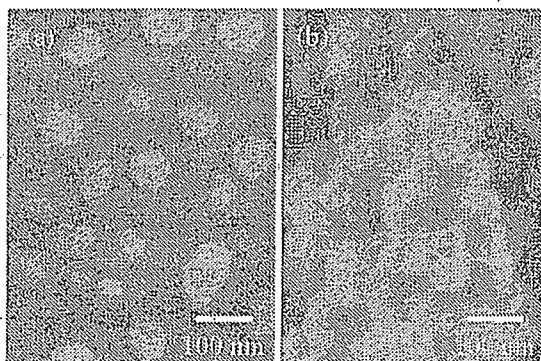


Fig. 1 SEM photographs of HAp crystals calcined at 800°C for 1 h with (a) and without (b) an anti-sintering agent

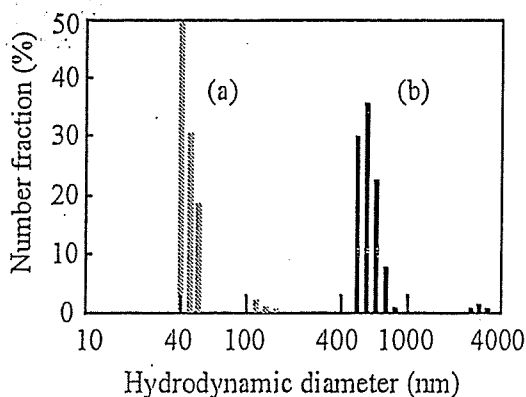


Fig. 2 Size distributions of HAp crystals calcined with (a) and without (b) an anti-sintering agent, measured in ethanol

Improvement of cell adhesiveness of poly(ethylene terephthalate) by surface modification with hydroxyapatite nanocrystals through covalent bonding

M. Masuda, S. Yasuda, M. Okada, R. Tanaka, K. Miyatake, and T. Furuzono

Department of Biomedical Engineering, National Cardiovascular Center Research Institute

5-7-1 Fujishirodai Suita, Osaka 565-8565, Japan

Phone: 06-6833-5012 Fax: 06-6872-7485 E-mail: furuzono@ri.ncvc.go.jp

Recently, we fabricated a novel composite of a silk or a silicone as a polymer substrate and nano-sized hydroxyapatite (HAp) crystals through covalent linkage.¹⁾ The novel composite maintained the mechanical properties of the substrate and showed good tissue adhesion due to HAp's bioactivity. In this study, poly(ethylene terephthalate) (PET), which has been widely used as medical polymers, was applied for nano-HAp coating because of showing high mechanical properties and good-handling.

Before making covalent bonding between PET fabric and HAp crystals, poly(γ -methacryloxypropyl triethoxysilane) (MPTS) was grafted on the PET surface treated after alkali and H₂O₂ treatments. The weight gain of the PET fabric increased with an increase in the polymerization time and confirmed presence of Si-atom on the surface of the PET measured by X-ray photoelectron spectroscopy. Figure 1 shows a scanning electron microscopic (SEM) photograph of the surface of a HAp-coated PET (HAp/PET) fiber. HAp particles were uniformly coated on the PET surface. In the cell adhesion test, the HAp/PET composite improved cell adhesiveness compared to the original PET. The cell adhesiveness on the HAp/PET composite was same as collagen-coated PET. Our novel coating technique of PET with nano-scaled HAp gives the surface of PET bioactivity. It was mentioned that nano-HAp coating PET is very useful for an implant material without using adhesion molecules as collagen, etc.²⁾

References

- 1) T. Furuzono, *et al.*, *J. Artif. Organs*, 7, 137-144 (2004)
- 2) M. Masuda, *et al.*, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, in contribution

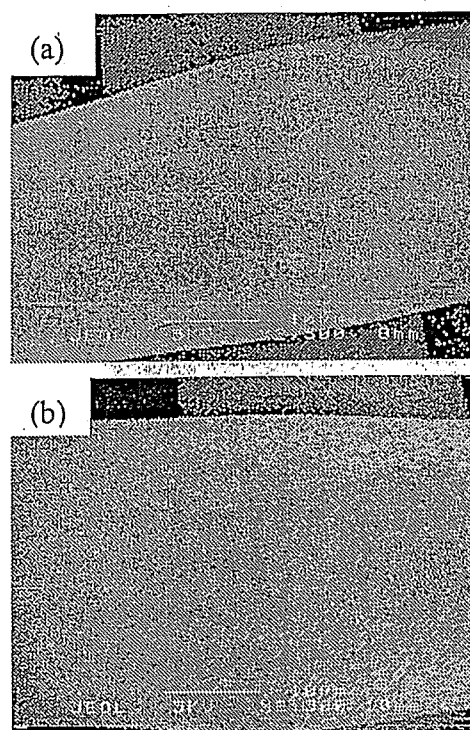


Fig. 1 SEM photographs of (a) original poly(ethylene terephthalate) (PET) and (b) poly(γ -methacryloxypropyl triethoxysilane)-grafted PET after hydroxyapatite coating