

図 17.3.1 異なる反応温度にて調製された HAp ナノ粒子の TEM 像
溶液中の反応温度が高くなるに従って、粒子の長径が大きくなっている。

ている。さらに HAp ナノ粒子の典型的な X 線回折パターンから HAp 以外の三リン酸カルシウムのようなリン酸カルシウムの混入は認められず、この試料は単一なカーボネート含有 HAp であることがわかっている。図 17.3.1 に異なる反応温度にて調製された HAp 微粒子の透過型電子顕微鏡 (TEM) 像を示す。25 °C で得られた HAp 微粒子の形態は球状～不定形を呈している。反応溶液の温度が高くなるに従い、角が丸くなったロッド状の形態を呈し始める。反応温度 25 °C における HAp ナノ粒子の短径 (a 軸方向の長さ) / 長径 (c 軸方向の長さ) はそれぞれ 43 ± 10 nm および 64 ± 20 nm であり、アスペクト比は 1.5 である。この粒径は反応温度が高くなるに従い大きくなっている。反応温度 50 °C における HAp ナノ粒子の短径 / 長径はそれぞれ 78 ± 16 nm および 154 ± 48 nm でありアスペクト比は 1.98 で、反応温度が増加するに従い増えている。密封反応系にて 95 °C まで反応温度を上昇させることにより、短径 87 ± 23 nm および長径 236 ± 81 nm であるナノ粒子 (アスペクト比 = 2.72) が得られている。HAp ナノ粒子 1 個の TEM 像とその電子線回折像から、得られた HAp ナノ粒子は単結晶であり、その長軸は HAp 格子の c 軸に沿って伸張している。また電子線回折パターンより、TEM 像における HAp の広い面がユニットセルの a 面、そして狭い面が c 面に帰属される。ここで HAp の a 面がカルシウムイオンリッチであり、また c 面がリン酸イオンリッチな面とされている¹⁰⁾。このことはロッド状 HAp の結晶成長制御により面による粒子 1 個における電荷の制御が可能であることを示している。

さらに最近、我々は分散媒 (エタノール) に一次粒子で分散する HAp ナノ粒子の合成にも成功している⁹⁾。

一般に湿式法にて調製した HAp 微粒子を焼成すると粒子表面の熱溶解のため凝集し二次粒子を形成する。前述したエマルジョン法による HAp 粒子合成・洗浄後 (焼成前) に融着防止剤 (ポリアクリル酸およびカルシウム塩) を添加することにより、各粒子間にポリマー・カルシウム複合体による境界層を形成させる。境界層を形成させたアモルファス HAp ナノ粒子を沈殿法により回収し、800 °C にて焼成後、境界層成分 (CaO) を水にて洗浄することにより HAp 一次粒子 (焼成体、単結晶) を精製する。得られた HAp ナノ粒子は分散媒 (エタノール) に対して高い分散性を呈し、また当該新技術は分散性ロッド状 HAp ナノ粒子の調製にも応用可能である。これらの分散性ナノ粒子を用いた複合化についても、現在検討を重ねている。

3.3 高分子表面修飾

HAp 焼結体表面に存在する水酸基と共有結合で結合する反応性基としてアルコキシシリル基およびイソシアネート基が知られている。我々は高分子基材にアルコキシシリル基およびイソシアネート基を末端に有するモノマーをグラフト重合し、そのグラフト鎖を足場に HAp ナノ粒子を固定化している。我々は高分子基材としてシルク^{6,7)} もしくはポリエステル繊維¹¹⁾ を用いている。ここではシルク繊維への表面修飾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布、ラジカル開始剤として 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 ($C_{12}E_6$) と γ -methacryloxypropyl trimethoxysilane (MPTS) モノマーを混合した溶液を添加する。脱気・封緘後、所定時間および温度にてグラフト重合させる。反応物は直ちに脱水エタノールに

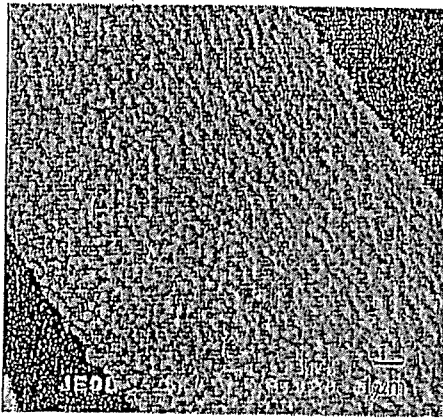


図 17.3.2 HAp・シルク繊維複合体表面のSEM像
焼結した HAp ナノ粒子がシルク表面にグラフト重合した側鎖にアルコキシシリル基を有するポリマーと共有結合で結合している。

て十分に洗浄しグラフトに関与しないホモポリマーを除く。

3.4 HAp ナノ粒子による高分子コーティング

アルコキシシリル基を有するポリマーにて修飾したシルク繊維への HAp ナノ粒子との複合化反応は、HAp 分散溶液にシルク繊維を浸漬・吸着させた後に、真空中 100 °C 以上の比較的高温にてカップリング反応させている。最終的に水中に浸漬した無機・有機複合化繊維に直接、比較的高出力 (20 kHz, 35 W) にて3分間超音波プローブをあてることにより、比較的弱く結合した HAp 粒子もしくは粒子集合体を除去している。図 17.3.2 に HAp ナノ粒子により表面被覆されたシルク繊維 (polyMPTS-g-SF) の走査型電子顕微鏡 (SEM) 像を示す。HAp ナノ粒子は基材表面に一次粒子から数個の粒子が凝集した状態で結合している。これは HAp ナノ粒子が単結晶であり一粒子内に陰性および陽性の面を有しているため凝集しやすい性質のためである。また、HAp ナノ粒子による SF 繊維の重量増加は熱重量分析により 10.7 wt % であった。さらに、分散性ナノ粒子を用いることによって表面被覆制御がより一層向上するものと期待している。

3.5 HAp 複合体の生物学的特性

複合体の生物学的特性は線維芽細胞を用いた培養試験およびラット皮下への経皮的埋植試験により調べている。1 × 10⁵ 個のマウス線維芽細胞 (L929 細胞) を 24 ウェルマルチプレートに静置した HAp 複合シルク繊維上に播種し、24 時間培養した。培養後の未処理 SF 繊維との違いを SEM 観察により明らかにしてい

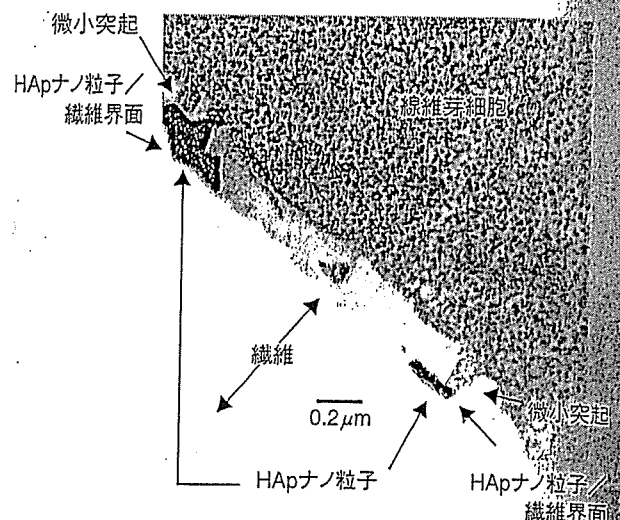


図 17.3.3 線維芽細胞が接着した HAp・シルク繊維複合体の界面像 (TEM 像、24 時間培養)

黒く染色された箇所が線維芽細胞で、白く抜けた箇所がシルク繊維の断面である。細胞/シルク繊維界面に焼結した HAp ナノ粒子が存在し、線維芽細胞から微小突起が選択的に延びている。

る。シルク繊維上では接着性細胞の接着・増殖が生じにくいことが知られている。この現象は、繊維表面の濡れ性もしくは結晶性および非結晶性成分の相分離による影響と推察しているが、現在のところ十分な検討がなされていないのが現状である。HAp 複合化シルク繊維上では十分な細胞接着性が認められている。さらに、マイクロームによる切断面を透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察すると培養初期に細胞から微小突起が HAp ナノ粒子に選択的に延伸していることがわかる (図 17.3.3)。我々の系では HAp 単結晶のカルシウムイオンがリッチである 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容易に推察される。さらに接着性蛋白質との相互作用の観点からみると、一般的に HAp の特性として、塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF) がカーボネート含有 HAp に強く吸着しやすいこと¹²⁾、および線維芽細胞から放出される細胞接着性蛋白質であるフィブロネクチン、ビトロネクチン、ラミニンおよびコラーゲンが吸着しやすいこと¹³⁾が知られている。ただしこれらの場合、二次粒子からなる HAp 焼結体との相互作用から検討されているため、HAp 結晶表面が接着性蛋白質の吸着にどのように相互作用しているのか明確ではない。我々の独自技術で c 軸方向への粒径および面を制御した HAp 単結晶体を基材上に並べた界面を構築することにより、接着性蛋白質の吸着挙動やコンフォメーションをさらに詳細に明らかにできると考えている。

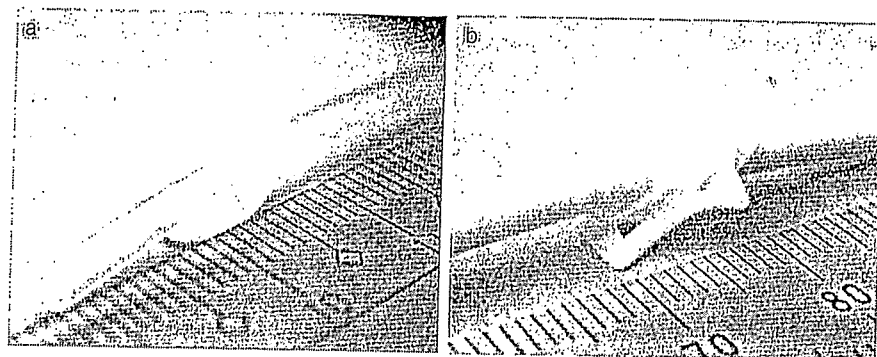


図 17.3.4 経皮デバイスの外観

a : N1 型 b : N3 型

長さ 100 μm の繊維に HAp ナノ粒子をコートし、あらかじめボタン状に成形加工したシリコンゴム製のボタンに複合繊維を植毛してある。硬い・脆いといったセラミックの欠点を改善し、柔らかさ・しなやかさのあるセラミックデバイスができています。現在、デバイスの形態は動物実験を繰り返しながら最適化を図っている。上記の写真はその 2 タイプを示した。

3.6 医療デバイス加工と経皮的動物埋植実験による評価

実際に経皮デバイスとして用いる場合に、機能を最大限に発現させるため形状の設計を行っている。まずシルク繊維を約 100 μm の長さに裁断し、その繊維状に HAp ナノ粒子をコーティングする。HAp コーティング繊維を予め中心静脈カテーテル用に設計したシリコンゴム製ボタンの表面に植毛することにより、セラミック経皮ボタンが製造される (図 17.3.4)。製造された経皮ボタンは白色状でセラミックスでありながらしなやかさを有している。ボタンの形状は動物実験による試行錯誤により最適形状を導出するため検討を重ねている。また、経皮ボタンを装着したカテーテルをウサギ背部に経皮的にインプラントして皮膚界面の密着性、炎症の有無を観察している。インプラント 10 ヶ月において、皮膚組織は隙間なくボタンに密着し、膿瘍および外観から大きな炎症および腫瘍等は認められていない (図 17.3.5)。

3.7 まとめ

焼成したナノスケールの HAp 単結晶を高分子界面に化学結合で結合させた無機・有機複合材料を創出した。HAp ナノ粒子はその合成過程において反応溶液中の温度を変えることにより粒径および面制御が可能であった。また、種々の表面グラフト法を用いて無機粒子を高分子基材表面に化学結合により結合させることにより、高分子基材の柔軟性と HAp のセラミックスとしての特徴を兼ね備えた材料の創出が可能となった。

現在、医療機器製造ガイドラインに添った試験を計画し、長期留置型中心静脈カテーテルへのトランスレ

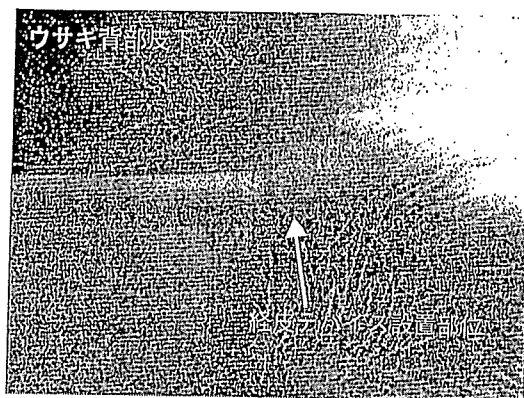


図 17.3.5 10 ヶ月間埋植した経皮デバイス (N1 型) 付きカテーテル出口部の外観 (ウサギ背部) (口絵 54 参照)

皮下トンネル作成術により埋植したカテーテルを引っ張った状態で撮影した。HAp 複合経皮デバイスは皮下直下に存在する。皮膚組織はデバイスとしっかりと密着し、炎症および膿瘍等は認められない。

ーショナルリサーチを目指した研究を進めている。最後にこの一連の研究をまとめるに当たり私感を述べる。これまで数多くの方法論により皮膚貫通部の密着性により細菌侵入を防ぐデバイスが開発されてきた。ここに至って痛感することは経皮部からの細菌感染を正確に実証する評価法が確立していないということである。おそらく多くの感染防止デバイス開発に携わってきたエンジニアが最終的に成功に至らなかった背景には、「細菌感染防止に関する *in vivo* 効能評価法がないこと」が大きな壁として行く手を遮っていたからであろう。言い換えれば、臨床家を納得させ得る臨床とリンクした感染の有無を定量的に推し量る *in vivo* 評価法 (動物実験) が無いということである。我々は、現在、医師、細菌感染学者およびエンジニアがいっしょになって (医工連携)、「血管アクセス研究会」を設

立し、当該評価法の確立を目指して検討を進めている。

【謝辞】 これらの一連の研究は科学技術振興機構研究成果活用プラザ大阪および厚生労働科学研究費の助成により実施されている。また当該研究を実施するにあたりご協力いただいた物質・材料研究機構生体材料研究センター・田中順三センター長、東京医科歯科大学生体材料工学研究所・岸田晶夫教授、研究成果活用プラザ大阪・安田昌司研究員、および国立循環器病センター研究所・岡田正弘流動研究員に深く感謝いたします。なお、本文中で紹介した「血管アクセス研究会（事務局：物質・材料研究機構生体材料研究センター内）」は2004年12月に（社）日本透析医学会（斎藤明理事長）新科学技術開発・活用小委員会（下条文武委員長）の後援のもとで設立され、医工連携で新しい急性期、中・長期留置型カテーテルの開発および評価法の開発を進めており、我が国の新しい医工連携のあり方を模索している。

文献

- 1) 青木秀希：アパタイト。医歯薬出版株式会社、東京、1999
- 2) Wang M, et al: Hydroxyapatite-polyethylene composites for bone substitution: effects of ceramic particle size and morphology. *Biomaterials* 19: 2357-2366, 1998
- 3) Kikuchi M, et al: Self-organization mechanism in a bone-like hydroxyapatite/collagen nanocomposite synthesized invitro and its biological reaction in vivo. *Biomaterials* 22: 1705-1711, 2001
- 4) Tanahashi M, et al: Apatite coating on organic polymer by biomimetic process. *J Am Ceram Soc* 77: 2805-2808, 1994
- 5) Taguchi T, et al: Hydroxyapatite formation on/in poly (vinyl alcohol) hydrogel matrices using a novel alternated soaking process. *Chem Lett*: 711-712, 1998
- 6) Furuzono T, et al: Nano-scaled hydroxyapatite/polymer composite I. Coating of sintered hydroxyapatite particles on poly (gamma-methacryloxypropyl trimethoxysilane) grafted silk fibroin fibers through chemical bonding. *J Mater Sci Mater Med* 15: 19-23, 2004
- 7) Furuzono T, et al: Nano-scaled hydroxyapatite/composite IV. Fabrication and cell adhesion properties of a three-dimensional scaffold made of composite material with a silk fibroin substrate to develop a percutaneous device. *J Artif Organs* 7: 137-144, 2004
- 8) Sonoda K, et al: Influence of emulsion on crystal growth of hydroxyapatite. *Solid State Ionics* 151: 321-327, 2002
- 9) Okada M, et al: Fabrication of high-dispersibility nanocrystals of calcinated hydroxyapatite. *Nanotechnology (in contribution)*
- 10) Kawasaki K: Hydroxyapatite as a liquid chromatographic packing. *J Chromatogr* 544: 147-184, 1991
- 11) Furuzono T, et al: Increase of cell adhesiveness on poly(ethylene terephthalate) fabric by coating of sintered hydroxyapatite nanocrystals for development of an artificial blood vessel. *ASAIO Journal (in contribution)*
- 12) Midy V, et al: Basic fibroblast growth factor adsorption and release properties of calcium phosphate. *J Biomed Mater Res* 56: 9-16, 2001
- 13) Amino S, et al: Cell attachment and spreading factors of human periodontal ligament fibroblasts. *Bull. Lanagawa Dent Col* 27: 179-192, 1992

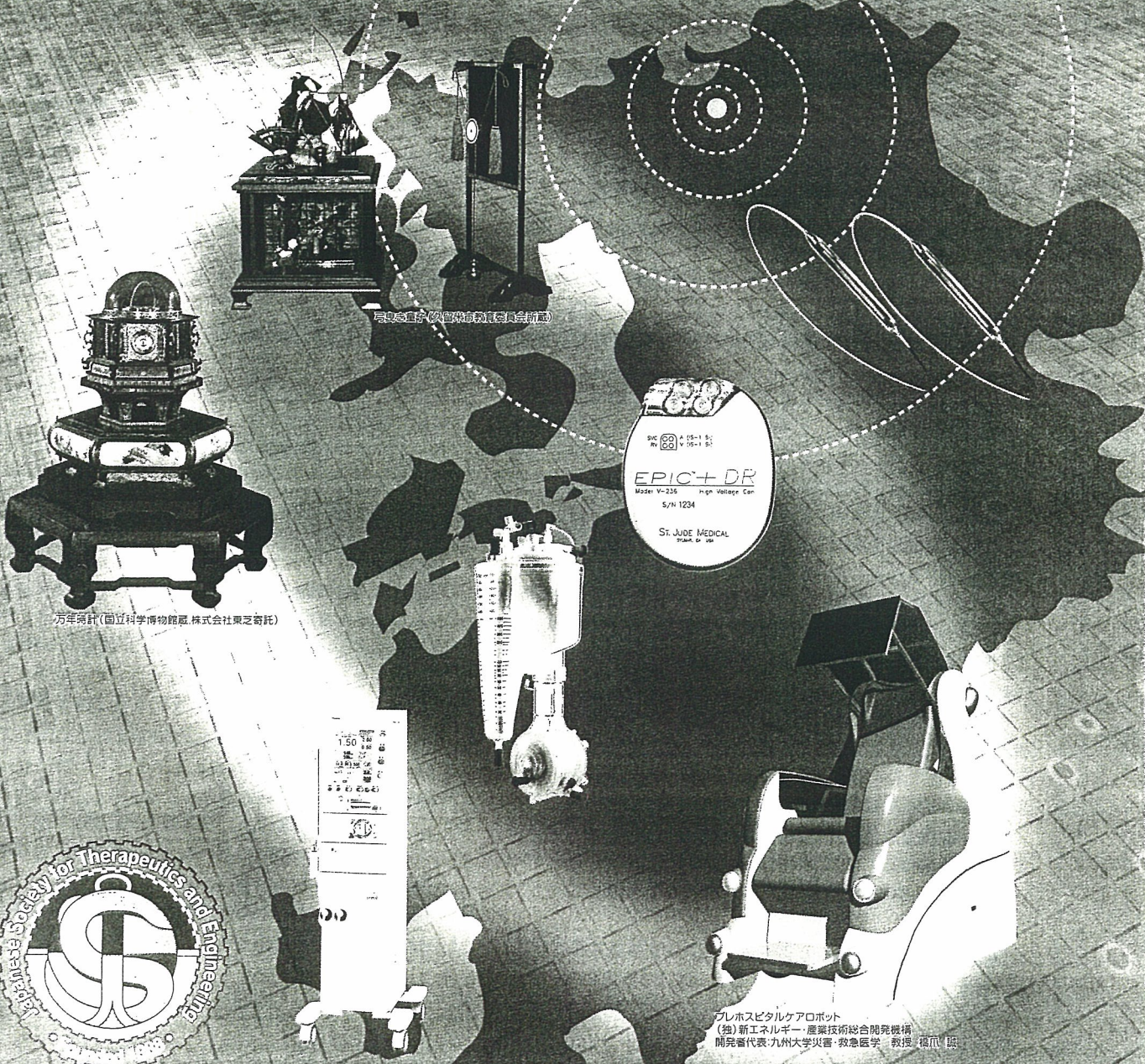
(古園 勉)

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



与泉電子(仮)製法教育委員会新蔵

万年時計(国立科学博物館蔵,株式会社東芝寄託)

Model V-225 High Voltage Con

 5/IN 1234

 St. JUDE MEDICAL

 MADE IN USA

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:福丸 隆



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

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φ27mm×2mm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

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

植木 光樹¹⁾、益田 美和¹⁾、角野 弘幸²⁾、安田 昌司¹⁾、岡田 正弘¹⁾、田中 良一³⁾、宮武 邦夫⁴⁾、古菌 勉¹⁾

【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複合化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複合化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¹, 益田美和¹, 岡田正弘¹, 安田昌司¹
角野弘幸², 田中良一³, 宮武邦夫⁴, 古藺 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国立循環器病センター; ⁴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. 速やかで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**

*野一色泰晴, 高性能人工血管, 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



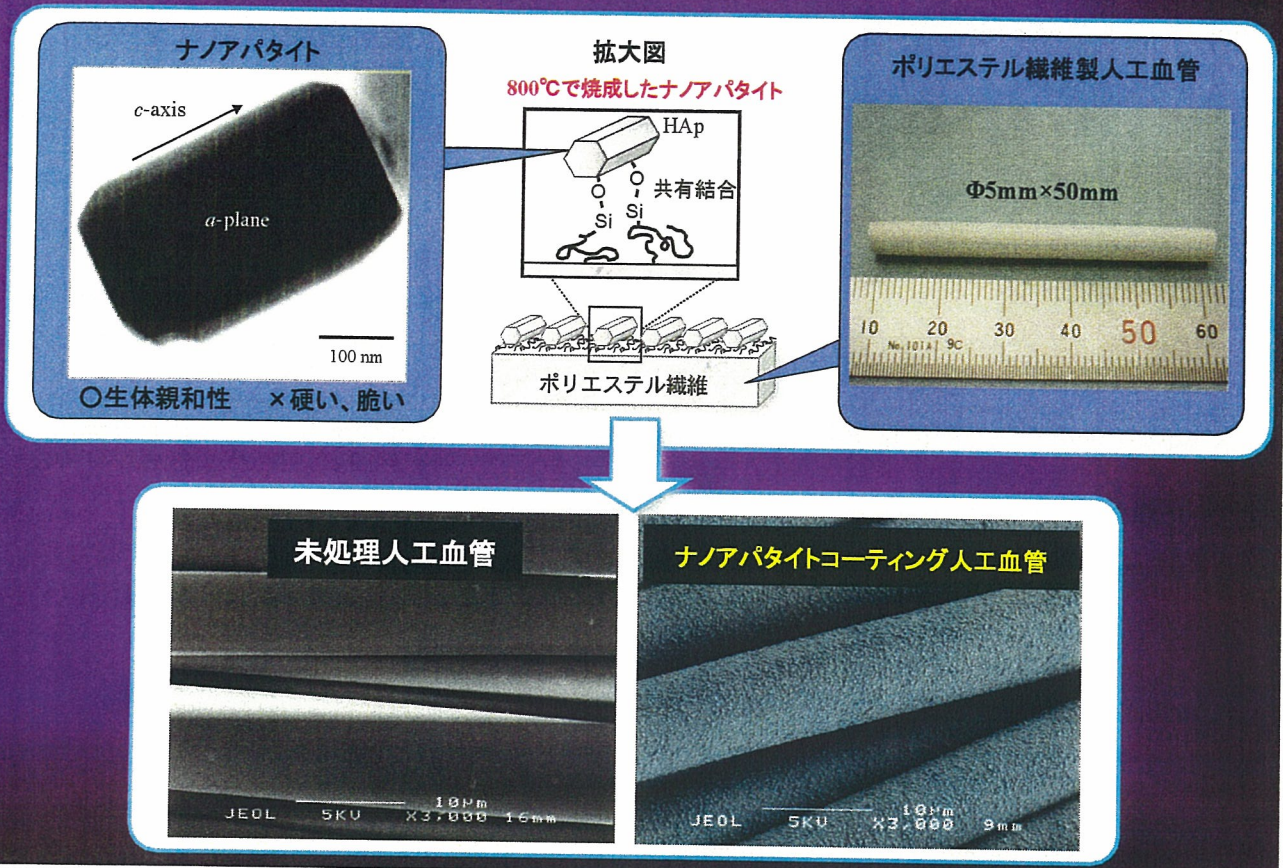
目的

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

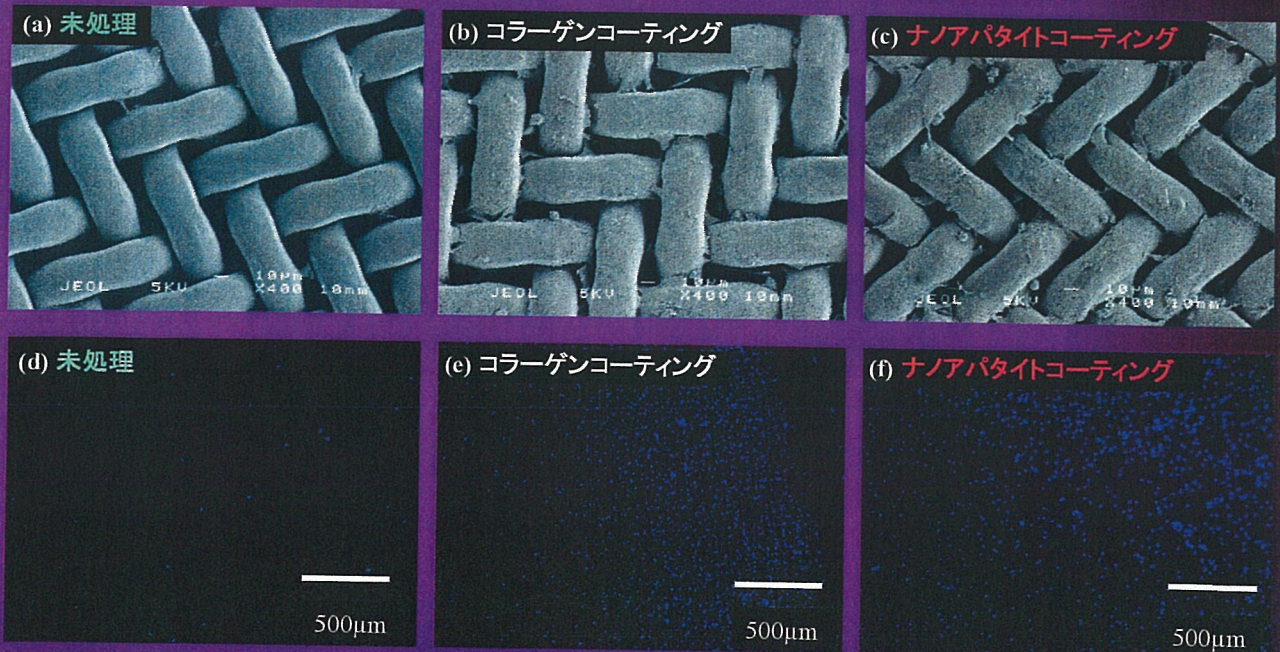


図. ヒト臍帯血由来血管内皮細胞を 1×10^5 個播種し、4時間培養した後のSEM像(a-c)および蛍光顕微鏡像(d-f)。(a, d) 未処理PET; (b, e) コラーゲンコーティングPET; (c, f) HApコーティングPET

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)

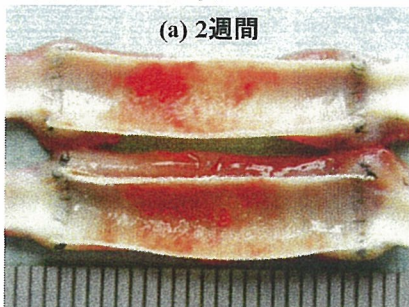
- ・左頸動脈分離50mm切除
- ・グラフト(φ5mm×50mm)縫合(7-0ナイロンにて単純吻合)

- ・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

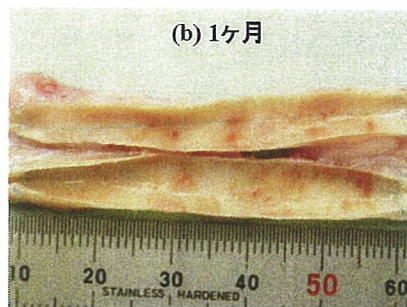
未処理人工血管

(a) 2週間



血栓の付着

(b) 1ヶ月



血栓の付着

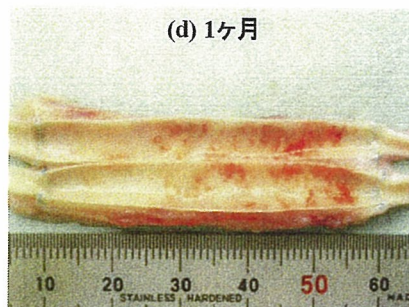
ナノアパタイトコーティング人工血管

(c) 2週間



血栓の付着

(d) 1ヶ月

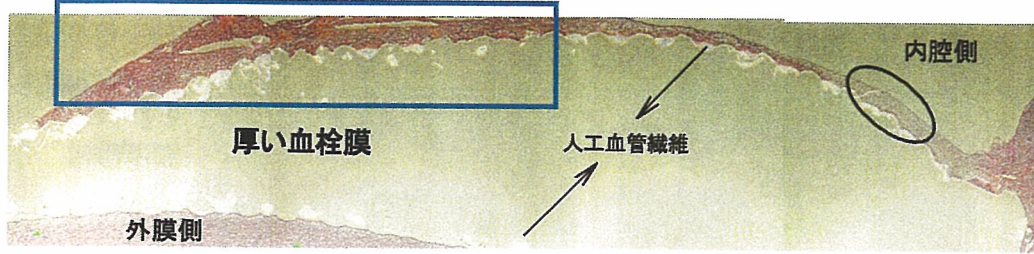


血栓の付着

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

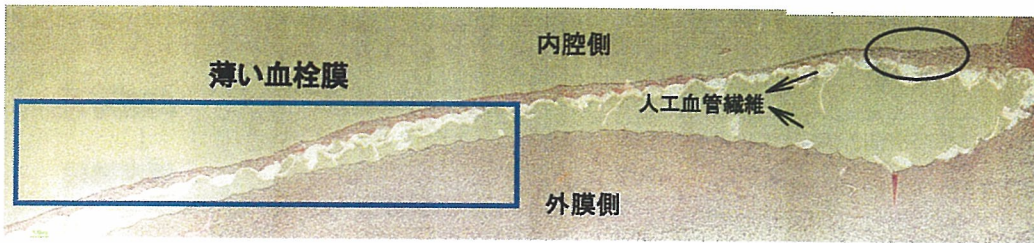
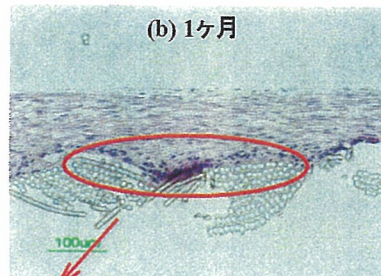
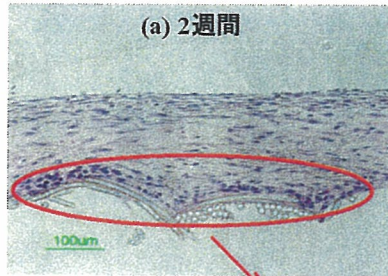


図. 人工血管の血栓形成の比較: 置換後2週間

Hematoxylin-Eosin (HE) 染色

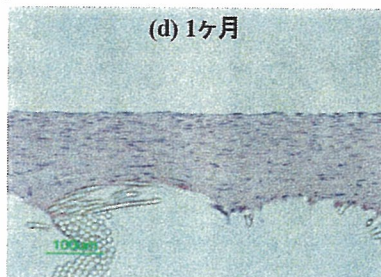
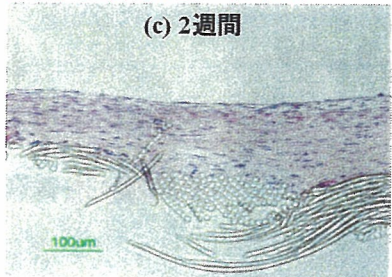
未処理人工血管



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



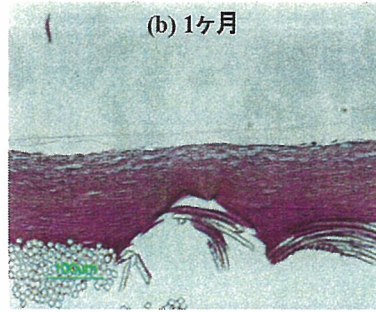
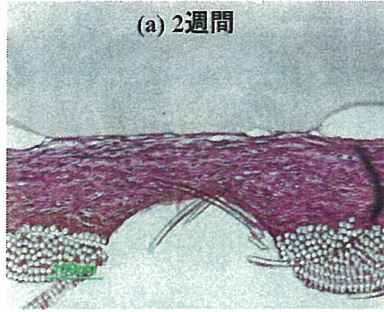
生体親和性に優れた材料

内膜層
↓
細胞質
+
自己組織

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

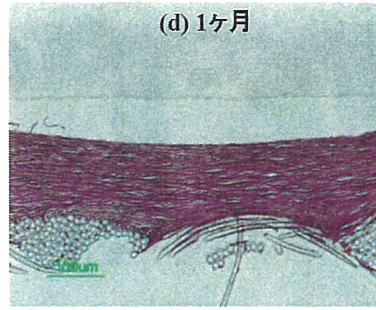
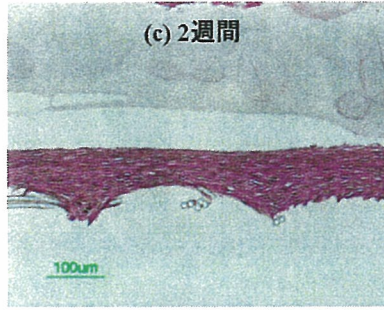
Elastica van Gieson (EvG) 染色

未処理人工血管



内膜層: 隙間
↓
膠原線維

ナノアパタイトコーティング人工血管

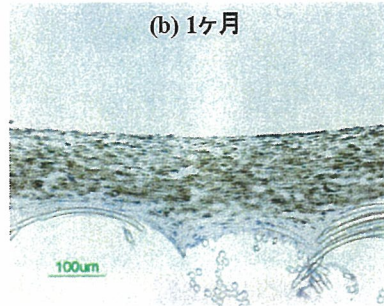
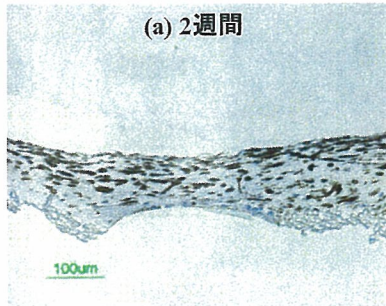


内膜層: 密
↓
膠原線維

図. 人工血管内腔の EvG 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

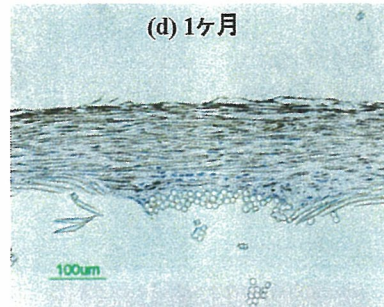
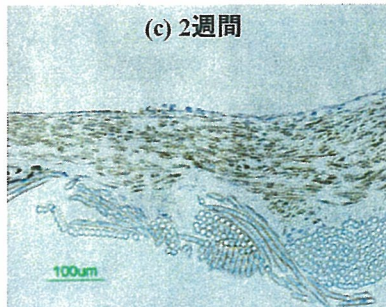
Smooth Muscle α -Actin (α -SMA) 染色

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

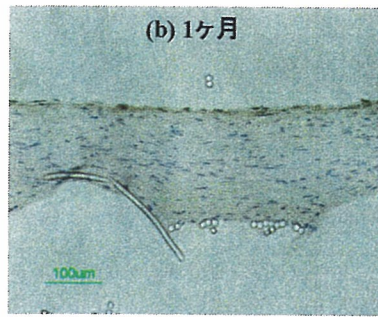
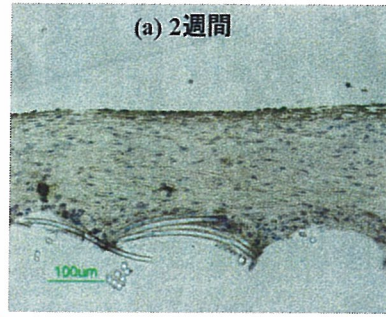


平滑筋細胞の発現: 強い
↓
より成熟した内膜の形成

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

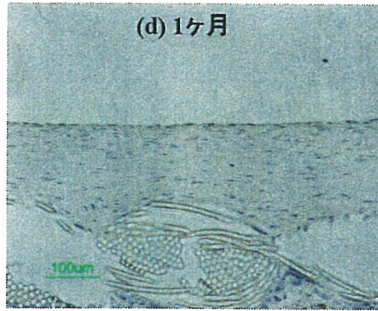
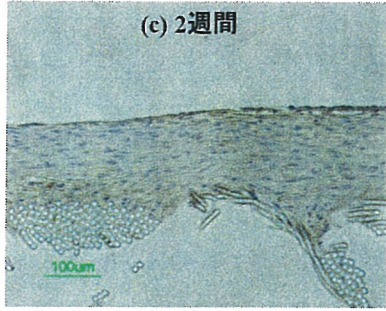
von Willebrand Factor (vWF) 染色

未処理人工血管



血管内皮細胞
↓
重層
+
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
↓
単層均一
+
滑らかである

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

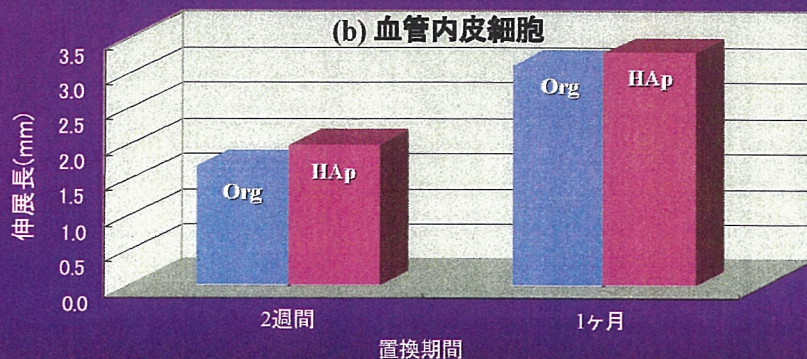
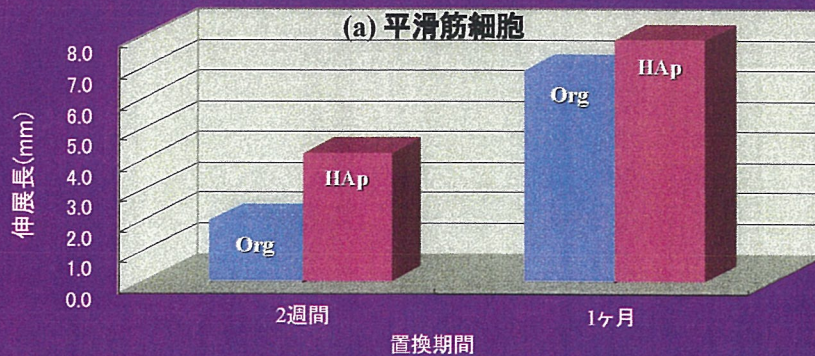


図. 吻合部からの細胞伸展距離の比較: ■ ナノアパタイトコーティング; ■ 未処理 (Org)

まとめ

1. 新規人工血管の創出:
ポリエステル表面へのアパタイトナノ粒子のコーティングに成功した。
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:
 - ・ 未処理人工血管、ナノアパタイトコーティング人工血管は共に開存しており、ナノアパタイトの延長に伴って赤色血栓の付着が減少することが確認できた。
 - ・ 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、血管内皮細胞は単層均一に被覆した。

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

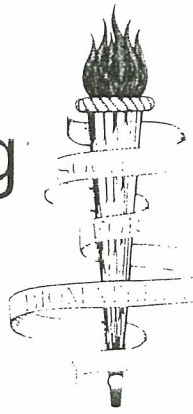
当該研究は厚生労働科学研究(循環器疾患等総合研究事業)により実施された。

Society For Biomaterials

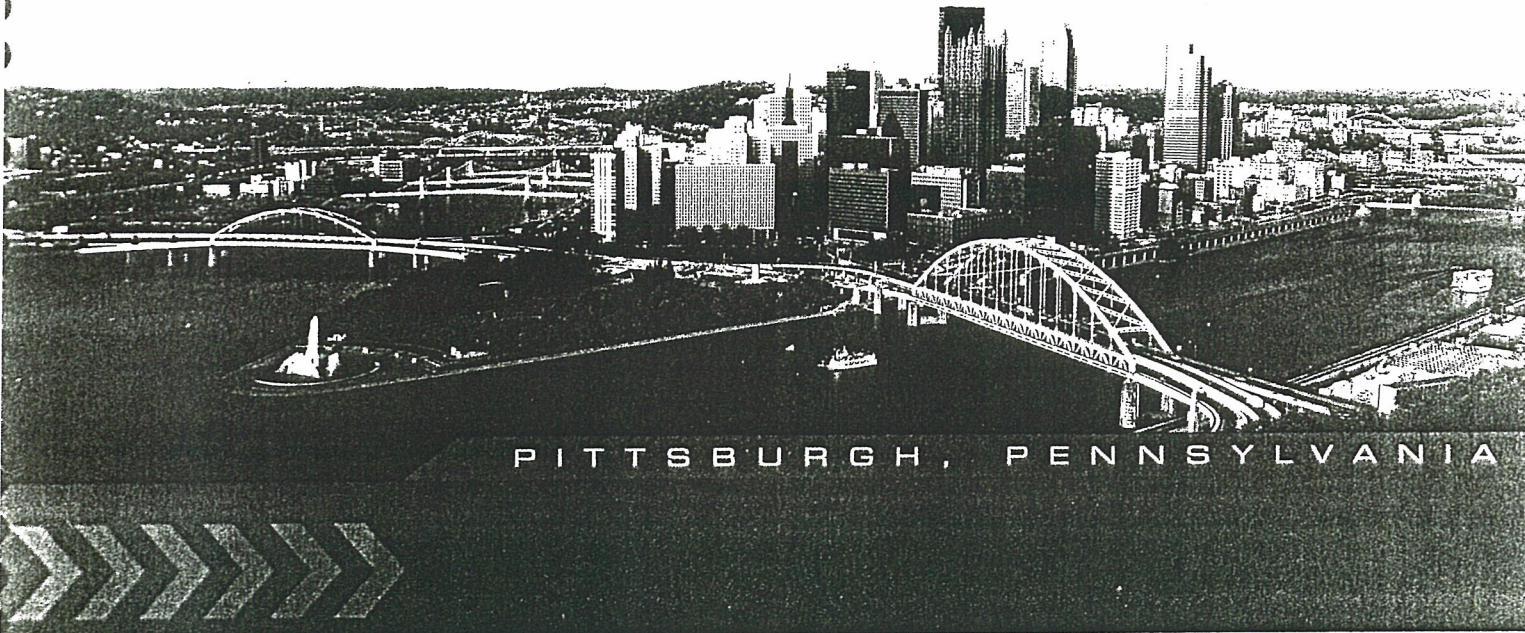
2006 Annual Meeting

April 26 - 29, 2006

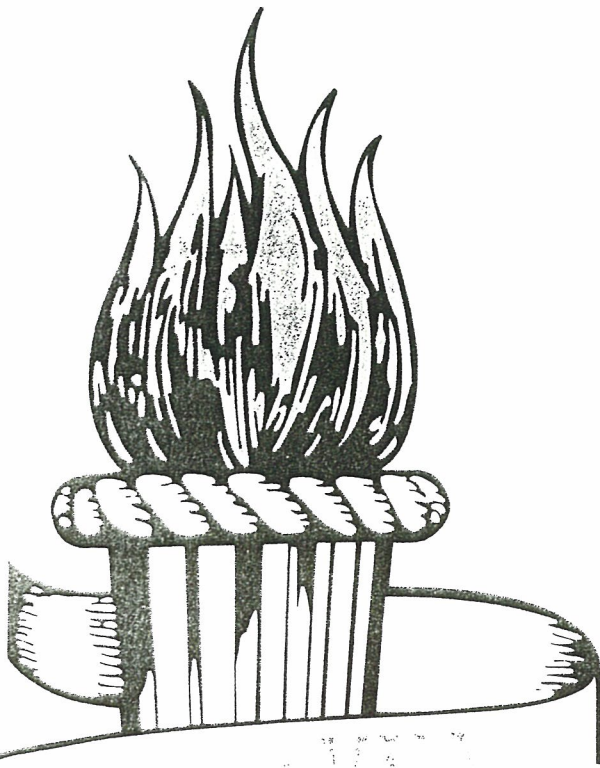
David L. Lawrence Convention Center
Pittsburgh, Pennsylvania, USA



"Biomaterials: The Enabling Technology"



Final Program



www.biomaterials.org

Increase of cell adhesiveness on poly(ethylene terephthalate) fabric by coating of sintered hydroxyapatite nanocrystals

M. Masuda¹, M. Okada¹, S. Yasuda¹, H. Kadono^{1,2}, R. Tanaka³, K. Miyatake⁴, T. Furuzono¹

¹Department of Biomedical Engineering, National Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan.

²Veterinary Surgical Center, 1-6-45 Nakahozumi, Ibaraki, Osaka 567-0034, Japan.

³Department of Radiology, National Cardiovascular Center, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan.

⁴National Hospital Organization Osaka Minami Medical Center, 2-1, Kidohigashimachi, Kawachinagano, Osaka, Japan

Statement of Purpose: Hydroxyapatite (HAp) has attracted considerable attention as hard-tissue-compatible material, because it bonds directly to bone when implanted. Recently, we have fabricated an inorganic-organic composite consisting of sintered HAp nano-scaled crystals and biomedical polymers (such as silk fiber) via covalent bonding at the interface to develop a soft tissue-compatible material. If our HAp nanocrystal coating technique can be applied to medical polymers other than silk, the uses are expected to spread widely in medical fields.

Polyester has been used as a typical and popular biomedical polymer in medical fields. Medical devices made of polyester, for example, artificial blood vessels, generally, are coated with collagen or gelatin in order to increase interaction with living cells or tissue. The use of animal-derivative proteins is, however, feared due to the possible outbreak of infectious diseases such as bovine spongiform encephalopathy (BSE).

In this study, HAp nanocrystals were covalently linked onto PET fabric, which surface was modified by graft polymerization with γ -methacryloxypropyltriethoxysilane (MPTS). The coating of HAp is biologically safe due to no biological derivative substances.

Methods: HAp crystals with an average diameter of 50 nm were prepared by an alternating emulsion system and subsequently calcined at 800°C for 1 h. Graft polymerization of MPTS onto alkaline-hydrolyzed PET fabric was conducted using H₂O₂ as an initiator [1]. To characterize the surface-modified samples, X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) was used. Coating of HAp nanocrystals on the poly(MPTS)-grafted PET fabric was soaked in the HAp suspension (2.0 wt/v%) in ethanol for 1 h at room temperature to adsorb the crystals on the grafted PET. The fabric adsorbed with HAp particles was heated at 80°C for 2 h under vacuum (1 mmHg). Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were plated onto the HAp/PET composite incubated for 4 h. The morphology of the cells on the samples was observed by scanning electron microscope (SEM).

Results / Discussion: There are many methods of radical donation on a polymer surface in order to graft polymerize with vinyl monomers on PET, such as using high-energy radiation of γ -rays, benzoyl peroxide, hydrogen peroxide, persulfate, etc. In our case of graft polymerization of MPTS on PET, H₂O₂ in benzyl alcohol was used as an initiator because H₂O₂ treatment is easy to handling and a large facility is not necessary. The weight gain of poly(MPTS) increased with increase in the reaction time, eventually reaching a plateau value of about 3.5 wt%. The poly(MPTS) grafted on PET was also confirmed by XPS measurement,

HAp crystals were coated on PET fabric through covalent bonding by the reaction between OH groups on the HAp crystals and ethoxysilyl groups on the poly(MPTS)-grafted PET. To evaluate the cell adhesiveness on the HAp/PET composite, HUVEC was incubated on the composite at 37°C for 4 h, and observed by SEM. As shown in Fig. 1 (a) and (b), many cells adhered on HAp/PET fabric as well as collagen-coated PET, while only a few cells adhered on the original fabric.

Conclusions: A novel composite consisting of nano-scaled HAp crystals and PET through covalent linkage was developed. HUVEC adhered more plentifully on the HAp/PET composite compared to the original PET and to the same degree as collagen-coated PET after 4-h incubation. The coating of sintered HAp nanocrystals is a simple method in order to make a polyester substrate bioactive without a coating of animal-derivative adhesion proteins such as collagen or gelatin. It is also a fact that the coating of HAp nanocrystals is superior in the terms of biological safety [2].

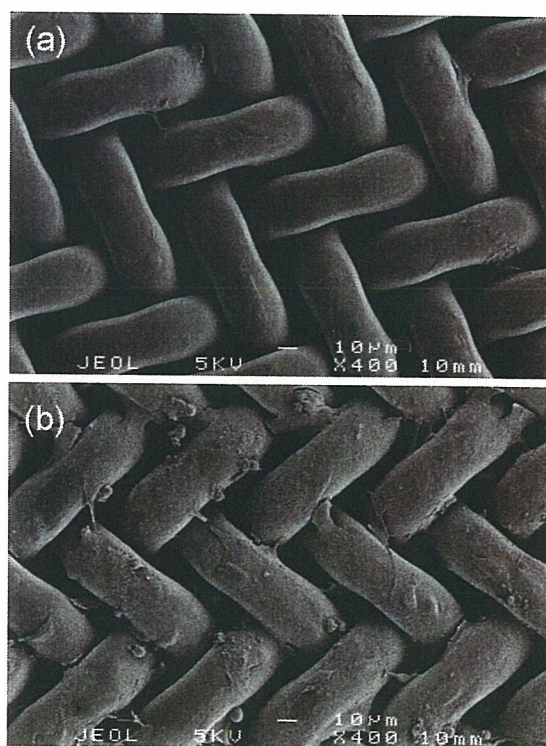


Fig. 1 SEM photographs of HUVEC after incubation for 4 h on (a) original PET and (b) HAp/PET composite

References : [1] A. HEBEISH, S. E. SHALABY and A. M. BAYAZEED., *J Appl Poly Sci* 1981 ; 26 : 3245-3251
[2] T. Furuzono *et al.*, *ASAIO Journal.*, in contribution



JSIR

IVR

INTERVENTIONAL RADIOLOGY

第35回日本IVR学会総会 プログラム抄録集

メインテーマ:エビデンスに基づくIVRの飛躍

会長 澤田 敏(関西医科大学 放射線科)

会期 2006年5月18日(木)~20日(土)

会場 大阪国際会議場

APR.2006
Vol.21
Supplement



日本インターベンショナルラジオロジー学会雑誌
The Official Journal of the Japanese Society of
Interventional Radiology

■ 18. 基礎実験 (I)

87. 鼓型 stent-graft 留置による type II leak モデル作成と瘤内塞栓術：
an experimental study

○南郷 峰善¹, 堺 幸正¹, 羽室 雅夫¹
中村 健治¹, 井上 佑一¹, 磯田 正之²
山田 龍作², 田中 佐織³

大阪市立大学大学院 放射線科¹
ベルランド総合病院 放射線科²
大阪南医療センター 放射線科³

【目的】 鼓型ステントグラフト(SG)を留置して type II leak モデルを作成し、さらに endoleak 予防のため瘤内塞栓を行ったので報告する。

【対象と方法】 コントロール群が5頭、塞栓群ではフィブリン糊とスポンゼルを使用し各々4頭ずつの豚を用いた。SGは5連のZステントで、中央の径を大動脈径の70%に絞って鼓型にしPTFEを被覆した。中央の絞りによりSGと大動脈壁との間に空間が生じ、これが residual space(RS)となる。留置前に右大腿動脈から5Fr.カテーテルをRS内となる部位に挿入しておき、左頸動脈から挿入した8Fr.シースを用いてSGを胸部大動脈に留置し、大動脈造影、RS造影およびRS内圧測定を行った。塞栓群ではSG留置後に塞栓物質をRS内へ注入した。5Fr.カテーテルにはリザーバーポートを接続して大腿部に留置し、follow-upを3、10日後に行い屠殺した。

【結果】 全例で2対か3対の肋間動脈を側枝として持つRSの作成に成功した。コントロール群では、SG留置直後に大動脈造影で2頭に type II leakが見られ、10日後まで全例のRS造影でRSと側枝との間に循環動態を認めた。塞栓群では大動脈造影で type II leakは1例も認めず、多くの瘤内圧は測定不能となった。

【結論】 鼓型SG留置による type II leak モデル作成は可能であり、瘤内塞栓術は type II leak 予防に有用であっ

■ 18. 基礎実験 (I)

88. 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

○田中 良一¹, 益田 美和², 岡田 正弘²
安田 昌司², 植木 光樹², 角野 弘幸³
宮武 邦夫⁴, 古蘭 勉²

国立循環器病センター 放射線診療部¹
同 研究所 生体工学部²
東京医科歯科大学 生体材料工学研究所³
独立行政法人大阪南医療センター⁴

【目的】 人工血管および金属ステントへのナノセラミクス複合化技術を開発し、血管壁およびデバイスに対する生体反応を検証する。

【方法】 ナノスケールで高い分散性を呈するハイドロキシアパタイト焼成体(単結晶)を合成し、ポリエステル人工血管および金属ステント(SUS316L)に共有結合で強固にコーティングした。それぞれのデバイス表面を走査型電子顕微鏡にて観察し、ナノアパタイトの複合化を確認した。また、内径5mmのナノアパタイト複合化グラフトを犬の頸動脈に移植し、市販品と同等のコラーゲン/ゼラチンコートグラフトを対照として周囲組織反応および内皮細胞被覆促進効果を確認した。

【結果】 人工血管および金属ステントへのナノアパタイト複合化は強固かつ均一であった。人工血管移植実験ではナノアパタイト被覆グラフトにおいて、周囲組織の成熟化反応が早期に見られ、特に成熟した単層の内皮細胞による被覆が見られた。

【結論】 ナノアパタイト被覆デバイスにより生体親和性が向上した。本技術の導入により、吻合部強度の向上やグラフト閉塞・ステント内再狭窄の防止が期待される。

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

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****, 古園 勉**

- * 岩手医科大学 放射線科(前 国立循環器病センター 放射線診療部)
- ** 国立循環器病センター研究所 生体工学部
- *** 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所
- **** 独立行政法人 大阪南医療センター

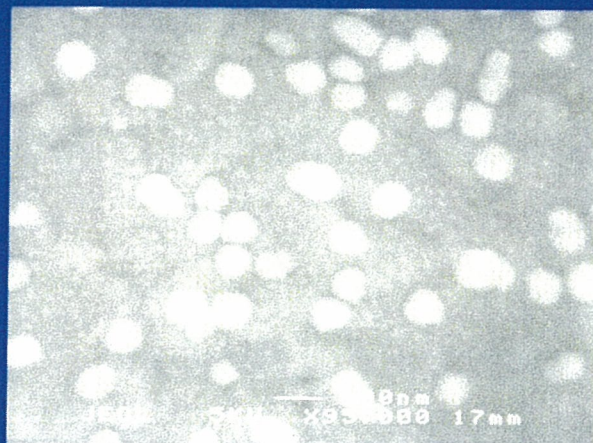
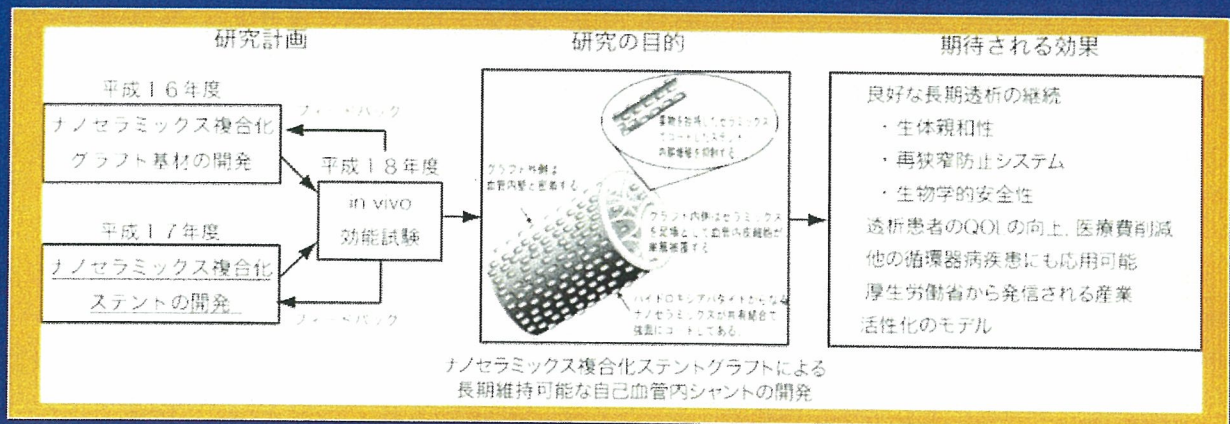
【当該研究課題の目的】

- 血管内治療に用いるステントおよびグラフト表面に、独自に開発したナノスケールのハイドロキシアパタイトセラミックスを強固に結合させた新規なナノセラミクス複合化ステントおよびグラフトを開発し、血管内デバイスのズレ、血管内皮早期被覆および内皮肥厚抑制を目指す。

はじめに

【ナノアパタイト表面修飾による効果】

- ①血管内ズレ抑制 : ナノアパタイトによる組織接着性効果
: ナノアパタイト表面トポロジー（凹凸）によるアンカリング
- ②血管内皮早期被覆 : ナノアパタイトによる細胞接着性効果
- ③内皮肥厚抑制 : ナノアパタイトによる薬物担持・徐放効果



球状ナノアパタイト



ロッド状ナノアパタイト