

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業
身体機能解析・補助・代替機器開発研究

新しい生体接着理論に基づく
血管付着機能を有するステントの開発に関する研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 岸田 晶夫

平成20年(2008)年 4月

目次

I. 総括研究報告	
新しい生体接着理論に基づく血管付着機能を有するステントの開発に関する研究	----- 1
岸田晶夫	
II. 分担研究報告	
1. 物理刺激による生体接着現象の解明に関する研究	----- 7
岸田晶夫	
2. 超音波波動による生体組織接着現象の評価に関する研究	----- 19
樋上哲哉	
3. ステント表面の微細加工とナノ振動波動装置の設計に関する研究	----- 27
増澤徹	
4. ナノ振動子と制御回路の設計、製作に関する研究	-----107
木村孝之	
5. ナノ振動波動装置と超音波試験装置の製作に関する研究	-----141
山本芳郎	
III. 研究成果の観光に関する一覧表	-----145
IV. 研究成果の刊行物・印刷	-----149

厚生労働科学研究費補助金
(医療機器開発推進研究事業：身体機能解析・補助・代替機器開発研究)
総括研究報告書

新しい生体接着理論に基づく血管付着機能を有するステント開発に関する研究

主任研究者 岸田晶夫 東京医科歯科大学生体材料工学研究所教授

研究要旨 ナノ振動によって生体と接着するステントの開発のためには、ナノ振動による接着理論の確立と、ナノ装置の開発に関する詳細な検討が必要である。本研究では、ナノ振動装置の開発に関する基礎的な検討を行った。我々が提案する振動・熱・圧力の複合低エネルギー負荷による接合を可能とするナノ振動装置を新たに開発した。生体-生体間接合、生体-高分子間接合に成功し、ナノ振動装置の広範な利用の可能性が示された。

分担研究者

- (1) 岸田晶夫・東京医科歯科大学生体材料工学研究所 教授
- (2) 樋上哲哉・札幌医科大学医学部 教授
- (3) 増澤徹・茨城大学工学部 教授
- (4) 木村孝之・茨城大学工学部 助教授
- (5) 山本芳郎・株式会社ミワテック 研究員

A. 研究目的

狭心症や心筋梗塞などの虚血性心疾患や動脈瘤の患者数は年々増加しており、国内では約100万人が罹患し、年に7万人以上が亡くなっている。これらの疾患は主として血管の物理的機能不全に起因しており、治療法としては内科的手法よりも外科的手法の方が効果が高く適している。しかしながら、心臓や大動脈に関連した手術であるため、生命に関わる危険が伴う、患者への侵襲が大きく入院日数も長くなる、病院・医師ごとの治療成績にばらつきが生じやすいなどの問題点がある。これらを解決する医療技術の一つとして、近年ステントおよびステントグラフト（ステント法）が注目されている。ステント法は患者への侵襲も少なく、優れた方法であるがいくつかの問題も指摘されている。そのうち、ステント法の治療成績に直接影響する要因として、ステントの血管との密着性に起因する問題点が大きな割合を占める。すなわち、ステントの挿入位置からの逸脱、動脈瘤治療時のステントグラフトの密着性の低さから生じる瘤破裂や再手術の必要性などである。ステントは基本構造として金属製のフレーム

からなり、ステントグラフトはステントに人工血管をかぶせた形状をしている。いずれも基本的には金属製フレームの拡張力によって血管との密着性を確保する機構である。また、一部研究途上のものにはステントをカバーする人工血管素材を改質し、生体血管との一体化をはかるものもある。しかしながら、ステント挿入の対象になる病変血管の多くは、動脈硬化あるいは石灰化により弾力性を喪失していたり、内皮細胞の脱落や平滑筋細胞の過増殖等の再生異常が生じており、従来の考え方では問題の解決は容易ではない。

本研究事業では、新しい生体組織接着理論に基づくステント等の人工材料と生体との接着の新手法の基礎研究とそれを応用した血管接着性ステントの開発を目的とする。ここで開発する生体接着技術は、我々の共同研究から導き出された、ナノ振動、熱および圧着強度のバランスによって、組織中の結合性タンパク質が構造変性し、これによって生体組織どうしあるいは生体組織と人工材料の接着を可能にする技術である。この際、ステント表面の物理加工と細胞接着性を付与するための化学処理およびステントをナノ振動させるデバイスの技術開発が必要である。また、ナノ振動の振動周波数を超音波領域に拡大することにより、タンパク質改質による生体組織接着の促進も期待できる。ステントに生体親和性を与えるために化学処理する技術と、カテーテルに組み込んだマイクロデバイスを用いたナノ振動波動による生体組織誘導・接着を組み合わせることによって、世界でも類を見ない生体内（血管内）での材料・生体組織接着加工の実現を目的とする。期

待される成果としては、ステント法の治療成績の向上について直接的な影響を与えると期待できるほか、国際的競争力を有する技術開発による産業振興と輸入超過状態の解消、国産化による安定供給、および競争原理の導入によるステントの低価格化などが間接的な成果として期待できる。また、人工材料と生体接着技術の開発は、他の人工臓器（人工心臓、人工血管）と生体との接合および縫合法と並ぶ新しい外科治療技術への応用も期待できる。

B. 研究方法

岸田は超音波メスを用いた生体-人工化合物の接着に関する基礎研究を基に、新たに開発したナノ振動接合装置を用いた生体-人工化合物の接着に関する検討を行った。種々の高分子材料として、ペレセン、発泡ポリウレタン、ポリエステル、ビニロン、セロファン、PGA ファイバー、PGA-コラーゲン混合ファイバー、ポリ塩化ビニル、ダクロン、シリコーンゴム、ポリエチレン、コラーゲンシート、PCL ファイバー、コラーゲンファイバー、ペレセンファイバーを用い、対象組織としてブタ大動脈切片を用いた。

樋上は本研究で開発した超音波接合装置を用いて、動物モデルとしてブタを用いたin vivo評価を行った。下行大動脈を血流遮断した後、一部を切開し、大動脈内に自作のカバードステントを挿入し、超音波接合装置にて大動脈-カバードステントを接合した。使用した装置は、超音波発生器を含むハンドピース、振動制御装置から成る。カバードステントのモデルとして、ステント端に人工化合物であるペレセンフィルム、発泡ポリウレタンを組み込んだステントを作製して用いた。

増澤はナノ振動による生体組織融着技術の開発を目標とし、融着実験システムの構築及びハンドピース型融着装置、引張試験機の製作およびステントグラフトと大動脈を融着してステントグラフトを固定するためのカテーテル型ステント融着マニピュレータの考案と開発を行った。さらにステント表面の更なる血液適合性の改善と融着装置先端部と組織部の融着防止を目的として、フッ素添加型ダイヤモンドライクカーボン(DLC)のコーティングについて検討した。

木村は高速に移動するステントの位置や傾きを遅れなく計測できることができる磁気センサの開発を試みた。これまでの磁気センサでは1000fps 程度の速度で測定が可能であった。これ

よりも早く動く物を計測しようとするとう像がぶれたり、一計測を正しく行うことができなくなったりする。この応答速度を、磁気センサの構造や駆動方法、さらに増幅回路を工夫することにより改善することを目的とする。

佐藤は超音波振動、熱エネルギー、圧力負荷による接着メカニズムを基盤として新たに血管融着デバイスを開発した。平成18年度に開発した血管融着デバイス（以下「鉗型デバイス」）は、振動周波数が広範囲で可変可能であり、振幅は最大で約1 μm 、また血管に与える振動は、血管の円周方向に与えるタイプの装置であった。この鉗型デバイスに対し、今年度に開発した血管融着デバイス（以下「鉤型デバイス」）は、振動周波数を20kHz 固定とし、振幅は最大8 μm 、血管に与える振動は血管の半径方向に与えるタイプである。また、血管に与える熱の温度を一定に保つ機能を追加した。

（倫理面への配慮）

動物実験は、「動物の保護及び管理に関する法律」（昭和48年10月1日法律第105号）、及びこの法律を受けた「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」（昭和55年3月27日総理府告示第6号）に基づき、当該施設の動物委員会で承認された方法で行った。当該実験動物管理施設の指針に従い、適切な麻酔剤を用い動物の苦痛の軽減に努めるとともに、実験計画を綿密に練ることにより、不必要な動物実験を避け必要最低限の頭数で目的を達成するように努めた。

C. 研究結果

岸田は超音波メスおよび超音波振動接合装置による生体組織と接合可能な高分子材料の探索を行った。生体組織-ペレセンフィルムの接合サンプルにおいて、超音波メスでは、接合面近傍での細胞核の変形、空胞化が観察された。一方、超音波振動接合装置では、接合面での組織損傷は認められないが、組織内部においてキャビテーションによる損傷が認められた。また、生体組織同士の接合では、超音波メスのブレードあるいは超音波振動接合装置のヒータと接触していた組織の損傷が観察されたが、接合面において間隙は観察されず、生体組織同士が接合していることが明らかとなった。

樋上はブタを用いたin vivo 実験を行った結果、超音波接合処理時間とともに大動脈の把持部での変色を認めた。これは、超音波接合装置の把持

部の温度が高かったためと考えられる。ペレセンフィルム組み込みカバードステントの場合、90秒の超音波接合処理によりカバードステントと大動脈が接合された。一方、発泡ウレタン組み込みカバードステントの場合では、90秒の超音波接合ではカバードステントと大動脈の接合がなされず、ステントを含めて吻合固定した。その後、切開部と吻合し、血流を再開させた。約30分間の血流下にさらした後、大動脈片を採取・切開し、接合部を観察した。超音波接合により接合が確認されたペレセンフィルム組み込みカバードステントの場合、血流再開後においてもカバードステントの留置されていた。ペレセンフィルム部にて若干の血栓形成が確認されたが、比較的良好な接合状態であった。

増澤は融着実験システムの構築及びハンドピース型融着装置、引張試験機の製作を用いて、振動、熱、圧力3種のエネルギーと融着強度の関係を明らかにした。血管とステンレス製振動子の間にテフロンを挟んで融着した場合、最大約0.26MPaの強度を有した融着が可能であることが明らかになった。融着強度は、融着温度、融着時間にほぼ比例し、また、融着圧力が大きくなると融着強度が大きくなることが分かった。振動付加の融着結果は、振動無付加のものに比較し、大きい融着強度を示し、振動エネルギーが融着現象に寄与していることが明らかになった。血管-人工物融着実験より、血管とステンレスが最大0.35MPaの強度を有した融着が可能であること、血管とポリウレタンが融着可能であることを確認した。循環系シミュレータを用いた血管融着強度評価により、ステントのずれを防止するために必要な強度が0.05MPaであることを確認した。また、動脈瘤モデルとステントグラフトモデルを用いたエンドリーク防止評価より、10mmHgの圧力負荷環境においては、融着部からのエンドリークが無いことを確認した。以上のことから、本研究を利用することによりステントなどの人工物の生体組織への融着が可能な生体組織融着技術の確立が図れた。

また、カテーテル型ステント融着マニピュレータの考案と開発については、考案した融着マニピュレータは、形状記憶合金を通電加熱することにより展開させ、融着面に荷重と熱を与え、ボルト締めランジュバン式振動子により融着面に振動を与えてステントグラフトと動脈を融着するタイプのものである。形状記憶合金を利用し132℃の熱、0.27MPaの圧力の付加が可能であることを

確認した。有限要素法による解析により設計、製作したボルト締めランジュバン型振動子の振動振幅の最大値は1.1 μ mであった。本研究により、エンドリークを防止するカテーテル型ステント融着マニピュレータの基本設計が行い得た。

さらに、DLCコーティングについては、作製されたDLC薄膜は、ステントグラフト素材であるフッ素樹脂や先端部材質となるステンレスとは付着強度が低いと評価した。その結果、プラズマ前処理、及びスパッタリング法によるSi中間層を設けることで、DLC膜とフッ素樹脂及びステンレス基板との良好な付着強度を維持できることが明らかとなった。

木村は組み上げた装置を用いた測定の結果、976fpsの読み出し速度により400rpmで回転するモーターまで制御可能であり、歪みのPixel数が回転数に比例して増加していることから3000rpmで回転するモーターを制御するには約8倍(7808fps)の読み出し速度があれば十分であることを見いだした。さらに、一次試作集積化磁気センサチップを高速読み出しに重点を置いて改良した二次試作集積化磁気センサチップの設計を行った。それによれば、読み出し速度の目標は現在鮮明な二次元磁束分布図が得られる976fpsの8倍である7808fpsであった。

佐藤は新しく作製した装置について、血管融着ハンドピース部の血管把持時の温度変化を測定した。血管把持により急激な温度減少が示された。設定温度になるには約100秒程度必要であった。血管融着装置を用いて人工化合物と大動脈の接合を検討した。いずれの人工化合物においても、把持時間を延長させた場合に高強度の接合が可能であった。しかしながら、最適な把持時間は用いる人工化合物により異なった。また、把持時間が120秒の場合では、接合するものの組織損傷が顕著であった。以上のことから、用いる人工化合物により、最適な把持時間があることが明らかとなった。

D. 考察

岸田らの検討によって、超音波メスおよび超音波振動接合装置の各装置において生体組織-高分子材料あるいは生体組織同士の接合が可能であったが、超音波振動接合装置では超音波メスに比べ、より低侵襲であることが分かった。

樋上は、フィルム状の高分子材料と生体組織の接着については、膜厚が薄いほど接着しやすく、

厚いほど接着しにくかったことを見いだした。すなわち、フィルム状では、発生されるエネルギーが拡散しにくく、高分子の効率的な溶解なされ、生体組織との混和が効率的になされ、接合されると考えられる。これらの結果は、臨床応用を目指す上での検討課題であると考えられる。開発する超音波発生装置には、エネルギー発生量の計測システムを導入し、安全装置として発生される熱エネルギーへのフィードバック機能が搭載される必要があると考えられる。

増澤は、胸部大動脈瘤の治療法であるステントグラフト内挿術の支援の一環として、血管とステントグラフトを融着するカテーテル型ステント融着マニピュレータの実現の検討を行った。そのために、ボルト締めランジュバン式振動子の振動解析と形状記憶合金の通電加熱実験、形状記憶合金の形状回復力測定実験、ボルト締めランジュバン式振動子の振動振幅計測実験を行った。それらの結果より、融着に必要な熱および圧力、振動を発生する性能をカテーテル型ステント融着マニピュレータに与えることが可能であることを検証した。その結果、以下のことが判明した。

- ・ 通電加熱によって形状記憶合金を形状回復に必要な温度や、融着に必要な温度まで加熱できることを確認するために、形状記憶合金を通電加熱しその温度を計測する実験を行った。その結果、形状回復温度である50~60℃まで通電加熱することが可能であり、さらに電流を増やすことで融着に必要な温度130℃まで加熱できることが可能であることを確認した。よって、製作した形状記憶合金に通電することで融着に必要な熱を与えることが可能であると考えられる。

- ・ 製作した形状記憶合金が融着に必要な圧力を発生することができることを確認するために、形状回復力を計測する実験を行った。その結果より、形状記憶合金の太さを太くすることと変形量を大きくすること、形状回復直後に力を与える形状にすることで目標の圧力0.75MPaを与えることが可能であると考えられる。

振動解析を元にした設計によりボルト締めランジュバン式振動子を製作し、製作した振動子の振動振幅の計測実験を行った。この実験において、製作した振動子の振動の最大の全振幅（片振幅の2倍）が $2.14\mu\text{m}$ となり、融着に必要な全振幅の目標値 $1.0\mu\text{m}$ を満足することができた。よって、融着に必要な振動性能を製作したボルト締めランジュバン式振動子によって発生することが可能であると考えられる。

木村はステントの微小位置決定のためのモデルとして、一次試作の磁気センサチップにおいて、チップ上で磁石を回転させたときの二次元磁束分布図から応答速度の算出及び実測を行い、読み出し速度の目標値を算出した。その結果、一次試作の読み出し速度の限界(976fps)では400rpmで回転するモーターに取り付けられた磁石の二次元磁束分布図における像の誤差が1画素($50\mu\text{m}$)以下となるため、400rpmで回転するモーターまで制御可能であることがわかった。ステントの位置決定のための高速センサとしては、例えば人工心臓に用いられる磁気浮上モーターは3000rpmで回転するため、制御を行うには一次試作磁気センサチップの約8倍の読み出し速度が必要であることが明らかになった。よって、7808fpsの読み出し速度を読み出し速度の目標値とし、高速読み出しに重点を置いた二次試作の磁気センサチップの設計を行った。制御基板の特性評価を行った結果、7735fpsの読み出し速度で設計通りの動作を示した。この結果から、並列読み出し方式の制御を行う基板を完成することができ、ステント位置決定のための高速センサシステムのモデルを実証することができた。

佐藤は血管融着デバイスの設計・製作を行った。血管融着ハンドピースの先端温度制御能および振動周波数制御能を有する。血管把持時により急激な温度低下が示され、設定温度になるには約100秒必要であった。条件を最適化することで人工化合物-大動脈の接合可能であり、接合装置としての利用可能性が示された。しかし、臨床現場で用いるためには、更なる改良が必要であると考えられた。

E. まとめ

岸田は、超音波メスおよび新規に開発した超音波振動接合装置を用いて、生体組織と高分子材料の接合について検討した。まず、生体組織と接合可能な高分子材料の探索を行い、各装置における接合条件の最適化を行った。超音波接合装置では超音波メスとは異なり、低侵襲にて生体組織-高分子材料の接合が可能であった。しかしながら、接合に長時間を要する点が課題である。生体組織間の接合試験では、超音波メスに比べ、接合強度において有意な差が示された。本研究成果により、新規に開発した超音波振動接合装置が生体組織間あるいは生体組織-高分子材料の接合に有用であることが示唆された。

樋上は、新たに開発した超音波接合装置を用いてカバードステントモデルと食用ブタ下行大動脈との接合について研究を実施した。超音波接合装置によりペレセンカバードステントと大動脈との接合がなされ、血流再開後約30分間後においても留置可能であった。組織学評価において、組織損傷は軽微であり、超音波接合特有の組織構造が観察された。本研究結果により、新しい生体組織接着理論に基づくステント等の人工材料と生体との接着の新技术の基礎研究とそれを応用した血管接着性ステントの開発の実現が可能となると考える。

増澤の研究成果から、製作した装置によって目標の熱、圧力、振動を発生することが可能であることがわかった。本研究により、エンドリークを防止するカテーテル型ステント融着マニピュレータの基本的設計を行えた。

木村は、ステント位置決めのための高速読み出しに重点を置いた磁気センサチップの設計を行った。制御基板の特性評価を行った結果、十分な読み出し速度で設計通りの動作を示した。この結果から、ステント位置決定のための高速センサシステムのモデルを実証することができた。

佐藤は、血管融着デバイスの設計・製作を実施し、血管融着ハンドピースの先端温度制御能および振動周波数制御能を有する超音波接合装置を開発した。人工化合物—大動脈の接合可能であったことから、接合装置としての利用可能性が示された。臨床現場で用いるためには、接合時間を短縮するため、加熱部分の改良が必要であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1). K Nam, T Kimura, A Kishida, Physical and biological properties of collagen-phospholipid polymer hybrid gels, *Biomaterials*, 28, 3153-3162, 2007
- 2). T Kimura, S Iwai, T Moritan, K Nam, S Mutsuo, H Yoshizawa, M Okada, T Furuzono, T Fujisato, A Kishida, Preparation of PVA/DNA hydrogels via hydrogen bonds with ultra high pressurization and controlled release of DNA from the hydrogels for gene delivery, *J. Artif. Organs*, 10, 104-108, 2007
- 3). 木村剛、柴久美子、加藤綾子、樋上哲哉、増澤徹、岸田晶夫、ステントグラフト内挿術での応用を目指した生体組織—高分子材料接着装置の開発、*東京医科歯科大学生体材料工学研究所年報*、41、11-14、2008
2. 学会発表
 - 1). Y Ito, T Kimura, T Higami, T Fujisato, A Kato, T Masuzawa, A Kishida., *Cell Culture on Nano-Vibrating Surface for Controlling Cell Function*, *Tissue Eng*, 13, 1648-1649, 2007
 - 2). T. Kimura, K. Shiba, K. Yamamoto, A. Kato, T. Masuzawa, T. Higami, A.Kishida, *Polymer-biological tissue adhesion using novel pressure-vibration system*, 1st *Asiam Biomaterials Congress Abstract*, 301, 2007
 - 3). 橋本健児、増澤徹、木村孝之、加藤綾子、岸田晶夫、木村剛、ナノ振動負荷時の細胞周りの剪断応力解析、*生体医工学第 45 巻特別号プログラム・抄録集*、PS1-3-10、2007
 - 4). 濱口崇志、増澤徹、加藤綾子、尾関和秀、木村孝之、岸田晶夫、木村剛、樋上哲哉、佐藤裕一郎、山本芳郎、複数低エネルギーの複合化による新しい生体接合技術の開発、*生体医工学第 45 巻特別号プログラム・抄録集*、PS2-11-8、2007
 - 5). 黒須寛秋、増澤徹、石塚健太郎、Daniel L Timms、循環系シミュレータの開発と磁気浮上型人工心臓の評価、*茨城講演会講演論文集*、39-40、2007
 - 6). 石塚健太郎、増澤徹、加藤綾子、岸田晶夫、ダニエルLティムス、循環系治療機器の工学的評価に関する研究、*第5回生活支援工学系学会連合大会講演予稿集*、32、2007
 - 7). 橋本健児、増澤徹、木村孝之、加藤綾子、岸田晶夫、木村剛、ナノ振動刺激時における細胞膜近傍の剪断応力解析、*第5回生活支援工学系学会連合大会講演予稿集*、105、2007
 - 8). 濱口崇志、増澤徹、加藤綾子、尾関和秀、木村孝之、岸田晶夫、木村剛、樋上哲哉、佐藤裕一郎、低エネルギー複合による生体接合技術の開発、*第5回生活支援工学系学会連合大会*

講演予稿集、185、2007

- 9). 増澤徹、「細胞を対象とした工学研究」の共通概念の構築—機械工学サイドから—、人と福祉を支える技術フォーラム、70、2008
- 10). 小林亜美子、増澤徹、加藤綾子、木村孝之、橋本健児、岸田晶夫、木村剛、ナノ振動細胞刺激装置の開発研究、人と福祉を支える技術フォーラム、75、2008
- 11). 河野貴宏、増澤徹、加藤綾子、濱口崇志、尾関和秀、木村孝之、岸田晶夫、木村剛、樋上哲哉、佐藤裕一郎、山本芳郎、カテーテル型ステント融着マニピュレータに関する開発研究、人と福祉を支える技術フォーラム、32、2008
- 12). 永島勲、尾関和秀、生体材料を目的とした DLC コーティング高分子材料の機械的特性評価、平成 19 年度茨城講演会予稿集、53-54、2007
- 13). 吉原裕貴、尾関和秀、スパッタリング法により作製されたハイドロキシアパタイト薄膜の薬剤吸着特性評価、平成 19 年度茨城講演会予稿集、55-56、2007
- 14). 永島勲、佐藤修平、尾関和秀、生体材料を目的とした DLC コーティング高分子材料の機械的特性評価、第 23 回ライフサポート学会予稿集、109、2007
- 15). 吉原裕貴、尾関和秀、スパッタリング法によるハイドロキシアパタイト薄膜の薬剤吸着特性評価、第 23 回ライフサポート学会予稿集、110、2007
- 16). 吉原裕貴、尾関和秀、増澤徹、スパッタ HA 薄膜の薬剤吸着特性、第 20 回アパタイト研究会予稿集、42-43、2007
- 17). 石沢泰輔、木村孝之、増澤徹、二次元集積化磁気センサの応答速度の検討、電気学会東京支部茨城支所研究発表会、PB13、2007

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 準備中 1 件
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金
(医療機器開発推進研究事業：身体機能解析・補助・代替機器開発研究事業)
分担研究報告書

物理刺激による生体接着現象の解明

分担研究者 岸田 晶夫 東京医科歯科大学生体材料工学研究所 教授

研究要旨 振動・熱・圧力によって生体と接着するステントの開発のためには、ステント素材と生体との接着についての詳細な検討が必要である。本研究では、超音波メスおよび新規に開発した超音波振動接合装置を用いて、種々の素材と生体組織との接着性について基礎的な検討を行った。素材としては、高分子材料を用い、両装置による生体組織-素材と接合について詳細に検討した。いくつかの素材と生体組織との接合が可能であり、超音波メスおよび新規に開発した超音波振動接合装置の広範な利用の可能性が示された。

A. 研究目的

循環器系疾患は、先進国における死の最たる原因疾患の1つである。我が国における三大死因である悪性新生物、心疾患、脳血管疾患の占める割合は、それぞれ31.0%、15.5%、13.3%（平成15年人口動態統計）、31.1%、15.5%、12.5%（平成16年人口動態統計）30.1%、16.0%、12.3%（平成17年人口動態統計）であり、循環器系疾患全体の患者数は悪性新生物の4倍である。今後、生活習慣、高齢化を考慮すると、循環器系疾患の患者数は増加すると考えられる。循環器系疾患に対する治療としては、血管修復術やステントグラフト内挿術が代表的である。

我が国では年間約2万人（米国では約50万件）の冠動脈バイパス術が施行されている。現在用いられている代替血管として、自己・異所性の自家血管、および、人工血管として生物由来の生体血管、人工材料で作製される合成人工血管がある。自家血管は、自己組織であるため免疫系が活性されず、優れた開存性を示す。現在の冠動脈バイパス術において自家内胸動脈や自家静脈が一般的に用いられる。しかしながら、用いる血管のサイズ・数共に制限があるため、生体血管、合成人工血管の利用が望まれる。生体血管は、動物、ヒトの血管を化学架橋処理により抗原性を除去すると共に、十分な強度と保存性を期待したものであるが、架橋剤であるグルタルアルデヒドの残存のため、微小動脈の良好な開存は得られていない。合成人工血管は、ダクロン、テフロン、polytetrafluoroethylene (PTFE)などのポリマーを素材とし、内径10mm以上の大口径における移植で

は良好な成績を収めているが、4mm以下の小口径では自家血管に代わり得るものではない。またこれらは、狭窄、血栓症、石灰化、感染などの合併症の危険性を有しており、現在、長期の抗凝血療法による予防が行われているものの、十分満足なものではなく、自家血管に匹敵する優れた開存性を示す新しい人工血管の開発が求められている。

一方、ステントグラフト内挿術とは一般的には大腿部の動脈を切開し、カテーテルを入れ、この管を通じてステントグラフトを瘤の部位に送達、留置させる。これにより大動脈瘤内への圧力がかからず、瘤の破裂を防止できる。ステントグラフトとは、ステント部分とグラフト部分より成り立つ。ステント部分はステンレスの針金をZ状に折り曲げ伸縮性を持たせ、円筒状に丸め、手術用ポリプロピレン糸で連結して作成する。グラフト部分は、通常的人工血管置換術で使用される人工血管と同じダクロンから成っている。このグラフト部分を先のステント部分に被せポリプロピレン糸で固定しステントグラフトを作成する。このステンレスがバネになりグラフトを押し広げられ、その力で正常の径の大動脈壁に人工血管が固定される。ステントグラフト内挿術は、従来手術方法とくらべ非常に低侵襲であるため、高齢者や合併症を持つ人に対してもより安全に行うことができ、出血量の軽減、手術時間、入院期間の短縮をはかることが可能である。しかし、ステントグラフト内挿術は従来的人工血管置換術と異なり、縫合を行っていないため、ステントグラフトと動脈との接着の不全部位から動脈瘤内への血液の漏れ（エンドリーク）が再発してしまう恐

れがある。術後エンドリーク率は腹部大動脈瘤では5%、胸部大動脈瘤では25%とされている。このような状況において、屈曲した大動脈へ良好に密着し、動脈瘤内への血液漏れの再発防止をすることができれば、動脈瘤手術において大きく貢献できると考えた。

血管と良好に接着させるために、超音波によって蛋白質を変性させ、かつ組織損傷を防ぐため、低温度で接着させていることを利用する。超音波メス (Harmonic Scalpel) は、1990年代に開発された装置であり、超音波振動を利用した人体軟組織の凝固、切開に有用な装置として臨床で用いられている。低温で切開、凝固を行うため電気メスに比べ人体組織へ与える熱損傷も極めて少ないこと、組織の炭化に伴う煙が出ずに手術時の視野の確保が容易であるなどの利点を有する。また、使用されている症例も、腹腔鏡、鏡腔鏡手術全般、冠状動脈バイパス術、扁桃腺手術など多岐に渡っている。超音波メスによる接着理論には未だ解明されてないことも多いが、超音波メスによる新しい内胸動脈採取法によると、この蛋白凝固は、超音波振動により細胞蛋白の水素結合が破壊され、コアギュラムと呼ばれる粘性変性蛋白を生じること、また、刃先振動により刃先そのものが80度に達し、蛋白質は63度以上で熱変性することから、これによって蛋白の熱変性癒合が生じるという2つのメカニズムの組み合わせにより完成されるとしている。

昨年度は、超音波メスで起こる生体組織間での凝固作用が、生体組織と人工化合物間でも同様に起こるのではないかと考え、超音波メスを使用した血管と様々な人工化合物との接着条件と接着時の組織損傷に関する検討を行った。人工化合物と生体組織の接着が可能ならば、血管内で固定できるステントや、縫合時に糸を全く使用しない接合法など、医療用器具や外科手技としての応用が可能になる。

本年度は、昨年度までの超音波メス、ナノ振動接合装置を用いた生体-人工化合物の接着に関する基礎研究を基に、新たに開発した超音波振動接合装置を用いた生体-人工化合物の接着に関する検討を行った。

B. 研究方法

B. 1 実験装置

超音波振動発生装置として、Harmonic Scalpel II (ETHCON ENDO-SURGERY, a Johnson &

Johnson) および新規に開発した超音波振動接合装置 (MIWATEC) を用いた。Harmonic Scalpel II は振動周波数 55.5kHz、振動振幅 50~100 μ m、電力出力 LV1-5 の仕様である。ハンドピースとしてはハンドグリップである Laparo Sonic Coagulating Shears (LCS) 型を使用した。

新規超音波振動接合装置は、振動振幅 1.5-5.0 μ m、温度範囲 0-300 $^{\circ}$ C の仕様であり、ハンドピース先端での温度制御、振動条件、圧力の調節が可能である。

B. 2 生体組織材料

生体組織材料としては、食用ブタの大動脈 (東京芝浦臓器 (株)) を用いた。ブタ大動脈から脂肪組織を除去し、平均厚さ 1.0-1.5mm の部位を 15 \times 15mm に成形し、組織サンプルとした。

B. 3 高分子材料

高分子フィルムとしては、①ペレセン、②発泡ポリウレタン、③ポリエステル、④ビニロン、⑤セロファン、⑥コラーゲンシート、⑦シリコーンゴム、⑧高発泡ポリエチレン、⑨ポリエチレン、⑩ダクロン、⑪ポリ塩化ビニル、⑫ケーシングを用いた。

高分子ファイバーとしては、⑬ポリグリコール酸 (PGA)、⑭ポリカプロラクトン (PCL)、⑮ペレセン、⑯PGA-コラーゲン混合、⑰I型コラーゲンを用いた。

種々の高分子材料は 20 \times 10mm のサイズに成形し、接合試験に用いた。

B. 4 接合方法

超音波メスでは、ブレード側が高分子材料、新規超音波振動接合装置では、ヒータ側が高分子材料となるように高分子材料-組織サンプルを把持した。各装置における接合条件の最適化を行うために、種々の出力レベル、温度、振動振幅、把持時間にて接合を行った。

B. 5 評価

B. 5. 1 接合

高分子材料-生体組織の接合は、高分子フィルム側に 50g の錘を吊るし、評価した。

組織損傷、フィルムの破断に関しては目視で判断し、スコアリングを行った。

B. 5. 2 力学試験

接合した各種高分子フィルム-生体組織につい

て引張り試験を行い、接合強度の検討を行った。引張り試験装置は、REONER II CREEP METER RE2-330058 (株) 山電) を使用した。高分子フィルムと生体組織をそれぞれ 30×10mm に成形し、10mm 重ね合わせた部位を各装置にて接合し、接着面積当たりの破断応力を測定した。また、大動脈を層間剥離し、厚さ約 0.5mm に成形した生体組織同士を接合し、同様に引張り試験を行った。

B. 5. 3 組織学的評価

各装置にて比較的高い接合強度を有していた生体組織・ペレセンフィルムの接合サンプルおよび層間剥離し接合させた生体組織同士の接合サンプルを用い、ヘマトキシリン・エオジン(H-E)染色した。

光学顕微鏡にて観察し、各装置での接合に伴う組織損傷について評価を行った。

C. 研究結果

C. 1 生体組織と高分子材料の接合条件の検討

超音波メスおよび超音波振動接合装置による生体組織と接合可能な高分子材料の探索を行った。種々の高分子材料において、ペレセン、発泡ポリウレタン、ポリエステル、ビニロン、セロファン、PGA ファイバー、PGA・コラーゲン混合ファイバーは両装置での接合が可能であった。一方、ポリ塩化ビニル、ダクロン、シリコーンゴム、ポリエチレン、コラーゲンシート、PCL ファイバー、コラーゲンファイバー、ペレセンファイバーでは接合が認められなかった。そこで、生体組織に接合した高分子材料の接合条件を詳細に検討した。

超音波メスでは種々の出力レベル(Lv1, 3, 5)が接合時間に及ぼす効果について検討した。高出力レベル程、短時間での接合が可能であったが、高分子材料の破断や組織損傷が生じることが明らかになった。

超音波振動接合装置では、一定の振動振幅条件下にて設定温度(100, 150, 200°C)が接合時間に及ぼす効果について検討した。設定温度が高い程、短時間で接合することが可能であった。また、超音波メスと比較して、高分子材料の破断や焦げによる組織損傷は殆ど観察されなかった。しかしながら、接合には高温にて長時間を要することが示された。これは、高分子材料の融点と設定温度が寄与していると考えられる。即ち、組織との接合には高分子材料の融解が必須であるが、生体組織の把持による設定温度からの温度低下によりブ

レード温度が高分子材料の融点に到達していない可能性が考えられる。そこで、各設定温度において、接合に伴う経時的な温度変化を検討するために、温度・時間曲線を作成した。組織把持の初期において、著しい温度低下が観察され、設定温度に回復するのに約3分を要することが明らかになった。これらの改善により接合時間の短縮が可能であり、今後の検討課題である。

C. 2 力学試験

接合した生体組織・高分子フィルムについて引張り試験を行い、接合強度を定量的に評価した。接合条件は、各装置における各高分子材料の最適化条件を用いた。

ペレセンフィルムおよび発泡ポリウレタンは両装置において比較的高く接着することが可能であった。生体組織同士の接合では、超音波接合装置の方が超音波メスに比べて、約 1.5 倍の接合強度を有していた。また、ビニロンの接合強度が顕著に低下しているが、接合後に保存液に浸漬したことにより、接着面周囲においてフィルムがゲル状となったためである。ポリウレタン系の高分子材料において高い接合強度がみられたことから、高分子材料の構造、側鎖など化学的接着要因も考えられる。

C. 3 組織学的評価

生体組織・ペレセンフィルムの接合サンプルにおいて、超音波メスでは、接合面近傍での細胞核の変形、空胞化が観察された。一方、超音波振動接合装置では、接合面での組織損傷は認められないが、組織内部においてキャピテーションによる損傷が認められた。また、生体組織同士の接合では、超音波メスのブレードあるいは超音波振動接合装置のヒータと接触していた組織の損傷が観察されたが、接合面において間隙は観察されず、生体組織同士が接合していることが明らかとなった。

D. 考察

超音波メスおよび超音波振動接合装置の各装置において生体組織・高分子材料あるいは生体組織同士の接合が可能であったが、超音波振動接合装置では超音波メスに比べ、より低侵襲であることが分かった。超音波振動接合装置は、接合に特化した仕様になっており、超音波メスに比べ、電気・エネルギーの交換率が高いため、超音波に変

換されずに生じる熱エネルギーが小さく、組織への影響が抑制されたと考えられる。しかしながら、生体組織-高分子材料の接合は、溶融した高分子材料と変性した組織タンパクの絡み合いであると考えられており、超音波振動接合装置では、熱エネルギーが小さいために接合に長時間を要することが分かった。これらの改善により接合時間の短縮が可能であり、今後の検討課題である。

H-E 染色より、生体組織-高分子材料の接合面において、細胞核の変形および空胞化が観察された。これは、超音波によるキャビテーションが生じ、比較的インピーダンスの高い部分においては、強いエネルギーが発生するために組織が破壊され、空胞化したと考えられる。

E. まとめ

本年度は、超音波メスおよび新規に開発した超音波振動接合装置を用いて、生体組織と高分子材料の接合について検討した。まず、生体組織と接合可能な高分子材料の探索を行い、各装置における接合条件の最適化を行った。超音波接合装置では超音波メスとは異なり、低侵襲にて生体組織-高分子材料の接合が可能であった。しかしながら、接合に長時間を要する点が課題である。生体組織間の接合試験では、超音波メスに比べ、接合強度において有意な差が示された。

本研究成果により、新規に開発した超音波振動接合装置が生体組織間あるいは生体組織-高分子材料の接合に有用であることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1). Kwangwoo Nam, Tsuyoshi Kimura, Akio Kishida, Physical and biological properties of collagen-phospholipid polymer hybrid gels, *Biomaterials*, 28, 3153-3162, 2007
- 2). Tsuyoshi Kimura, Sayaka Iwai, Toshiya Moritan, Kwangwoo Nam, Shingo Mutsuo, Hidekazu Yoshizawa, Masahiro Okada, Tsutomu Furuzono, Toshiya Fujisato, Akio Kishida, Preparation of PVA/DNA hydrogels via hydrogen bonds with ultra high pressurization and controlled release of DNA from the hydrogels for gene delivery, *J. Artif. Organs*, 10, 104-108, 2007

- 3). 木村剛、柴久美子、加藤綾子、樋上哲哉、増澤徹、岸田晶夫、ステントグラフト内挿術での応用を目指した生体組織-高分子材料接着装置の開発、東京医科歯科大学生体材料工学研究所年報、41、11-14、2008

2. 学会発表

- 1). Y Ito, T Kimura, T Higami, T Fujisato, A Kato, T Masuzawa, A Kishida., Cell Culture on Nano-Vibrating Surface for Controlling Cell Function, *Tissue Eng*, 13, 1648-1649, 2007
- 2). T. Kimura, K. Shiba, K. Yamamoto, A. Kato, T. Masuzawa, T. Higami, A.Kishida, Polymer-biological tissue adhesion using novel pressure-vibration system, 1st Asiam Biomaterials Congress Abstract, 301, 2007
- 3). 橋本健児、増澤徹、木村孝之、加藤綾子、岸田晶夫、木村剛、ナノ振動負荷時の細胞周りの剪断応力解析、生体医工学第 45 巻特別号プログラム・抄録集、PS1-3-10、2007
- 4). 濱口崇志、増澤徹、加藤綾子、尾関和秀、木村孝之、岸田晶夫、木村剛、樋上哲哉、佐藤裕一郎、山本芳郎、複数低エネルギーの複合化による新しい生体接合技術の開発、生体医工学第 45 巻特別号プログラム・抄録集、PS2-11-8、2007
- 5). 石塚健太郎、増澤徹、加藤綾子、岸田晶夫、ダニエルLティムス、循環系治療機器の工学的評価に関する研究、第5回生活支援工学系学会連合大会講演予稿集、32、2007
- 6). 橋本健児、増澤徹、木村孝之、加藤綾子、岸田晶夫、木村剛、ナノ振動刺激時における細胞膜近傍の剪断応力解析、第5回生活支援工学系学会連合大会講演予稿集、105、2007
- 7). 濱口崇志、増澤徹、加藤綾子、尾関和秀、木村孝之、岸田晶夫、木村剛、樋上哲哉、佐藤裕一郎、低エネルギー複合による生体接合技術の開発、第5回生活支援工学系学会連合大会講演予稿集、185、2007
- 8). 小林亜美子、増澤徹、加藤綾子、木村孝之、橋本健児、岸田晶夫、木村剛、ナノ振動細胞

刺激装置の開発研究、人と福祉を支える技術
フォーラム、75、2008

- 9). 河野貴宏、増澤徹、加藤綾子、濱口崇志、尾
関和秀、木村孝之、岸田晶夫、木村剛、樋上
哲哉、佐藤裕一郎、山本芳郎、カテーテル型
ステント融着マニピュレータに関する開発
研究、人と福祉を支える技術フォーラム、32、
2008

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
準備中
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

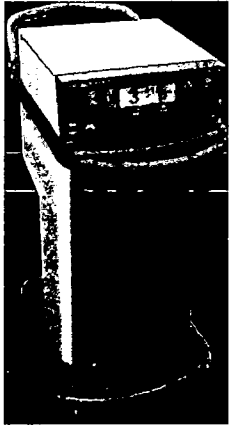


図1 超音波メス (Harmonic Scalpel II)

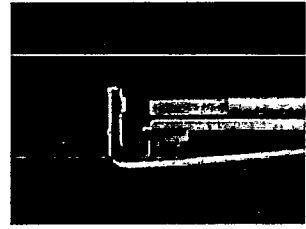
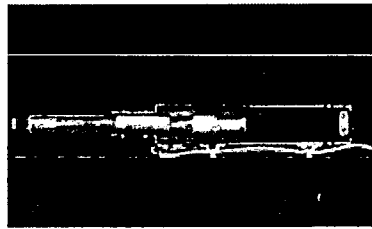
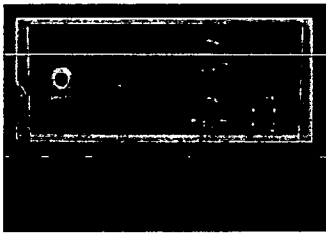


図2 超音波振動接合装置

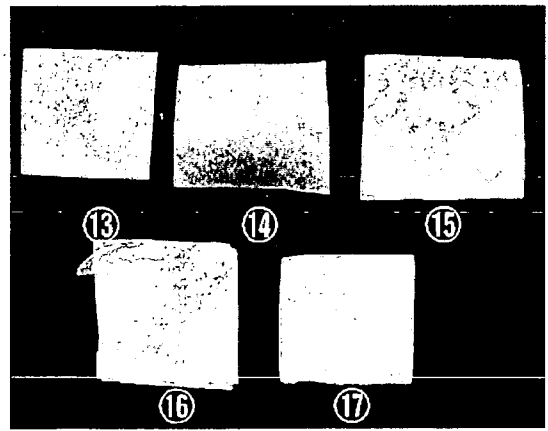
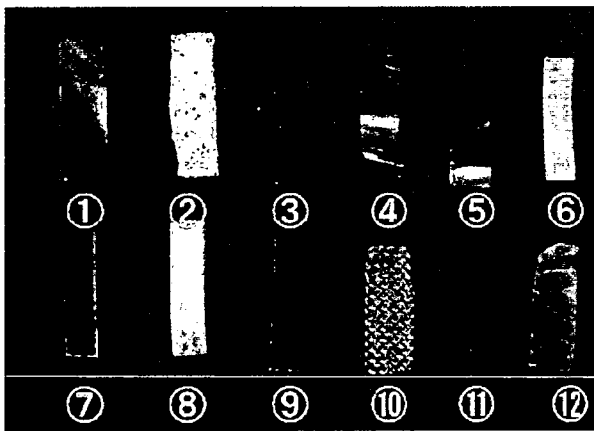


図3 高分子材料

表 1. 各装置における接合結果

Polymer film	Harmonic Scalpel	Ultrasonic device
Pellethane	+	+
The polyurethane	+	+
Polyester	+	+
The vinylon	+	+
Cellophane	+	+
PGA fiber	+	+
PGA-Collagenfiber	+	+

Polyvinyl chloride	-	-
The dacron	-	-
Silicone rubber	-	-
Polyethylene	-	-
Collagen seat	-	-
PCL fiber	-	-
Collagen fiber	-	-
Pellethane fiber	-	-

表 2. 超音波メスでの生体組織-高分子材料の接合条件

Polymer	出力 (Lv)	把持時間 (sec)				
		1	3	5	7	10
Pellethane	1	×	○	□	●	●
	3	○	●	●	●	●
	5	●	●	●	●	●
The polyurethane	1	×	○	○	□	□
	3	×	○	●	●	●
	5	×	●	●	●	●
Polyester	1	×	○	□	●	●
	3	×	○	●	●	●
	5	×	●	●	●	—
The vinylon	1	×	○	□	□	●
	3	○	●	●	●	—
	5	●	●	●	—	—
Cellophane	1	×	×	○	○	○
	3	×	○	○	□	□
	5	×	□	□	□	—
Polyglycolicacid PGA	1	×	×	○	○	○
	3	×	○	○	□	●
	5	×	●	●	●	—
PGA-Collagen	1	×	×	×	○	○
	3	×	×	○	○	□
	5	×	○	●	●	●

○：接合 ×：接合せず △：一部で接合
 □：接合したがフィルム破断，組織損傷あり ●：接合せずフィルム破断，組織損傷あり

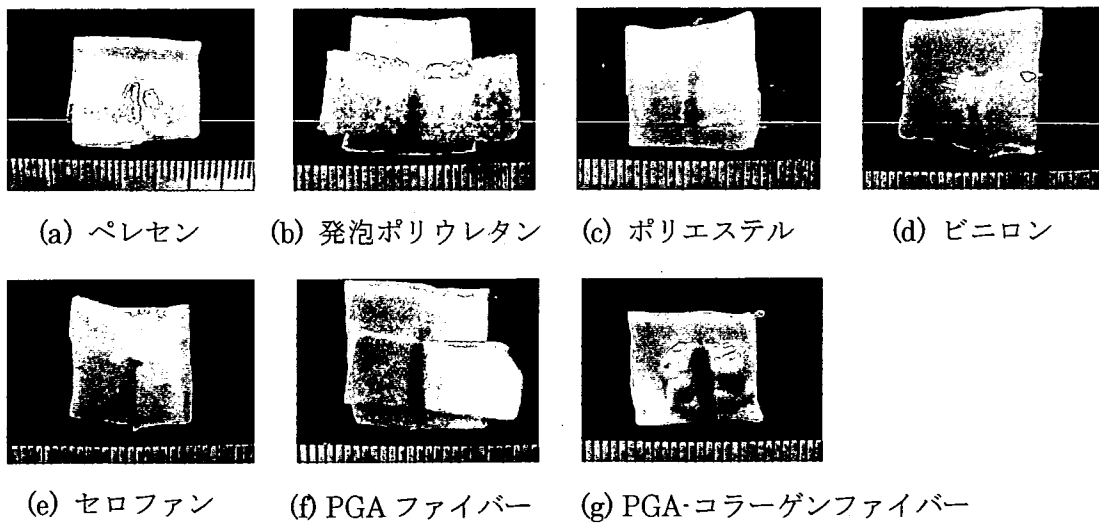


図 4 超音波メスによる生体組織-種々高分子材料の接合様子

表 3. 超音波振動接合装置による生体組織-高分子材料の接合条件

Polymer	振動振幅	温度 (°C)	把持時間(sec)				
			10	30	60	90	120
Pellethane	MAX	100	×	×	×	×	△
		150	×	×	△	○	○
		200	×	○	○	□	□
The polyurethane	MAX	100	×	×	×	×	×
		150	×	×	△	○	○
		200	×	○	○	○	□
Polyester	MAX	100	×	×	×	×	×
		150	×	×	×	×	×
		200	×	○	○	○	□
The vinylon	MAX	100	△	○	●	—	—
		150	○	●	●	—	—
		200	—	—	—	—	—
Cellophane	MAX	100	×	×	×	×	×
		150	×	×	×	×	△
		200	△	○	○	○	□
Polyglycolicacid (PGA)	MAX	100	×	×	×	×	△
		150	×	×	×	△	○
		200	×	△	○	○	□
PGA-Collagen	MAX	100	×	×	×	×	×
		150	×	×	×	×	○
		200	×	×	△	○	○

○ : 接合 × : 接合せず △ : 一部で接合

□ : 接合したがフィルム破断, 組織損傷あり ● : 接合せずフィルム破断

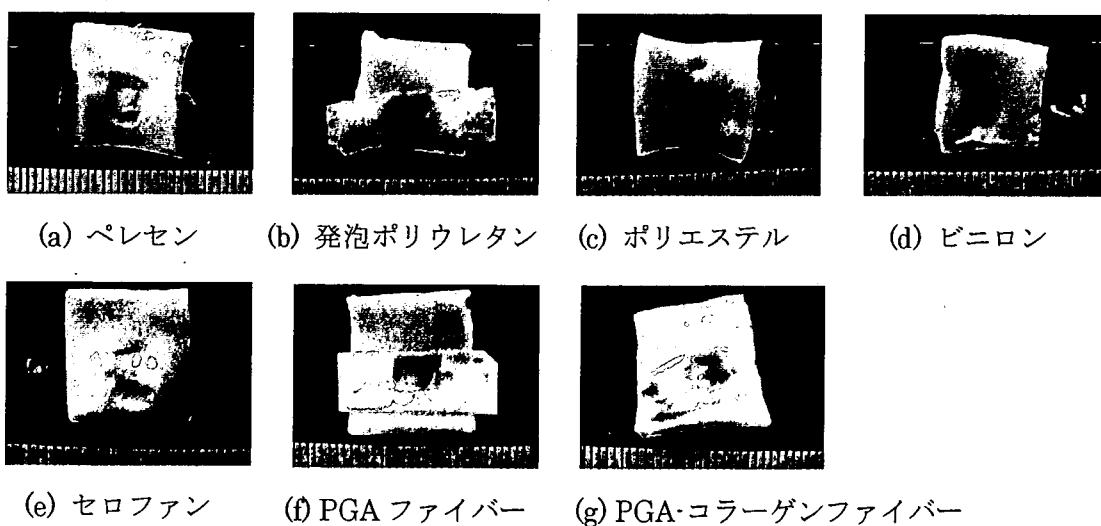


図 5 超音波振動接合装置による生体組織-種々高分子材料の接合様子

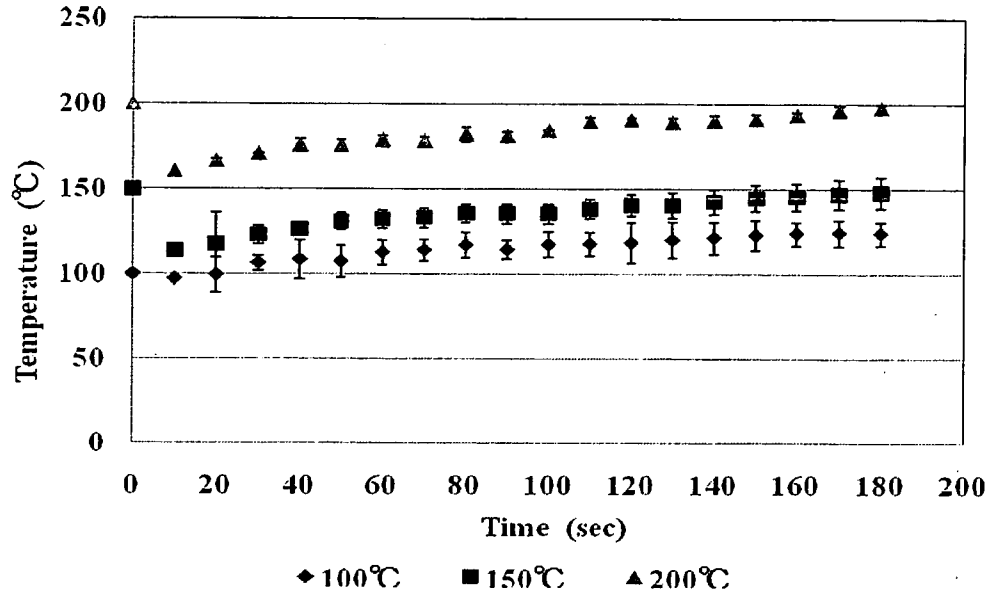


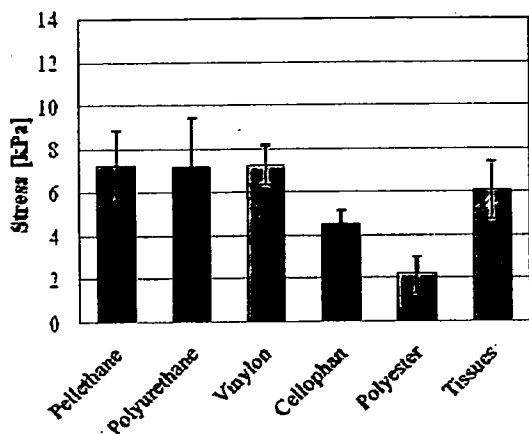
図6 超音波振動接合装置の各設定温度における接合試験中の温度変化

表4. 超音波メスによる引張り試験サンプルの接合条件

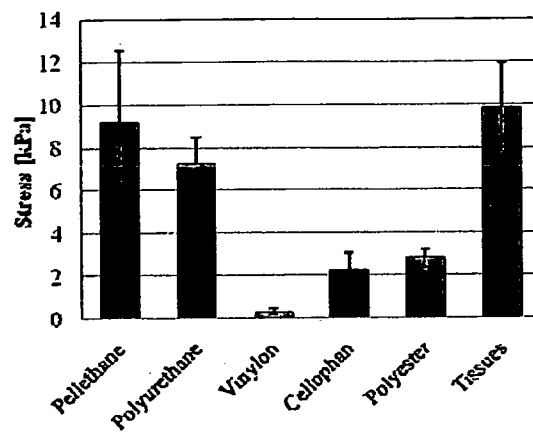
Polymer	出力 (Lv)	把持時間 (sec)
Pellethane	1	3
The polyurethane	1	3
The vinylon	1	3
Polyester	1	3
Cellophane	1	10
Tissues	1	20

表5. 超音波振動接合装置による引張り試験サンプルの接合条件

Polymer	振動振幅	温度 (°C)	把持時間
Pellethane	MAX	200	60
The polyurethane	MAX	200	60
The vinylon	MAX	100	30
Polyester	MAX	200	60
Cellophane	MAX	200	90
Tissues	MAX	200	90



Harmonic Scalpel II

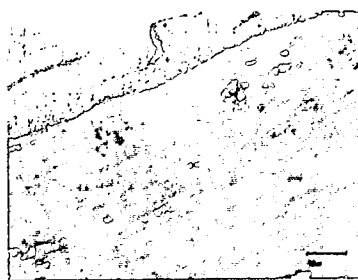


超音波振動接合装置

図7 生体組織-高分子材料および生体組織同士の接着強度



Harmonic Scalpel II

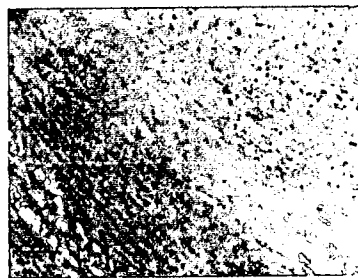


超音波振動接合装置

図8 生体組織-ペレセンフィルム接合サンプルのH-E染色



Harmonic Scalpel II



超音波振動接合装置

図9 生体組織同士接合サンプルのH-E染色

厚生労働科学研究費補助金
(医療機器開発推進研究事業：身体機能解析・補助・代替機器開発研究事業)
分担研究報告書

超音波波動による生体組織接着現象の評価に関する研究

分担研究者 樋上 哲哉 札幌医科大学医学部外科学 教授

研究要旨 ステントの良好な留置を目的とし、超音波接合装置を用いた生体組織—ステントの接合に関して検討を行った。新たに開発した超音波接合装置を用いてカバードステントモデルと大動脈の接合を行った。超音波接合によるカバードステントモデルと大動脈の接合が確認でき、血流再開後もその留置が確認できた。組織学的評価においても超音波接合特有の組織構造を有し、組織損傷も軽微であった。これらより、超音波接合装置の臨床応用の可能性が示された。

A. 研究目的

循環器系疾患は、先進国における死の最たる原因疾患の1つである。我が国における三大死因である悪性新生物、心疾患、脳血管疾患の占める割合は、それぞれ31.0%、15.5%、13.3%（平成15年人口動態統計）、31.1%、15.5%、12.5%（平成16年人口動態統計）30.1%、16.0%、12.3%（平成17年人口動態統計）であり、循環器系疾患全体の患者数は悪性新生物の4倍である。また、狭心症や心筋梗塞などの虚血性心疾患や動脈瘤の患者数は年々増加しており、国内では約100万人が罹患し、年に7万人以上が亡くなっている。今後、生活習慣、高齢化を考慮すると、循環器系疾患の患者数は増加すると考えられる。循環器系疾患に対する医療技術の一つとして、血管修復術やステントグラフト内挿術がある。我が国では年間約2万人（米国では約50万件）の冠動脈バイパス術が施行されており、現在用いられている代替血管としては、自己・異所性の自家血管、および、人工血管として生物由来の生体血管、人工材料で作製される合成人工血管がある。自家血管は、自己組織であるため免疫系が活性されず、優れた開存性を示し、現在の冠動脈バイパス術において自家内胸動脈や自家静脈が一般的に用いられる。しかしながら、用いる血管のサイズ・数共に制限があるため、生体血管、合成人工血管の利用が望まれる。生体血管は、動物、ヒトの血管を化学架橋処理により抗原性を除去すると共に、十分な強度と保存性を期待したものであるが、架橋剤であるグルタルアルデヒドの残存のため、微小動脈の良好な開存は得られていない。合成人工血管は、ダ

クロン、テフロン、polytetrafluoroethylene (PTFE)などのポリマーを素材とし、内径10mm以上の大口径における移植では良好な成績を収めているが、4mm以下の小口径では自家血管に代わり得るものではない。またこれらは、狭窄、血栓症、石灰化、感染などの合併症の危険性を有しており、現在、長期の抗凝血療法による予防が行われているものの、十分満足なものではなく、自家血管に匹敵する優れた開存性を示す新しい人工血管の開発が求められている。

一方、ステントグラフト内挿術とは一般的には大腿部の動脈を切開し、カテーテルを入れ、この管を通じてステントグラフトを瘤の部位に送達、留置させる。これにより大動脈瘤内への圧力がかからず、瘤の破裂を防止できる。ステントグラフトとは、ステント部分とグラフト部分より成り立つ。ステント部分はステンレスの針金をZ状に折り曲げ伸縮性を持たせ、円筒状に丸め、手術用ポリプロピレン糸で連結して作成する。グラフト部分は、通常的人工血管置換術で使用される人工血管と同じダクロンから成っている。このグラフト部分を先のステント部分に被せポリプロピレン糸で固定しステントグラフトを作成する。このステンレスがバネになりグラフトを押し広げられ、その力で正常の径の大動脈壁に人工血管が固定される。ステントグラフト内挿術は、従来手術方法とくらべ非常に低侵襲であるため、高齢者や合併症を持つ人に対してもより安全に行うことができ、出血量の軽減、手術時間、入院期間の短縮をはかることが可能である。しかし、ステントグラフト内挿術は従来的人工血管置換術と異な