

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17年度～19年度 総合研究報告書

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

岸田晶夫 ..... 1

(資料1) 物理刺激による生体接着現象の解明に関する研究

(資料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

(資料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

(資料4) ナノ振動子と制御回路の設計、製作に関する研究

(資料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

II. 研究成果の観光に関する一覧表 ..... 141

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)  
総合研究報告書

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たりしており、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。

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。さらにステントへの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選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。

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年度には、振動周波数が広範囲で可変可能で、振幅は最大約1  $\mu$  m、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血管融着デバイス（以下「鉤型デバイス」）を開発した。さらに平成19年度には、振動周波数を20kHz 固定とし、振幅は最大8  $\mu$  m、血管に与える振動は血管の半径方向に与えるタイプの血管融着デバイス（以下「鉤型デバイス」）を開発した。これには、血管に与える熱の温度を一定に保つ機能を追加した。

## 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。生体組織と接着する材料としてペレセンなどのセグメント化ポリウレタン類が適当であることを見いだした。さらに、本研究で開発したナノ振動接合装置は、生体組織同士の接合についても、超音波メスのそれよりも低侵襲であることを見いだした。

樋上はブタを用いた in vivo 実験を行い、ナノ振動接合装置に要求される性能を明らかにした。本研究で開発した装置では、約 90 秒程度の接着時間が必要であるが、これは許容できるものの、臨床応用のためには 10 秒程度まで短縮されるべきであると結論づけた。これは接着の効果だけでなく、周辺組織への損傷を考慮した結果である。接着の効果自体については、約 30 分間の血流下にさらした後においてもカバードステントが留置されており、本技術の効果が確認できた。

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。融着強度は、融着温度、融着時間にはほぼ比例し、また、融着圧力が大きくなると融着強度が大きくなるのが分かった。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。

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マニピュレータを考案した。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。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概念が構築できた。

さらに、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は生体との付着強度が低いため、付着力の向上を図るため、DLC膜の形成法を開発し、これにより良好な付着強度を維持できることを明らかにした。

木村はステントの高速位置決めシステムについて検討した。回転モーターの高速制御システムの流用を考案し、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。

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。設定温度に到達するには約 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、生体と接着するステントグラフトの人工血管部分が、高分子のフィルム状の場合に、産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がなされ、生体組織との混和が効率的になされ、接合されると考えた。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、安全装置として産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。

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。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い、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ことを見いだした。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2.14μmとなり、融着に必要な全振幅の目標値1.0μm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ことが明らかとなった。

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、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。本研究成果により、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が行えた。

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・検証を行い、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. 書籍

- 1). 岸田晶夫、生体適合性評価法、樋口亜紺編 医療用マテリアルと機能膜、東京：シーエムシー出版；2005、pp51-60
- 2). 岸田晶夫、人工心臓膜、樋口亜紺編 医療用マテリアルと機能膜、東京：シーエムシー出版；2005、pp82-88
- 3). 樋上哲哉、冠動脈外科の Knack & Pitfalls2. グラフトの準備 2) 内胸動脈 (ITA)、竹内靖夫編 心臓外科 Knack & Pitfalls 冠動脈外科の要点と盲点、東京：文光堂；2005、pp96-99
- 4). 樋上哲哉、冠動脈外科の Knack & Pitfalls2. グラフトの準備 2) 内胸動脈 (ITA) one point ITA の長所と短所 or/with 使用法と吻合のコツ、竹内靖夫編 心臓外科 Knack & Pitfalls 冠動脈外科の要点と盲点、東京：文光堂；2005、pp100
- 5). 樋上哲哉、冠動脈外科の Knack & Pitfalls2. グラフトの準備 6) composite graft の適応と作成 one point ハーモニックカルペルの使い方、竹内靖夫編 心臓外科 Knack & Pitfalls 冠動脈外科の要点と盲点、東京：文光堂；2005、pp101

### 2. 論文発表

- 1). 樋上哲哉、21世紀の冠動脈バイパス術 2.off-pump CABG (OPCAB) を検証する OPCAB 時代における各種グラフトの特徴と採取法、HEART nursing18(3); 2005、pp301-306
- 2). 花田智樹、樋上哲哉、金築一摩、清水弘治、今井健介、本田祐、菊池慶太、高リスク例に対する OPCAB [Off-pump coronary artery bypass in high-risk patients]、胸部外科、59 巻 6 号、433-439、(2006)
- 3). Yuichi Asakawa, Akio Funakubo, Kazuyoshi Fukunaga, Ichiro Taga, Tetsuya Higami, Tsuyoshi Kawamura, Yasuhiro Fukui, Development of an Implantable Oxygenator with Cross-Flow Pump, ASAIO J, 52 (3), 291-295 (2006)
- 4). Shuzo Ohata, Yutaka Ishibashi, Toshio Shimada, Nobuyuki Takahashi, Takashi Sugamori, Takeshi Sakane, Yoshifumi Hirano, Nobuyuki Oyake, Yo

- Murakami, Tetsuya Higami, Effects of oral beraprost sodium, a prostaglandin I2 analogue, on endothelium dependent vasodilatation in the forearm of patients with coronary artery disease, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 33(4), 381-387 (2006)
- 5). 片岡佳樹、仁尾義則、矢野誠司、小池誠、橋本幸直、板倉正幸、板垣友子、西健、遠藤真一郎、樋上哲哉、Cisplatin 肝動注療法と TS-1 経口投与が奏功した膵腺房細胞癌肝転移の 1 例 Pancreatic acinar cell carcinoma successfully treated with combination of oral TS-1 and intra-arterial cisplatin、癌と化学療法、33 卷 4 号 525-528 (2006)
  - 6). 菊池慶太、樋上哲哉、下肢静脈瘤、手術、60 卷 4 号、451-456 (2006)
  - 7). 樋上哲哉、ITA の skeletonization、CIRCULATION Up-to-Date、1 卷 1 号、64-73 (2006)
  - 8). 菊池慶太、樋上哲哉、今井健介、山下暁立、若林景子、寺田真也、山岡政信、金築一摩、清水弘治、花田智樹、石灰化狭小大動脈弁に対する弁置換術 超音波手術器を用いた石灰除去の有用性 Aortic valve replacement for calcified aortic valve and annulus with ultrasonic decalcification、胸部外科、59 卷 4 号 301-305 (2006)
  - 9). Yoshihiko Kurimoto, Mamoru Hase, Satoshi Nara, Naoya Yama, Nobuyoshi Kawaharada, Kiyofumi Morishita Tetsuya Higami, Yasufumi Asai, Blind Subxiphoid Pericardiotomy for Cardiac Tamponade Because of Acute Hemopericardium, *J Trauma*, 61(3), 582-585, (2006)
  - 10). Kwangwoo Nam, Tsuyoshi Kimura, and Akio Kishida. Influence of cross-linking on physicochemical and biological properties of collagen-phospholipid hybrid gel, *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.*, 2006, 31, No.2, 735-738.
  - 11). Tsuyoshi Kimura, Kwangwoo Nam, Shingo Mutsuo, Hidekazu Yoshizawa, Masahiro Okada, Tsutomu Furuzono, Toshiya Fujisato, Akio Kishida, Gene Transfection Using Inorganic Particle/PVA/DNA Complexes Prepared by Ultra High Pressure Technology, *Molecular Therapy*, 2006, 13, S75
  - 12). Masahiro Okada, Syoji Yasuda, Tsuyoshi Kimura, Mitsunobu Iwasaki, Seishiro Ito, Akio Kishida and Tsutomu Furuzono, Optimization of amino group density on surfaces of titanium dioxide nanoparticles covalently bonded to a silicone substrate for antibacterial and cell adhesion activities, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2006, 76A, 95-101
  - 13). Chiaki Yoshikawa, Atsushi Goto, Yoshinobu Tsujii, Takeshi Fukuda, Tsuyoshi Kimura, Kazuya Yamamoto, and Akio Kishida, Protein Repellency of Well-Defined, Concentrated Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Brushes by the Size-Exclusion Effect, *Macromolecules*, 2006, 39, 2284-2290
  - 14). K Nam, T Kimura, A Kishida, Physical and biological properties of collagen-phospholipid polymer hybrid gels, *Biomaterials*, 28, 3153-3162, 2007
  - 15). 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
  - 16). 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年報、41、11-14、2008
3. 学会発表
    - 1). 岸田晶夫、木村剛、草間淳、石丸正臣、増澤徹、藤里俊哉、“微小振動による細胞の接着制御の検討”平成17年度繊維学会年次大会、60(2) : pp41、2005

- 2). A.Kishida, T.Kimura, T.Furuzono, T.Fujisato, T.Masuzawa, “NANO-VIBRATING CELL CULTURE SYSTEM FOR TISSUE ENGINEERING” 4th Annual Meeting of the European Tissue Engineering Society, ppL II, 2005
- 3). 岸田晶夫, “医療デバイス開発における医用高分子” 第 23 回医用高分子研究会講座, pp38-41, 2005
- 4). 能田高行, 増澤徹, 樋上哲哉, 岸田晶夫, 佐藤裕一郎, “Quicl touch 術式効果の工学的評価と超音波メス制御方式の検討” 第 3 回生活支援工学系学会連合大会, pp42, 2005
- 5). 増澤徹, 草間淳, 木村孝之, 柴田隆行, 岸田晶夫, 木村剛, “ナノ微小振動と細胞” 第 3 回生活支援工学系学会連合大会, pp80, 2005
- 6). 濱口宗志, 能田高行, 加藤綾子, 岸田晶夫, 木村剛, 樋上哲哉, 増澤徹, “超音波メス制御による手術支援に関する研究” ライフサポート学会 人と福祉を支える技術フォーラム, pp8, 2006
- 7). 伊藤由樹子, 大富美智子, 草間淳, 増澤徹, 南広祐, 木村剛, 藤里俊哉, 岸田晶夫, “細胞機能制御を目指した種々の細胞への機械的微小振動に関する研究” 日本再生医療学会総会, (19)2 : pp19, 2006
- 8). J.Kusama, T.Kimura, T.Shibata, A.Kishida, T.Masuzawa, “Cell function control by nanovibrations” Proceedings of The First International Student Conference at Ibaraki University, pp211-214, 2005
- 9). T.Shibata, Y.Makita, T.Masuzawa, A.Kishida, E.makino, T.Mineta, “Development of bio-microdevice actuated by piezoelectric thin film for cell culture” 5th euspen International Conference, pp777-780, 2005
- 10). 吉田典央, 柴田隆行, 水上良明, 堀内宰, 増澤徹, 岸田晶夫, 峯田貴, 牧野英司, “細胞機能制御のための圧電駆動型バイオマイクロデバイスの開発” 2005 年精密工学会秋期学術講演会, pp87-88, 2005
- 11). 伊藤圭介, 柴田隆行, 水上良明, 堀内宰, 増澤徹, 峯田貴, 牧野英司, “オンチップ細胞サージェリーシステムのためのナノニードルアレイの開発—シリコンのドライエッチングの評価—” 2005 年精密工学会秋期学術講演会, pp93-94, 2005
- 12). 高橋洋一, 柴田隆行, 水上良明, 堀内宰, 増澤徹, 峯田貴, 牧野英司, “ニッケル電鍍金型を用いたマイクロプリント技術の開発” 2005 年精密工学会秋期学術講演会, pp117-118, 2005
- 13). 吉田典央, 柴田隆行, 堀内宰, 増澤徹, 岸田晶夫, “細胞機能制御のための MEM 細胞加振デバイスの開発” 電気学会研究会—リニアドライブ研究会—, pp57-60, 2005
- 14). 樋上哲哉, 花田智樹, 本多 祐, 今井健介, 清水弘治, 金築一摩, 坪島顕司, 西尾 渉, “Total arterial graft による冠血行再建術の問題点 -All in-situ grafting の功罪-” 第 35 回日本心臓血管外科学会学術総会, 2005
- 15). 樋上哲哉, “CABG における RITA の最大有効活用法と ITA sequential bypass のツボ” 第 35 回日本心臓血管外科学会学術総会, 2005
- 16). Taga I, Funakubo A, Higami T, Kawamura T, Fukui Y, “Study On Evaluation Of Artificial Implantable Lung Design ” 51th ASAIO (American Society for Artificial nternal Organs), 2005
- 17). K.Takasaki, T.Kimura, T.Masuzawa, Development of two- dimentional magnetic sensors for characteraization of magnetic levitated motors” Proceedings of The First International Student Conference at Ibaraki University, pp219-222, 2005
- 18). 高崎慶吾, 木村孝之, 増澤徹, “モーターの制御を目的とした二次元集積化磁気センサ読み出し速度の向上に関する研究”, 平成 17 年度 電気学会東京支部茨城支所研究発表会, pp75, 2005



- 19). 高崎慶吾、木村孝之、増澤徹、“磁気浮上モーターの特性評価を目的とした二次元磁気センサの計測” 電気学会研究会ーリニアドライブ研究会ー、pp35-38、2005
- 20). 伊藤由樹子、木村剛、南広祐、加藤綾子、増澤徹、岸田晶夫、細胞分化への機械的微小振動刺激の影響に関する検討、第9回組織工学会
- 21). 伊藤由樹子、木村剛、南広祐、加藤綾子、増澤徹、岸田晶夫、機械的微小振動刺激の細胞分化に及ぼす影響に関する検討、第4回生活支援工学系学会連合大会
- 22). 橋本健児、草間淳、加藤綾子、岸田晶夫、木村剛、木村孝之、増澤徹、ナノ振動が細胞に与える影響、第4回生活支援工学系学会連合大会
- 23). 濱口崇志、加藤綾子、岸田晶夫、木村剛、樋上哲哉、増澤徹、振動エネルギー利用による生体接合技術の開発、第4回生活支援工学系学会
- 24). 岸田晶夫、田村千都、栗田公夫、伊藤由樹子、増澤徹、加藤綾子、木村剛、機械的微小振動によるリバーストランスフェクション効率促進、第6回再生医療学会
- 25). 加藤綾子、増澤徹、樋上哲哉、岸田晶夫、佐藤裕一郎、超音波メス制御による手術支援、第4回日本生体医工学会大会
- 26). 増澤徹、加藤綾子、草間淳、木村孝之、岸田晶夫、木村剛、柴田隆行、ナノ振動と細胞機能制御、第4回日本生体医工学会大会
- 27). Ayako Katoh, Toru Masuzawa, Optimized design for a hybrid magnetic bearing for the artificial heart, Tenth International Symposium on Magnetic Bearings, 187-186, 2006
- 28). 濱口崇志、加藤綾子、尾関和秀、岸田晶夫、木村剛、樋上哲哉、増澤徹、振動エネルギー利用による生体接合技術の開発、日本人工臓器学会大会
- 29). 中山直久、増澤徹、加藤綾子、鈴木健一、人工心臓用磁気軸受の最適設計、茨城講演会
- 30). 松本良平、尾関和秀、平栗健二、福井康裕、高分子材料への DLC 膜形成とトライボロジー評価、第3回生活支援工学系学会連合大会講演予稿集、1P1-31, P42 (2006.9.12~14)
- 31). Ryohei Matsumoto, Kazuhide Ozeki, Kenji K Hirakuri, Yasuhiro Fukui, Tribological properties of DLC films deposited on dental and biomedical polymers, The 3rd Asia International Conference on Tribology, P453-454 (2006.10.16-19)
- 32). T.Kimura, K.Takasaki, T.Masuzawa,, Characteristics of Two-Dimensional Integrated Magnetic Sensor for Position Sensing and Motor Controlling, IEEJ Trans., Vol. 1, 188-193, 2006
- 33). 石沢泰輔、高崎慶吾、木村孝之、増澤徹、“集積化磁気センサにおけるホール素子の構造改善による出力向上” 電気学会東京支部茨城支所研究発表会、pp.46、(2006)
- 34). 石沢泰輔、高崎慶吾、木村孝之、増澤徹、“二次元集積化磁気センサのホール素子構造の改善” 映像情報メディア学会、情報センシング研究会、(2007)
- 35). K Nam, T Kimura, T Fujisato, T Nakatani, S Kitamura, A Kishida, Influence of Nano-vibration stimuli on cell differentiation for Tissue engineering, World Cong. on Tissue Eng. & Regenerative Med, 2006
- 36). T Kimura, Y Ito, T Fujisato, T Masuzawa, A Kishida, Influence of Nano-vibration stimuli on cell differentiation for Tissue engineering, TERMIS-EU, 160, 2006
- 37). D Terada, K Sawada, H Ogata, K Yoshida, S Funamoto, T Fujisato, A Kishida, N Nagaya, T Nakanani, S Kitamura, Development of bioscaffold preserving collagenic structure in biological tissue, TERMIS-EU, 176, 2006

- 38). 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
- 39). 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
- 40). 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
- 41). 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
- 42). 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
- 43). 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
- 44). 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
- 45). 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
- 46). 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
- 47). 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
- 48). 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
- 49). 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
- 50). 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
- 51). 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
- 52). 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
- 53). 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
- 54). 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
    - 1). 特願 2006-55619、岸田晶夫、増澤徹、樋上哲哉、生体組織接着装置、2006 年 3 月 1 日
    - 2). 特願 2006-55620、岸田晶夫、増澤徹、樋上哲哉、生体組織接着性医療器具、2006 年 3

月1日

3). 出願準備中

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし

## 物理刺激による生体接着現象の解明に関する研究

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** 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、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、高分子材料を用いた。種々の超音波メスによる接着条件にて生体一素材と接着について詳細に検討した結果、いくつかの素材と生体組織との接着が可能であり、超音波メス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1,324千人で、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。

また、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いないことも多いが、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。

本研究では、超音波メスで起こる生体組織間での凝固作用に着目し、生体組織間、人工化合物-生体組織の接合を可能とする装置開発のために物理刺激による生体接着現象に関する基礎的検討を行った。これにより、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と考えられる。

## B. 研究方法

超音波振動発生装置としては、Harmonic Scalpel II (ETHICON ENDO-SURGERY a Johnson & Johnson company,) を用いた。振動周波数 55.5kHz 電力出力 LV1~5、振幅が 50~100 $\mu$ m の仕様である。ハンドピースとしては、ハンドグリップの LaparoSonic Coagulating Shears(LCS)型を使用した。ナノ振動発生器を含むハンドピース、ナノ振動制御装置、レーザー発生装置から成るナノ振動接合装置を用いた。ナノ振動周波数は0~30

kHz、レーザー出力範囲は0~3.0Wのスペックを有する。新規超音波振動接合装置は、振動振幅 1.5-5.0 $\mu$ 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。

生体組織材料としては、食用ブタの大動脈、心膜、腹膜を用いた。それぞれの組織をトリミングし、約15 $\times$ 15mmの組織片に調製した。人工化合物としては、44T-T71 4410、155T 71L X633、ESPA、コラーゲン、プラチナ、セロファン、ビニロン、ポリウレタン、ダクロン、ポリエステル、シリコーンゴム、ポリ塩化ビニル、ポリエチレンなどのフィルム加工したものを用いた。それぞれのフィルムの厚さは0.1~0.5mmの範囲にあった。また、高分子ファイバーとしては、ポリグリコール酸 (PGA)、ポリカプロラクトン (PCL)、ペレセン、PGA-コラーゲン混合、I型コラーゲンを用いた。

各装置のブレードで生体試料同士あるいは高分子フィルムを重ねて挟み、様々な振動条件(出力、周波数、把持時間)にて接合を検討した。組織損傷については、ヘマトキシリン-エオジン染色により組織染色学的に評価した。

## C. 研究結果

まず、組織損傷を調べるために、超音波メスの種々のレベル、時間にて処理した。LV1にて超音波処理した結果、1,3,5,10秒では組織損傷は観察されなかった。LV3においては、1秒ではほとんど損傷は観察できず、3秒でも若干損傷が認められた程度であり、5秒以上では処理部分が陥没し、損傷が見られた。最大レベルであるLV5においては、1秒では少々の組織陥没が見られたが、損傷程度は低いと考えられる。3秒以上では、組織陥没と組織損傷が認められ、さらに、5秒以上では、切断された。

糸状の高分子素材である 44T-T71 4410、155T 71L X633、ESPA を用い、超音波メスによる血管との接合を試みた。この際、血管の内壁側、外壁側での接着性を検討した。44T-T71 4410においては、LV3で行った場合、1秒間の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着しなかった。3秒の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着し、組織損傷もほとんど示されなかった。LV5で行った場合、1秒間の超音波振動でも内壁側、外壁側とも接着し、3秒の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着したが、組織損傷が示された。155T 71L X633においては、LV3で行った場合、1秒間の超音波

振動では、内壁側、外壁側とも接着しなかった。3秒の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着したが、内壁側では、糸が切断され、組織損傷が若干示された。LV5で行った場合、1秒間の超音波振動でも内壁側、外壁側とも接着し、組織損傷は示されなかったが、3秒の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着したが切断され、組織損傷が示された。ESPAにおいては、LV3で行った場合、1秒間の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着し、組織損傷もなかった。3秒の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着したが、内壁側では、糸が切断され、組織損傷が示された。LV5で行った場合、1秒間の超音波振動でも内壁側、外壁側とも接着し、組織損傷は示されなかったが、3秒の超音波振動では、内壁側、外壁側とも接着したが切断され、組織損傷が示された。

これまで、糸状の高分子化合物を用いていたが、形状の影響を検討するため、上記の44T-T71 4410、155T 71L X633、ESPAを有機溶剤に溶解し、キャスト方にてフィルム作製を行った。ESPAはDMFに溶解することが分かり、種々の濃度でESPAをDMFに溶解し、所定量をシャーレに入れ、真空中、80℃にてキャストフィルムを作製した。フィルムNo1,2,3,4,5を大動脈と超音波振動により接着を行った。LV3,5で、圧着時間を1,3秒にて検討した。膜厚が薄いほど、低レベル、短時間での超音波振動により組織接着が可能であり、膜厚が厚いほど、高レベル、長時間の超音波振動を要する傾向であった。しかしながら、高レベル、長時間の超音波振動では、過剰の熱エネルギーのためフィルムが切断された。また、組織損傷については、低レベル、短時間の超音波振動では、ほとんど損傷は見受けられなかったが、高レベル、長時間の超音波振動により、損傷が認められた。

フィルム状の素材として、ビニロン、ウレタン、ダクロン、セロハン、ポリエステル、コラーゲンをを用い、超音波振動による血管との接着を検討した。人工高分子であるビニロン、ウレタンは、超音波振動により血管との接着が示された。しかし、ポリエステル、ダクロン、セロハンは、超音波振動により血管との接着は示されなかった。おそらく、融点に影響していると考えられる。一方、天然の高分子であり、血管の成分の一つであるコラーゲンは、乾燥状態では接着が示されなかったが、ある程度、湿らすことで接着が可能であった。これは、振動・熱エネルギーの伝達が関係したものと考えられる。組織損傷について、超音波振動後の血管組織についてヘマトキシリン-エオジン

染色にて評価した。用いたサンプルは、ESPAフィルム(膜厚0.3mm、0.007)、ビニロン、ウレタン、コラーゲンである。低レベル、短時間の超音波振動ほど組織損傷程度は低く、高レベル、長時間の超音波振動により組織損傷が激しかった。これは、目視観察の結果と同様であった。ヘマトキシリン-エオジン染色による組織染色学的評価においては、より詳細な知見が得られた。ESPAフィルムを用いた場合、厚みの影響が示された。LV3、1秒間の超音波振動では、膜厚による違いは得られず、フィルムを使用しない場合と同程度であり、表面付近での細胞破壊は観察されるものの、コラーゲンの変性は見られなかった。LV3、3秒間の超音波振動でも膜厚による違いは得られず、フィルムを使用しない場合と同程度であり、表面付近とさらに深度深い部位での細胞破壊がみられ、コラーゲンの変性・破壊は認められなかった。LV5、1秒間の超音波振動でも膜厚による違いは得られず、フィルムを使用しない場合と同程度であり、細胞の破壊に加え、コラーゲンの変性が若干認められ、構造の劣化が示された。LV5、1秒間の超音波振動でも膜厚による違いは得られず、コラーゲン変性が進行し、構造の劣化が著しく、フィルムを使用しない場合と同程度であった。ビニロン、ウレタン、コラーゲンを使用した場合も、その物質の影響はほとんど示されず、組織損傷には、出力レベルと振動時間が影響することが分かった。

ナノ振動接合装置を用いて、セロファン、ビニロン、ポリエステル、ポリウレタンと生体組織との接着について検討したところ、それらの接着が認められた。接着の様子を比較すると、ナノ振動接合装置では超音波メスよりも少ない組織損傷で接着させることができた。出力の小さいナノ振動接合装置では、超音波メスで接着したフィルムでも接着に至らなかった場合があった。一方、ポリ塩化ビニル、ダクロン、シリコーンゴムでは出力・周波数に関わらず接着が認められなかった。また、ポリエチレンでは接着されず融解した。ナノ振動接合装置で接着した高分子材料について、接着温度の検討を行った。大動脈、腹膜と高分子材料の接着温度をそれぞれ接着装置先端に搭載した温度センサーにより検出した。接着温度はフィルムにより異なり、大動脈、腹膜での接着では、

[低] ビニロン<セロファン<ポリエステル  
<ポリウレタン [高]

の順であった。接着温度は各高分子材料の融点に影響すると推察される。出力、把持時間、周波数

の影響についてナノ振動接合装置にて詳細に調べた。ナノ振動接合装置では振動周波数が 0~30kHz に調節できるため、振動の影響を検討できると考えた。セロファンでは出力が高くなるほど接着が容易になった。周波数が 0 で熱のみを加えた場合でも接着が認められた。大動脈よりも膜厚が薄い腹膜の方が低い出力、短い把持時間で接着が認められた。膜厚が薄い方が組織の温度上昇が速く、高分子材料の温度も速く上がり接着温度に到達したからだと考えられる。セロファン以外の高分子材料でも同様のことが言える。ビニロンは、生体組織との接着温度が低いため、低い出力、短い把持時間での接着が認められた。しかし、フィルムが溶けやすいため、安定して接着させるのが困難だった。ポリウレタンは接着温度が高いため、ポリエステルと同様にナノ振動接合装置の最大出力である 3.0W の場合のみ接着が認められた。ここでも周波数が高くなるほど接着が容易になり、生体組織と高分子材料の接着に振動が影響を及ぼすことが示唆される。

超音波振動接合装置を用いて、種々の高分子材料と生体組織との接合を検討した。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℃) 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。接合強度を評価するため接合試料の引張試験を行った。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強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。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。

#### D. 考察

超音波振動による生体組織-高分子材料の接着については、糸状の高分子材料では、接着が起こりやすい以下の条件が分かった。

接着には糸と同じ側に超音波メスのブレードをあてる必要があることが明らかとなった。今回用いたブタ大動脈の厚みが厚いため、振動のブレードを動脈側に当てた場合、振動により熱エネルギーが発生するものの、反対側の高分子材料まで伝達されないため、高分子材料が溶解せず、血管との接着がなされなかったと考えられる。薄い動脈を用いた場合、接着したことから言える。

トリミングは行ったほうが良いことが明らかとなった。血管のトリミングにより血管本体を覆うタンパク質を除くことで、血管本体と接着させることが可能となり、高分子材料との強固な接着がなされることが考えられる。

弱い電力レベルで長時間行うよりも、強い電力レベルで、短時間行ったほうが、接着しやすいことが明らかとなった。用いた高分子材料が糸上であることからブレードとの接触面積が小さく、低レベル、長時間の超音波振動では、産生される熱エネルギーが拡散し、高分子の溶解効率が低くなると考えられる。一方、高レベル、短時間の超音波振動では、産生される熱エネルギーが拡散しにくく、高分子の効率的な溶解がなされていると考えられる。糸は 1 本よりも多くの本数をねじったり束ねたほうが接着しやすく、切断しにくくなる。

熱エネルギーの伝達効率が関与していると考えられる。すなわち、糸上の高分子材料を束ねることで接触面積が大きくなり、産生される熱エネルギーの伝達が効率的になされる。また、接触面積が大きくなったため、抵抗（摩擦）が増し、産生される熱エネルギーも大きくなったと考えられる。

超音波メスのブレードは、より大きい面を押し当てるようにしたほうが接着しやすいことが明らかとなった。熱エネルギーの産生にブレードの大きさが関与していると考えられる。今回用いた超音波発生装置は、ブレードの種類によらず、5.5 kHzの一定の周波数を有する。周波数が一定であれば、接触面積の大きなブレードを用いるほど、抵抗（摩擦）が大きく、得られる熱エネルギーも大きいと考えられる。

濡れていると接着しにくくなることが明らかとなった。今回の接着エネルギーとしては、熱エネルギーを選択している。このことから、水分の熱拡散は大きいため、接着面に水分があると接着しにくくなったと考えられる。これは、接着の一般論と同様である。糸同士でも接着する（多少弱い接着）。これまで述べてきたのと同様に、超音波振動により産生される熱エネルギーにより、高分子が融解し、高分子同士の絡み合いがおこる。温度が下がり、その状態のまま固化するため、物質の接着がなされる。

糸状の高分子材料をフィルム状に成型した場合の生体組織-高分子材料の接着について、膜厚について検討した。その結果、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。これについては、熱の伝達効率が関係していると考えられる。超音波振動は、抵抗性の材料と接触し、その摩擦により振動エネルギーが熱エネルギーに変換される。今回、膜厚が異なるだけで、ブレードの高分子材料への接触面積は変わらない。すなわち、産生される熱エネルギーは同じである。その結果、薄い膜厚のフィルムで接着しやすくなったと考えられる。しかしながら、今回用いたフィルムは非常に薄いため、LV5、3秒の高エネルギー条件では、過剰の熱エネルギーによりフィルム自体が切断された。従って、使用する高分子材料の膜厚、物性に応じた超音波振動が必要である。これは、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、エネルギー産生量の計測システムを導入し、安全装置として産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。

組織損傷については、産生される熱エネルギーに依存した形での損傷レベルであった。すなわち、低レベル、短時間の超音波振動では組織損傷は低く、高レベル、長時間の超音波振動ほど組織損傷が見られた。超音波振動した血管のヘマトキシリン-エオジン染色では、LV3、1秒間の場合に血管表面付近での細胞破壊が見られ、時間の延長にともない、深部での細胞破壊が見られた。これは、振動時間の延長により熱エネルギー量が穏やか増加し、組織深部に伝達されたと考えられる。一方、LV5、1秒の超音波振動では、表面付近での細胞破壊に加え、コラーゲンの変性が見られた。これは、高レベルでは熱エネルギーの産生速度が速く、組織周辺への熱伝達がされず、コラーゲンの変性温度になったと考えられる。さらに時間延長した場合は、コラーゲンの変性が激しかった。以上より、今後、材料との接着においては、組織損傷が起さず効率的に接着させる条件検討あるは装置開発が重要である。

ナノ振動装置による生体組織-高分子材料の接着については、生体組織-高分子材料の接着を行うことが可能で、目視ではナノ振動接合装置を用いる方が組織侵襲は少ないことが明らかとなった。低出力、長時間の振動では、産生される熱エネルギーが拡散し、高分子の溶解効率が低くなるが、組織侵襲は少なく接着させることができた。

生体組織-高分子材料の接着には、高分子材料の性質が影響することが明らかとなった。接着温度に到達するには、高分子材料の融点に達しなければならないと考えられ、各物質の融点が接着温度に影響すると推察される。接着温度は大動脈、腹膜ともほぼ同様の値だったため、接着温度は生体組織の種類によらず、高分子材料の性質が影響を与えると考えられる。

生体組織の膜厚は薄い方が接着しやすいことが明らかとなった。フィルムの膜厚ではなく、生体組織の種類を変えることで膜厚の影響を検討することができた。これまで述べてきたように、生体組織と接着可能な高分子材料についてはその材料の種類に関わらず、大動脈よりも膜厚の薄い腹膜において接着が容易だった。これについては、熱の伝達効率が関係していると考えられる。使用する高分子材料の膜厚、物性に応じた超音波振動の検討が必要である。これは、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、エネルギー産生量の計測システムを導入し、安全装置として産生される熱



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。

熱のみでも接着は可能であるが、振動を与えることで接着が容易になることが明らかとなった。ナノ振動接合装置では、ナノ振動により細胞蛋白の水素結合が破壊され、コアグュラムと呼ばれる粘性変性蛋白を生じること、レーザー発生装置により刃先が熱せられることにより蛋白質の熱変性を生じさせ、これによって蛋白の熱変性癒合が生じると考える。熱のみでも細胞蛋白の水素結合の破壊は起こるだろうが、ナノ振動を加えることでより効率的に水素結合の破壊が起こり、生体組織-高分子材料間の接着が容易になると推察される。

超音波振動接合装置生体組織-高分子材料の接着については、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、熔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

物理的刺激による生体組織間あるいは人工化合物との接着（接合）に関する検討を行った。物理刺激を付加装置として、超音波メス、ナノ振動接合装置、超音波振動接合装置を用いた。生体組織と接合可能な人工化合物の探索を行い、各装置における接合条件の最適化を行った。ナノ振動装置および超音波接合装置は、超音波メスに比べて低侵襲の生体組織-人工化合物の接合が可能であった。これらの原理として、接合には熱・振動・圧力が必要であることが明らかとなり、用いる生体組織・人工化合物の種類により、それらの物性に応じた接着（接合）条件が存在することが明らか

かとなった。本研究により、新規に開発したナノ振動接合装置、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。本技術の更なる改良により、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と考えられる。

## 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** 本研究では、生体血管内部で接着する医療用ステントの開発を目標として、超音波メス、新規に開発したナノ振動接合装置、超音波振動接合装置による生体組織－生体組織接着に関する基礎的検討を行った。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。超音波メス、ナノ振動接合装置、超音波振動接合装置において、生体組織－生体組織間での接着が認められ、装置の出力、把持時間、周波数における接着への影響が明らかになった。また、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結果、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、超音波波動による生体組織接着技術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、通常の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、従来の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の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られる。血管と良好に接着させる方法として、超音波波動の利用を提案した。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いないことも多いが、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。

本研究では、超音波メスによるタンパク質変性による生体接着現象に関する基礎的検討、超音波メスによる生体組織と人工化合物間の接合、新たに開発したナノ振動接合装置を用いた生体組織間接合、新たに開発した低エネルギー・低生体組織損傷の超音波接合装置を用いた生体組織－人工化合物の接合に関する研究を実施した。

## B. 研究方法

超音波振動発生装置としては、Harmonic Scalpel II（ETHICON ENDO-SURGERY a Johnson & Johnson company）、SONOPET（株式会社エムアンドエム）を用いた。Harmonic Scalpel IIの仕様は、振動周波数 55.5kHz 電力出力 LV1～5、振幅が50～100 $\mu$ mである。ハンドピースとしては、ハンドグリップのLaparoSonic Coagulating Shears（LCS）型とブレード型を使用した。ナノ振動接合装置の仕様は、振動周波数0～30kHz 電力出力0～3.0W、であり、加熱温度の制御が可能である。超音波接合装置の仕様は、ハンドピースの先端部にステンレスを用い、その内部にセラミックを内蔵し、先端部での温度調節を可能とした。可動式の振動発振ホーンとの間に生体組織および人工化合物を重ね合わせ状態で把持し、超音波接合させる。超音波振動周波数は20kHz、最大振幅は8ミクロンのスペックを有する。

生体試料としては、ブタ大動脈、腹膜、心膜、横隔膜、気管を用いた。それぞれを所定のサイズに細切し、二枚を重ねた状態で、超音波メス及びナノ振動接合装置で把持し、異なる出力レベル、レーザー出力レベル、把持時間、振動周波数にて生体接着を検討した。マクロ観察、ヘマトキシリン-エオジン染色による組織学的評価を行った。

動物実験においては、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、発砲ポリウレタンを組み込んだステントを用いた。外径が15mmのステントを用い、長軸径20mmで切断し、ペレセンフィルム、発砲ウレタンを重ね併せ（重ね幅5mm）縫合糸で縫い合わせた。また、ステントを短冊状（15mm×10mm）に切断し、重ね幅5mmでペレセンフィルム、発砲ウレタンを縫合糸で縫い合わせた。深麻酔下にて食用ブタを側腹切開し、下行大動脈を血流遮断した後、一部を切開した。大動脈内にカバードステントを挿入し、人工化合物部を超音波接合装置のハンドピースにて把持し、大動脈－カバードステントを接合した。切開部を吻合し、血流を再開させた。約30分後に擬死させた後、大動脈を採取した。カバードステント留置を確認し、接合部を観察した。組織学的評価として、接合部の組織片をヘマトキシリン-エオジン染色した。

（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

まず、超音波メスの生体組織への影響を検討した。ブタ大動脈、Harmonic Scalpel IIを用い、種々の電力レベルと挟み込みの時間にて組織損傷について検討した。LV1では、1、3、5、10秒間の超音波処理においても組織損傷は観察されなかった。LV3では、1秒間では損傷はほとんど観察できず、3秒でも若干損傷が認められた程度であった。5秒以上になると処理部分が陥没し、損傷が見られた。最大レベルのLV5においては、1秒間で少々の組織陥没が見られたが、損傷程度は低かった。3秒以上では、組織陥没と組織損傷が認められ、さらに、5秒以上では、切断された。LV3、1秒間の超音波振動では、表面での細胞の破壊は認められるものの、コラーゲンの変性は見られなかった。LV3、3秒間の超音波振動では、表面付近での細胞の破壊とさらに深い部位での細胞破壊が若干観察されたが、コラーゲンの変性・破壊は認められなかった。一方、LV5、1秒間では、細胞の破壊に加え、コラーゲンの変性が若干認められ、構造の劣化が示された。さらに、レベル5、3秒間の超音波振動では、コラーゲン変性が進行し、構造の劣化が著しかった。

次に、種々の組織との超音波メスによる生体組織間の接着について検討するため、ブタ大動脈、腹膜、心膜、横隔膜、気管の接着に関して、Harmonic Scalpel IIを用いて検討した。生体組織は短冊状に作製し、重ね合わせたものを挟んで接着を試みた。大動脈の場合、出力レベル、把持時間に依らずいずれも接着されなかった。また、気管においても接着はなされなかった。この原因について、組織が厚く、十分な熱・振動刺激が加わらないことが考えられ、そこで、比較的薄い組織である、膜組織について、また、大動脈を半分には剥離して用いたところ、安定して接着させることができた。出力が高く、把持時間が長くなるほど接着は容易となったが、一方把持時間が長くなりすぎると生体組織の熱損傷が大きくなり、接着させることができなくなった。

ナノ振動接合装置を用いてブタ大動脈、腹膜、

心膜、頸動脈の生体組織間の接着について検討した。ナノ振動接合装置においても、大動脈の場合、出力レベル、把持時間に依らずいずれも接着されなかった。また、心膜、頸動脈においても接着はなされなかった。腹膜は安定して接着が可能だった。ナノ振動接合装置の出力、周波数が高く、把持時間が長くなるほど接着は容易になった。

超音波接合装置を用いた生体組織－人工化合物の接合に関する動物実験においては、下行大動脈を血流遮断した後、一部を切開し、大動脈内に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。超音波接合処理時間とともに大動脈の把持部での変色が認められた。ペレセンフィルム組み込みカバードステントの場合、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、発砲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。一方、超音波接合されなかった発砲ウレタン組み込みカバードステントの場合、ペレセンフィルム組み込みカバードステントに比べて血栓形成の増加が認められた。採取した大動脈のヘマトキシリン・エオジン染色では、超音波接合装置にて接合したペレセンフィルム部での超音波接合特有の大動脈繊維の構造変化が観察され、組織損傷は軽微であった。一方の発砲ウレタン組み込みカバードステントの場合、繊維間隙の拡大が顕著であり、超音波接合による組織損傷が示された。

### D. 考察

超音波メス、ナノ振動接合装置の両装置において生体組織間の接着が認められた。接着には装置の出力・把持時間および生体組織の厚さに関わると考えられる。大動脈では組織が厚く十分な熱・振動刺激が加わらないため、物理的なタンパク質融解凝固変性に至らないと推察される。また、ナノ振動接合装置において、心膜・頸動脈では組織が薄く組織の熱損傷が大きかったために接着に