

図 1

犬の頸動脈への動脈瘤の作製：動物実験は the National Society for Medical Research の the Principles of Laboratory Animal Care と the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publication No. 86-23, revised 1985) に基づいて行った。6 匹のビーグル犬の両側の内頸動脈の側壁に対して、外頸静脈を袋状に縫合することで、側壁タイプの動脈瘤を両頸動脈に実験的に作製した。

ステント留置：動脈瘤を作製して1ヶ月後に、作製したカバードステントを留置した。術前3日前から術後1ヶ月まで抗血小板薬を投与した。大腿動脈に挿入した 7Fr シースを通して、7Fr デリバリーカテーテルに内装したステントを透視下で動脈瘤の開口部まで誘導し、留置した。処置した動脈瘤の状態の確認は血管造影によって行った。

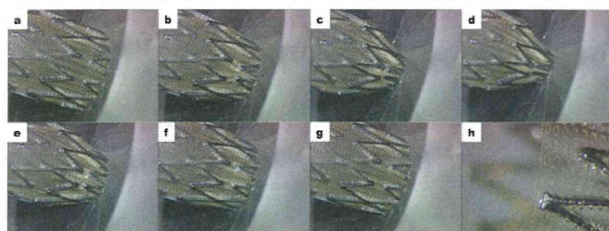


図 2

病理組織評価：ステント留置1ヶ月後に血管造影を行った後に留置部の頸動脈と共にステント

を摘出した。円周方向の断面で組織切片を作製し、通常の染色処理を行った後に、顕微鏡観察で組織評価した。

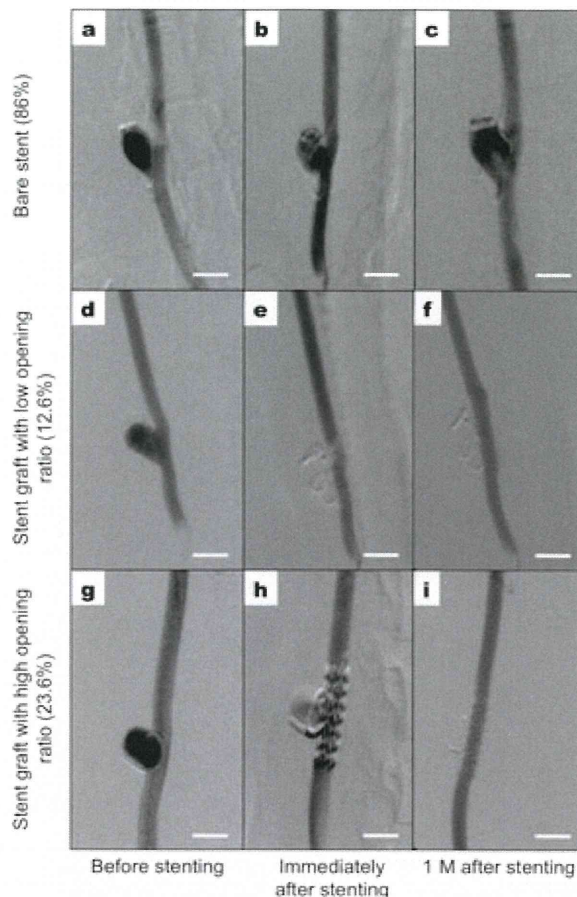


図 3

C. 研究結果

2つのデザインを有するカバードステントを作製した(図1)。マイクロポアはカバーフィルム全体に渡って均一に形成した(図1bとe)。ステントの金属部は完全にフィルム内に埋め込まれ、表面に金属の露出はない。さらに、内腔面は平滑であった(図1cとf、図2h)。我々の以前の研究で示した様に、カバードステントの拡張形状はカバー前後、マイクロポアの設計に関わらず変化なく、柔軟性といった機械的性質も変化なかった。カバードステントはハンドクリンプ装置でフィルムに障害を与えることなく収縮できた(図2)。それゆえ、ステントの留置操作は特別に困難なことはなく、通常の操作で行うことができた。

動脈瘤は両カバードステントを留置することで10分以内に塞栓された。ステント留置1ヶ月後の血管造影において、カバードステント、ベアーステントとも全ての親血管は特に大きな狭窄なく開存していた。カバードステントを留置すると、全ての動脈瘤は塞栓が持続されていた。一方、ベアーステントを留置しても全ての瘤は開存して塞栓できなかった。

両カバードステントを留置して1ヶ月後に得られた組織切片において、動脈瘤の空間は周囲の結合組織で満たされていた。カバードステントの内腔面は完全に内皮細胞で覆われた(図4dとe)。動脈瘤の開口部も薄い内膜で完全に被覆化されていた(図4bとc)。

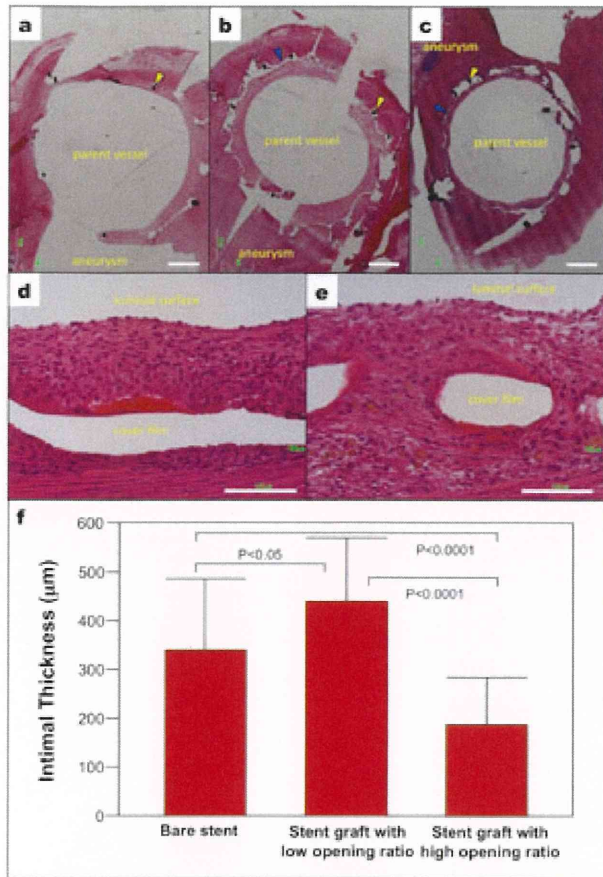


図4

一方、ベアーステントで処置した場合、動脈瘤の開口部では内膜形成起こっていなかった(図4a)。ステント内に形成された内膜の厚さは、マイクロポアの大きい方が、小さい方やベアーステントよりも薄かった(図4f)。ベアーステントでは 0.341 ± 0.146 mm、小さいマイクロポアのカバードステントでは 0.441 ± 0.129 mm、大きなマイクロポアのカバードステントでは 0.187 ± 0.098 mm であり、大きなマイクロポアを有するカバードステントでの内膜肥厚は他に比べて有意に低かった ($P < 0.0001$)。

D. 考察

我々は、従来の外科的あるいは血管内治療では処置が困難な大きなあるいは巨大な脳動脈瘤を塞栓するために高機能性自己拡張カバードステントを開発してきた。既に、1ヶ月の犬の動物実験によって、容易な体内誘導と良い塞栓効果を示してきた。カバー材に用いているポリウレタンは、素晴らしい弾性を有しており、血液ポンプや人工血管として臨床で用いられている。毒性や分解性はなく、別の3年間にわたる犬や兎の一連の動物実験で、良い生体適合性を証明してきた。一方、

抗凝固剤であるアルガトロバンはバルーンカテーテルやステント表面への抗血栓性処理のために使用されている。

巨大、破裂した、あるいは広い開口部を持つ動脈瘤をコイルで治療することは高いリスクを伴う。巨大動脈瘤の救命率は87%、破裂動脈瘤は50%である。コイル塞栓が不完全であると、コイルが収縮し、動脈瘤内に新たな血栓形成が起こる。従って、コイルでの処置は動脈瘤の大きさに限界がある。

その状況下で、脳動脈瘤へのステント留置はコイルの親血管への突出を防ぐために有用である。金属ワイヤーを編み込んだメッシュ状のステントは血流パターンを障害し、動脈瘤内の血栓形成を促進する。しかし、内腔狭窄などのステントに関連する問題は未だ分かっておらず、長期成績に大きく影響するかもしれない。内皮細胞化が促進されれば、内膜肥厚を抑制できるかもしれない。我々のカバー材への微細孔形成はその目的で形成している。留置初期の血栓形成や中長期的な内膜肥厚も抑えることが可能と考える。

コイルや液体塞栓剤に比べてカバードステントが優れている点は、留置直後に塞栓できること、動脈瘤に直接接触れないので破裂しにくい、動脈瘤の大きさに制限がないことである。

内膜層の厚さはカバー材に形成した孔の開口率に大きく依存した。開口率12.6%の100μmの円孔の場合に比べて、開口率23.6%の100x268μmの楕円孔の方が有意に内膜肥厚を抑制した。大きな開口は動脈瘤に血液の流入が多くなると予想されるため、塞栓が阻害されることが懸念されたが、いずれも1ヶ月後には全て完全に塞栓できていた。従って、23.6%程度の開口率では何ら問題ないと考えられる。一方、開口率が増えると、血管壁からのステントカバー内腔面への経壁的な組織侵入に有利であることは明らかである。早く組織侵入が起これば、内膜形成が促進されると考えられる。実際本研究では、開口率が大きい方が薄い内膜を形成した。

E. 結論

我々が開発した自己拡張型カバードステントは容易にビーグル犬に作製した実験的動脈瘤に応用することができ、留置1ヶ月後に完全に塞栓治療することができた。高い開口率において内膜肥厚を効率的に抑制できた。新しく開発した高い開口率を有するカバードステントは、薄い内膜形成と完全な塞栓効果を有する高機能性を有していた。臨床応用へ向けて長期観察を行っていく予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

- 1) Nakayama Y, Yamaoka S, Yamanami M, Fujiwara M, Uechi M, Takamizawa K, Ishibashi-Ueda H, Nakamichi M, Uchida K, Watanabe T, Kanda K, Yaku H.
Water-soluble argatroban for antithrombogenic surface coating of tissue-engineered cardiovascular tissues. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2011;99 (2) :420-430.
- 2) Nakayama Y, Yahata Y, Yamanami M, Tajikawa T, Ohba K, Kanda K, Yaku H.
A completely autologous valved conduit prepared in the open form of trileaflets (type VI biovalve): mold design and valve function in vitro. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2011;99 (1) :135-141.
- 3) Nakayama Y, Yamaoka S, Nemoto Y, Alexey B, Uchida K.
Thermoresponsive heparin bioconjugate as novel aqueous antithrombogenic coating material. *Bioconjug Chem.* 2011;22 (2) :193-199.
- 4) Nakayama Y, Okuda K, Takamizawa K, Nakayama A.
Preparation of well-defined poly(ether-ester) macromers: photogelation and biodegradability. *Acta Biomater.* 2011;7 (4) :1496-1503.
- 5) Nishi S, Nakayama Y, Ishibashi-Ueda H, Okamoto Y, Yoshida M.
Development of microporous self-expanding stent grafts for treating cerebral aneurysms: designing micropores to control intimal hyperplasia. *J Artif Organs.* 2011;14 (4) :348-356.
- 6) Moriwaki T, Oie T, Takamizawa K, Murayama Y, Fukuda T, Omata S, Kanda K, Nakayama Y.
Variations in local elastic modulus along the length of the aorta as observed by use of a scanning haptic microscope (SHM). *J Artif Organs.* 2011;14 (4) :276-283.
- 7) Watanabe T, Kanda K, Yamanami M, Ishibashi-Ueda H, Yaku H, Nakayama Y.
Long-term animal implantation study of biotube-autologous small-caliber vascular graft fabricated by in-body tissue architecture. *J Biomed Mater Res.* 2011;98B:120-126.

学会発表

第41回日本心臓血管外科学会総会 2011年2月23-25日 (東京ベイホテル東急)

- 1) 山南将志、渡辺太治、植田初江、神田圭一、夜久 均、中山泰秀、BIOTUB 代用血管のビーグル腹部大動脈移植：大血管への応用

第10回日本再生医療学会総会 2011年3月1-2日 (京王プラザホテル)

- 2) 大家智憲、山南将志、植田初江、神田圭一、夜久 均、中山泰秀、エラスチン含有高膜厚バイオチューブ人工血管の作製.
- 3) 中山泰秀、中川雄太、西 正吾、植田初江、田地川 勉、大場謙吉、内膜再生を促進する動脈瘤治療用カバードステントの開発.
- 4) 島川祐司、松井悠一、辻中貴大、山南将志、神田圭一、中山泰秀、生体内組織形成術による組織形成促進化のための構造学的工夫.
- 5) 山南将志、矢羽田侑希、上地正実、武輪能明、島川祐司、松井悠一、田地川 勉、大場謙吉、神田圭一、夜久 均、巽 英介、中山泰秀、完全自己組織バイオバルブ (Type VI) の開発：開口形状での弁形成による弁機能の向上.
- 6) 武輪能明、中山泰秀、山南将志、花田 徹、斉藤友宏、梅木秀昭、松井悠一、神田圭一、夜久 均、田地川 勉、大場謙吉、妙中義之、巽 英介、組織工学的に皮下で作製した心臓弁付き Conduit (Biovalve) の左心系自家移植による評価.
- 7) 森脇健司、前川侑也、大家智憲、高見沢計一、福田 達、村山嘉延、尾股定夫、上地正実、松井悠一、山南将志、神田圭一、中山泰秀、マイクロメカニクス的な再生度の評価手段としての走査型触覚顕微鏡の開発.
- 8) 松井悠一、山南将志、島川祐司、中川雄太、田地川 勉、大場謙吉、神田圭一、夜久 均、中山泰秀、組立式バイオバルブ作製用鋳型の設計.
- 9) 山南将志、渡辺太治、植田初江、神田圭一、夜久 均、中山泰秀、BIOTUB 代用血管のビーグル腹部大動脈移植

日本機会学会関西支部第86期定期総会 2011年3月18-20日 (京都工芸繊維大学)

- 10) 松井悠一、田地川 勉、大場謙吉、山南将志、武輪能明、中山泰秀、バイオバルブの作製および生体外実験による弁機能評価
- 11) 紅林芳嘉、中川雄太、田地川 勉、大場謙吉、中山泰秀、西 正吾、脳動脈瘤治療のためのカバードステントに関する生体外実験

第50回日本生体医工学会大会 2011年4月29-5月1日 (東京電気大学)

- 12) 森脇健司、前川侑也、大家智憲、高見沢計一、福田達、村山嘉延、尾股定夫、神田圭一、中山泰秀、走査型触覚顕微鏡を用いた内圧負荷に伴う動脈壁内部の弾性率分布変化の観察.
- 13) 紅林芳嘉、中川雄太、田地川 勉、大場謙吉、中山泰秀、西正吾、頭頸部動脈瘤治療のため

の微細多孔薄膜カバードステントの開発: 微細孔設計のための生体外実験.

- 14) 水野敏秀, 中山泰秀, 妙中義之, 巽英介, トロボエラストメトリー法を用いた抗血栓性コーティングの定量的評価方法の検討.

60th ESCVS International Congress (ヨーロッパ心臓血管外科学会) 2011年5月20-22日(モスクワ)

- 15) Yamanami M, Successful replacement of beagle pulmonary valves by in vivo tissue-engineered valved conduit with the sinus of valsalva "biovalve".

- 16) Yamanami M, Development of autologous tissue small caliber vascular grafts (Biotubes) constructed by simple, safe and economical in vivo tissue engineering.

第32回日本炎症再生医学会 2011年6月2-3日(京都国際会館)

- 17) 中山泰秀, 大家智憲, 山南将志, 上地正実, 神田圭一, 夜久均, 体内光照射によるエラストチン含有高膜厚バイオチューブ人工血管の作製

- 18) 渡辺太治, 神田圭一, 山南将志, 坂井修, 山本昭秀, 植田初江, 高見沢計一, 飯田秀博, 夜久均, 中山泰秀, 宿主体内で形成する自家結合組織小口径代用血管バイオチューブの開発

- 19) 中山泰秀, 松井悠一, 山南将志, 田地川勉, 大場謙吉, 神田圭一, 夜久均, 上地正実, 武輪能明, 巽英介, バイオバルブの開発: 作製用鋳型の変遷

- 20) 山南将志, 矢羽田侑希, 上地正実, 武輪能明, 島川祐司, 松井悠一, 田地川勉, 大場謙吉, 神田圭一, 夜久均, 巽英介, 中山泰秀, 完全自己組織からなる心臓弁葉組織体バイオバルブ(Type VI)の開発: 開口形状での弁形成による弁機能の向上

- 21) 武輪能明, 中山泰秀, 山南将志, 花田繁, 梅木昭秀, 松井悠一, 神田圭一, 夜久均, 田地川勉, 大場謙吉, 妙中義之, 巽英介, 組織工学的に皮下で作製した自己組織由来心臓弁付き Conduit (Biovalve) の開発

第34回日本バイオレオロジー学会年会 2011年6月3-4日(関西大学)

- 22) 松井悠一, 田地川勉, 大場謙吉, 山南将志, 武輪能明, 中山泰秀, 開口位バイオバルブの作製と生体外実験による弁機能評価

- 23) 紅林芳嘉, 中川雄太, 田地川勉, 大場謙吉, 中山泰秀, 西正吾, 動脈瘤治療用多孔薄膜

カバードステントの設計最適化のための生体外模擬実験

57th ASAIO Annual Conference (アメリカ人工臓器学会) 2011年6月10-12日(ワシントン)

- 24) Y. Takawa, Y. Nakayama, M. Yamanami, S. Hanada, A. Umeki, Y. Matsui, K. Kanda, H. Yaku, T. Tajikawa, K. Ohba, Y. Taenaka, E. Tatsumi. In vivo evaluation of an in-body tissue-engineered and completely autologous valved conduit (biovalve) in a goat model.

The Society for Heart Valve Disease 2011年6月25-28日(バルセロナ)

- 25) M. Yamanami, M. Uechi, M. Fujiwara, Y. Yahata, H. Ishibashi-Ueda, K. Kanda, T. Watanabe, T. Oie, T. Tajikawa, K. Ohba, H. Yaku, Y. Nakayama. Development of completely autologous tissue valved-conduits biovalves; mold design and transplantation study in beagle model.

- 26) Y. Takawa, Y. Nakayama, M. Yamanami, Y. Matsui, K. Kanda, H. Yaku, T. Tajikawa, K. Ohba, Y. Taenaka, E. Tatsumi. Development of an in-body tissue-engineered autologous aortic bioprosthesis.

BCVS2011 (アメリカ心臓学会 Basic Cardiovascular Sciences) 2011年7月18-21日(ニューオリンズ)

- 27) M. Yamanami, T. Watanabe, K. Kanda, T. Oie, K. Takamizawa, H. Ishibashi-Ueda, H. Yaku, Y. Nakayama. Development of autologous tissue small diameter vascular grafts (biotubes).

16th World Congress on Heart Disease 2011年7月23-26日(バンクーバー)

- 28) M. Yamanami, M. Uechi, M. Fujiwara, H. Ishibashi-Ueda, K. Kanda, T. Watanabe, T. Tajikawa, K. Ohba, H. Yaku, Y. Nakayama. Development of a completely autologous valved conduit with the sinus of valsalva using in-body tissue architecture technology.

ESC Congress (ヨーロッパ循環器学会) 2011年8月27-31日(パリ)

- 29) M. Yamanami, Y. Takawa, K. Kanda, Y. Matsui, T. Tajikawa, K. Ohba, H. Yaku, Y. Taenaka, E. Tatsumi, Y. Nakayama. Feasibility study of in-body tissue-engineered, completely autologous

- valved conduits (biovalves type VI) as an aortic valve in a goat model.
- 30) M. Yamanami, M. Uechi, M. Fujiwara, H. Ishibashi-Ueda, K. Kanda, T. Oie, T. Tajikawa, K. Ohba, H. Yaku, Y. Nakayama. Successful replacement of beagle pulmonary valves by in vivo tissue-engineered valved-conduits with the sinus of valsalva (biovalves). 第16回岡山リサーチパーク研究・展示発表会 2011年9月1日
- 31) 和田晃、清水一郎、窪田真一郎、中山泰秀、新規開発ステントとしてのカバードステントの開発研究
- 38th ESAO 2011 (ヨーロッパ人工臓器学会) 2011年10月9-12日 (ポルト)
- 32) Y. M. Zhou, Y. Takewam R. Iwai, S. Kusakabe, K. Kanzaki, Y. Taenaka, E. Tatsumi, Y. Nakayama. Deposition transfection technology using a homopolymer with both theroresponsive and cationic characters for cardiac gene therapy. *Int J Artif Organs* 2011, 34:620.
- 33) T. Oie, M. Yamanami, M. Uechi, T. Mizuno, H. Ishibashi-Ueda, K. Kanda, H. Yaku, Y. Nakayama. In-body blue light illumination realized the formation of functional and roburst "biotube" vascular grafts with many capillaries and elastic fibers. *Int J Artif Organs* 2011, 34:629.
- 34) Y. Takawa, Y. Nakayama, M. Yamanami, S. Hanada, A. Umeki, Y. Matsui, K. Kanda, H. Yaku, T. Tajikawa, K. Ohba, Y. Taenaka, E. Tatsumi. In-body tissue-engineered and completely autologous aortic valves conduit (Biovalve) in goat model. *Int J Artif Organs* 2011, 34:642.
- 35) T. Moriwaki, T. Oie, K. Takamizawa, Y. Murayama, T. Fukuda, S. Omata, K. Kanda, Y. Nakayama. Varietion of local elasticity along the length of the aorta as observed by a scanning haptic microscope (SHM). *Int J Artif Organs* 2011, 34:661.
- 36) M. Yamanami, Y. Yahata, M. Uechi, Y. Takewa, Y. Shimakawa, Y. Matsui, T. Tajikawa, K. Ohba, K. Kanda, H. Yaku, E. Tatsumi, Y. Nakayama. Preparation of a completely autologous valved conduit with the open form of trileaflets (type VI biovalve). *Int J Artif Organs* 2011, 34:669.
- 37) Y. Nakayama, Y. Matsui, M. Yamanami, Y. Takewa, E. Tatsumi, Y. Taenaka, T. Oie, T. Tajikawa, K. Ohba, K. Kanda, H. Yaku. Architecture design of a novel separable mold to obtain autologous tissue heart valves "biovalves" non-invasively. *Int J Artif Organs* 2011, 34:670.
- 38) Y. Nakayama, Y. Takewa, T. Oie, M. Yamanami, Y. Matsui, T. Tajikawa, K. Ohba, K. Kanada, H. Yaku, E. Tatsumi. Direct in vivo observation of leaflet tissue formation for biovalve. *Int J Artif Organs* 2011, 34:697.
- 39) T. Watanabe, K. Kanda, M. Yamanami, O. Sakai, H. Ishibashi-Ueda, K. Takamizawa, H. Yaku, Y. Nakayama. Development of a small-caliver autologous vascular graft "biotube" ; four-year animal implantation. *Int J Artif Organs* 2011, 34:705.
- 40) M. Yamanami, T. Watanabe, K. Kanda, H. Yaku, Y. Nakayama. 6-Month auto-implantation of autologous tissue small-caliber vascular grafts, "biotube", to carotid arteries of beagle dogs. *Int J Artif Organs* 2011, 34:708.
- 41) Y. Nakayama, S. Nishi, H. Ishibashi-Ueda. Development of microporous self-expanding stents grafts for treating cerebral aneurysms - designing microporous to control intimal hyperplasia. *Int J Artif Organs* 2011, 34:709.
- American Heart Association Scientific Session 2011 (USA, Orlando, 2011, 11/12-16)
- 42) Masami Uechi, Marina Funayama, Yuichi Matsui, Takeshi Mizuno, Megumi Fujiwara, Tsutomu Tajikawa, Kenkichi Ohba, Masashi Yamanami, Taiji Watanabe, Keiichi Kanda, Hitoshi Yaku, Yasuhide Nakayama, Trancatheter implantation of autologous in vivo tissue-engineered, valved stents (biovalved stents) in the pulmonary position in a beagle model.
- 43) Yoshiaki Takewa, Yasuhide Nakayama, Masashi Yamanami, Akihide Umeki, Yuichi Matsui, Keiichi Kanda, Hitoshi Yaku, Tsutomu Tajikawa, Kenkichi Ohba,

Yoshiyuki Taenaka, Eisuke Tatsumi.
Successful aortic valve implantation
using an in-body tissue-engineered,
completely autologous valved conduit
(biovalve) in a goat model.

第33回日本バイオマテリアル学会大会
(京都テルサ、2011、11/21-22)

- 44) 中山泰秀、体内で作るバイオマテリアル
第27回日本脳神経血管内治療学会学術総会
(千葉幕張メッセ、2011、11/24-26)
第27回日本脳神経血管内治療学会
(千葉幕張メッセ、2011、11/24-26)
- 45) 西 正吾、元持 雅男、中山 泰秀、植田 初恵、
岡本 吉弘、高性能 stent graft の開発-ウサ
ギ動脈瘤閉塞後における分枝動脈の開存
第49回日本人工臓器学会大会
(東京都市センターホテル、2011、11/25-27)
- 46) 中山泰秀、西 正吾、紅林芳嘉、田地川 勉、
大場謙吉、植田初江、森脇健司、和田 晃、
山下修蔵、動脈瘤治療用カバードステントの
開発：大開口化孔設計時の塞栓、分枝開存、
内膜形成評価
- 47) 渡辺太治、辻中貴大、山南将志、神田圭一、
夜久 均、中山泰秀、インスタントバイオチ
ューブ：エオシン徐放化による肉厚バイオチ
ューブの短期形成
- 48) 岩井良輔、草壁翔太、根本 泰、内田欣吾、
中山泰秀、感温性カチオン性ホモポリマーの
無開始剤無溶媒光重合による合成と吸着遺
伝子導入
- 49) 岩井良輔、松井悠一、辻中貴大、山南将志、
神田圭一、中山泰秀、生体内組織形成術にお
ける高膜厚組織作製のための鋳型の構造学
的工夫
- 50) 紅林芳嘉、市川、吉田、田地川 勉、大場謙
吉、西 正吾、中山泰秀、動脈瘤治療用微細
孔カバードステントの開発における、拍動流
下での瘤内流れの解析
- 51) 大家智憲、山南将志、植田初江、神田圭一、
夜久 均、中山泰秀、体内LED照射によるバ
イオチューブ人工血管の開発：力学的強度に
及ぼす照射強度の影響
- 52) 松井悠一、山南将志、武輪能明、田地川 勉、
大場謙吉、神田圭一、夜久 均、巽 英介、
中山泰秀開口位バイオバルブ人工弁の組立
式設計によるストレスフリー摘出 (Type VII)
- 53) 船山 麻理菜、上地 正実、松井悠一、水野 壮
司、藤原めぐみ、田地川 勉、大場 謙吉、山
南 将志、渡辺 太治、神田 圭一、夜久 均、
中山 泰秀、生体内組織形成術による自己組

織ステントバルブの開発：ビーグル肺動脈へ
の経カテーテル移植

- 54) 山南将志、渡辺太治、神田圭一、夜久 均、
中山泰秀、バイオチューブ小口径代用血管の
固定処理：吻合操作性の向上と自己化の維持
- 55) 森脇健司、大家智憲、高見沢計一、村山嘉延、
福田 達、尾股定夫、神田圭一、中山泰秀、
走査型触覚顕微鏡 (SHM) の可能性の拡大：
生体組織の密度分布観察
- 56) 高見沢計一、森脇健司、大家智憲、福田 達、
村山嘉延、尾股定夫、中山泰秀、生体作動類
似環境下における動脈壁内弾性率の走査型
触覚顕微鏡観察
- 57) 中山泰秀、武輪能明、大家智憲、山南将志、
松井悠一、田地川 勉、大場謙吉、神田圭一、
夜久 均、妙中義之、巽 英介、カプセル内
視鏡内蔵鋳型を用いた体内組織形成過程の
in situ観察
- 58) 中山泰秀、辻中貴大、岩井良輔、松井悠一、
内田欣吾、田地川 勉、大場謙吉、色素徐放
による体内組織形成の爆発的加速化

H. 知的財産権の出願・登録状況 出願特許

- 1) 産業財産権の名称：弁付き管腔形状組織形成
用基材、弁付き管腔形状組織の生産方法、及
び弁付き人工血管
発明者：中山泰秀、大家智憲
権利者：独立行政法人国立循環器病研究セン
ター
産業財産権の種類、番号：中国特許
出願年月日：平成23年2月15日
- 2) 産業財産権の名称：含窒素化合物重合体及び
その製造方法、並びに遺伝子導入剤
発明者：中山泰秀、ポロフコフアレクセイ、
根本 泰
権利者：独立行政法人国立循環器病研究セン
ター、株式会社ブリヂストン
産業財産権の種類、番号：PCT/JP2011/054855
出願年月日：平成23年3月3日
- 3) 産業財産権の名称：遺伝子導入剤組成物
発明者：中山泰秀、周えつみん、武輪能明、
巽 英介、根本 泰
権利者：独立行政法人国立循環器病研究セン
ター、株式会社ブリヂストン
産業財産権の種類、番号：特願2011-086509
出願年月日：平成23年4月8日
- 4) 産業財産権の名称：遺伝子導入剤組成物及び
その製造方法
発明者：中山泰秀、周えつみん、岩井良輔、
巽 英介、武輪能明、根本 泰
権利者：独立行政法人国立循環器病研究セン
ター、株式会社ブリヂストン
産業財産権の種類、番号：特願2011-118034
出願年月日：平成23年5月26日

- 5) 産業財産権の名称: 遺伝子導入材料及び培養容器
 発明者: 中山泰秀、根本 泰
 権利者: 独立行政法人国立循環器病研究センター、株式会社ブリヂストン
 産業財産権の種類、番号: 特願 2011-162269
 出願年月日: 平成 23 年 7 月 25 日
- 6) 産業財産権の名称: 弁付き管腔形成形状組織形成用基材、管腔形状組織形成用基材、膜状組織形成用基材、生体組織形成観察装置、生体組織変化観察装置、弁付き管腔形状組織の生産方法、管腔形状組織の生産方法、膜状組織の生産方法、及び生体組織の形成方法
 発明者: 中山泰秀、大家智憲
 権利者: 独立行政法人国立循環器病研究センター、新幹工業株式会社
 産業財産権の種類、番号: 特願 2011-197657
 出願年月日: 平成 23 年 9 月 9 日
- 7) 産業財産権の名称: 弁付きステント、弁付きステント形成用基材、及び弁付きステントの製造方法
 発明者: 中山泰秀、大家智憲
 権利者: 独立行政法人国立循環器病研究センター、新幹工業株式会社
 産業財産権の種類、番号: 特願 2011-197663
 出願年月日: 平成 23 年 9 月 9 日
- 8) 産業財産権の名称: 組織体の製造方法及び組織体形成用基材
 発明者: 中山泰秀、大家智憲
 権利者: 独立行政法人国立循環器病研究センター、新幹工業株式会社
 産業財産権の種類、番号: 特願 2011-233393
 出願年月日: 平成 23 年 10 月 26 日
- 9) 産業財産権の名称: 温度感応性材料
 発明者: 中山泰秀、根本 泰
 権利者: 独立行政法人国立循環器病研究センター、株式会社ブリヂストン
 産業財産権の種類、番号: 特願 2011-287592
 出願年月日: 平成 23 年 12 月 28 日
- 10) 産業財産権の名称: 弁付き管腔形状組織形成用基材、弁付き管腔形状組織の生産方法、及び弁付き人工血管
 発明者: 中山泰秀、大家智憲
 権利者: 独立行政法人国立循環器病研究センター
 産業財産権の種類、番号: PCT/JP2011/76372
 出願年月日: 平成 23 年 11 月 15 日
- 11) 産業財産権の名称: 温度感応性材料及び止血剤
 発明者: 中山泰秀、根本 泰
 権利者: 独立行政法人国立循環器病研究センター、株式会社ブリヂストン
 産業財産権の種類、番号: 特願 2011-287593
 出願年月日: 平成 23 年 12 月 28 日
- 12) 産業財産権の名称: 核酸導入された細胞の製造方法
 発明者: 中山泰秀、根本 泰
 権利者: 独立行政法人国立循環器病研究センター、株式会社ブリヂストン
 産業財産権の種類、番号: 特願 2011-287594
 出願年月日: 平成 23 年 12 月 28 日
- 13) 産業財産権の名称: Base Material for Forming Valved Lumen Shape Tissue, Method for Producing Valved Lumen Shape Tissue, and Valved Artificial Blood Vessel
 発明者: Y. Nakayama, T. Oie
 権利者: National Cerebral and Cardiovascular Center
 産業財産権の種類、番号: US Patent 13/390,480
 出願年月日: 平成 24 年 2 月 15 日
- 14) 産業財産権の名称: Base Material for Forming Valved Lumen Shape Tissue, Method for Producing Valved Lumen Shape Tissue, and Valved Artificial Blood Vessel
 発明者: Y. Nakayama, T. Oie
 権利者: National Cerebral and Cardiovascular Center
 産業財産権の種類、番号: EPC Patent
 出願年月日: 平成 24 年 2 月 15 日
- 特許取得
- 1) 産業財産権の名称: 虚血性疾患に対する血管新生促進治療薬
 発明者: 中山泰秀、佐藤隆幸
 権利者: 独立行政法人国立循環器病研究センター、高知大学、株式会社ブリヂストン
 産業財産権の種類、番号: 特許第 4888856 号
 取得年月日: 平成 23 年 12 月 22 日
 出願年月日: 平成 17 年 10 月 25 日
- 2) 産業財産権の名称: 人工弁を有する人工血管、その製造方法及び人工血管製造用材料
 発明者: 中山泰秀、神田圭一、根本 泰
 権利者: 独立行政法人国立循環器病研究センター、株式会社ブリヂストン
 産業財産権の種類、番号: 特許第 4815936 号
 取得年月日: 平成 23 年 9 月 9 日
 出願年月日: 平成 17 年 8 月 3 日
- 3) 産業財産権の名称: 人工弁を有するステント
 発明者: 中山泰秀、神田圭一、根本 泰
 権利者: 独立行政法人国立循環器病研究センター
 産業財産権の種類、番号: 特許第 4735111 号
 取得年月日: 平成 23 年 5 月 13 日
 出願年月日: 平成 17 年 8 月 3 日
- 4) 産業財産権の名称: 神経伝達スイッチング材
 発明者: 中山泰秀、川田 徹、鎌田なぎさ、大高 敦、杉町 勝、根本 泰
 権利者: 独立行政法人国立循環器病研究センター、株式会社ブリヂストン
 産業財産権の種類、番号: 特許査定済
 取得年月日: 起案日平成 24 年 2 月 6 日
 出願年月日: 平成 16 年 4 月 26 日
- I. 実用新案登録、J. その他
 特になし

頭蓋内カバードステントの開発：
治療経験に基づくデバイスのプロファイルに関する研究
研究分担者 飯原 弘二 国立循環器病研究センター脳神経外科部長
研究分担者 佐藤 徹 国立循環器病研究センター脳神経外科医長

脳卒中において非常に大きな疾患である脳動脈瘤に対しては開頭クリッピング術と脳血管内治療（脳動脈瘤コイル塞栓術）が大きな治療の柱である。ただし、大型や部分血栓化動脈瘤に対する治療は困難であり、まだ確立されたとは言えない。このよう難治性動脈瘤に対して金属製の網目状の筒であるステントに微細孔の開いたポリウレタン膜を施したカバードステントを用いることにより、動脈瘤頸部が上皮化して完全閉塞を達成することが可能であることが動物実験で確認された。本研究ではこのカバードステントの臨床応用に向けて、ステントの品質改良を進めることを目的とする。

A. 研究目的

脳動脈瘤は人口の3-5%に存在し、破裂すると、くも膜下出血を生じ、患者の生命予後ならび機能予後に大きな影響をもたらす疾患である。また破裂しない場合は無症状であることが多いとされているが、中には増大して周囲の脳神経組織を圧迫することにより、運動麻痺、感覚障害や脳神経麻痺などの神経症状を起こすこともある。いずれにせよ、脳卒中の要因の中でも重篤な後遺症を起こしうる疾患であり、治療における安全性と確実性を追求することは、厚生労働行政の観点からも非常に重要な課題の一つである、と考えられる。

脳動脈瘤の治療法としては開頭脳動脈瘤ネッククリッピング術と脳動脈瘤コイル塞栓術である。多くの動脈瘤は上記の二方法で破裂もしくは再破裂の可能性を予防できているが、大きなサイズの動脈瘤や瘤内の一部に血栓を有する部分血栓化動脈瘤の場合には、両治療法ともに困難な場合が多く、母血管の血流をクリップもしくはコイルで遮断することにより瘤への血流を絶つ、という方法がとられることがある。側副血行路が発達している場合には問題はあまり生じないが発達が悪い場合には頭蓋内外の血行再建術が必要となり、侵襲度の高い治療となってしまう。

5年程前から海外の諸国では治療困難とされてきた大型の動脈瘤や、部分血栓化動脈瘤に対してflow diverterと称される網目の非常に細かいステントを使用することにより、瘤内にコイルを留置することなく、動脈瘤の閉塞、消失を得たとする報告が相次いでいるが、まだ確立したものとは言えない。

当施設では微細孔の開いたポリウレタン膜付きステント（カバードステント）を開発し、ウサギの動脈瘤モデルに使用して動脈瘤の完全閉塞（動脈瘤頸部の内膜による上皮化）、および母血管と分枝血管の温存を確認している。本研究では

このカバードステントの品質改良を行い、安全性を再検証した上で、臨床応用を行うことを目的としている。

この研究により、従来困難とされてきた大型の動脈瘤や部分血栓化動脈瘤に対する治療が安全かつ確実なものとなる可能性は高いと予想され、脳卒中の制圧という厚生労働行政の観点からは、非常に有用であると考えられる。また多数のコイルの使用が回避出来ること、手技としても容易かつ短時間で終了させることが可能と考えられること、動脈瘤頸部における内皮化が一旦確認できれば、長期間にわたる画像追跡が不要になる可能性もあることから、色油経済的にも十分な効果があるものと考えられる。

B. 研究方法

はじめにバルーン拡張型のステントの内外にポリウレタン膜を密着させ、それに微細孔を開けたものを作成する。また、ポリウレタン膜には抗凝固薬であるアルガトロバンを塗布して抗血栓性を持たせる。作成されたステントをウサギ鎖骨下動脈に実験的に作成した動脈瘤の頸部をカバーするように母血管に留置する。その後3ヶ月、6ヶ月の時点で動脈瘤および母血管の状態を判定する。母血管、分枝血管の開存並びに動脈瘤の完全閉塞を得られる条件を確認、決定する。次に臨床応用に向けて、(1) 実臨床における対象動脈瘤のプロファイリングを行うこと、(2) 比較的細く屈曲蛇行の強い頭蓋内血管へのアプローチが可能かどうかの確認、を経て、(3) GLP規格での実験を行った後に、臨床治験に向けての諸手続きを行い、最終的には臨床治験を行う。

倫理面の配慮としては、動物実験においては動物実験の基本理念である3R（Replacement, Reduction, Refinement）を尊重し、「動物の愛護及び管理に関する法律」、「動物実験の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」及び「厚生労

働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」等を遵守する。また、将来的な臨床治験についてはヘルシンキ宣言(ヒトを対象とする医学研究の倫理的原則、2008年10月)ならびに本邦における臨床研究に関する倫理指針(2008年)を遵守する。

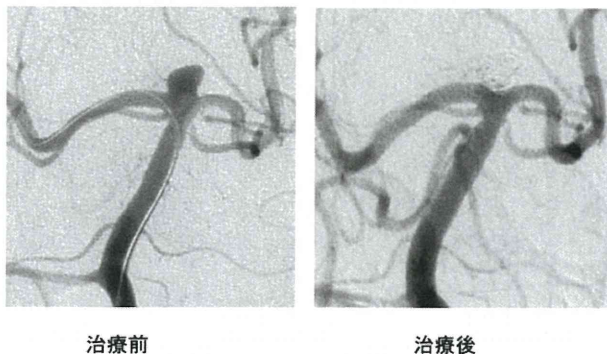


図 1. 脳動脈コイル塞栓術

C. 研究結果

ステントについては動物実験及び流体力学的な実験から微細孔の大きさとしては $100\mu\text{m}$ が、瘤内血流を遮断すると同時に内皮化を促進することについて最も至適なサイズであることが分かった。

次に実際の臨床応用に向けて、カバードステント現行品を血管内治療練習用人体血管モデルである EVE という機器内で試用してみたところ、内頸動脈サイフォン部、脳底動脈への誘導は可能であった。ただし、アクセスが容易とまでの評価には至らず、ステントそのものの柔軟性は現時点で流通している製品と同等であることから、デリバリーシステム、特にバルーンカテーテルの柔軟性については改善の余地があるものと考えられた。

また、対象動脈瘤としては、(1) 従来の治療では治療が困難である、もしくは侵襲の高い治療を必要とする部位 (2) 比較的母血管径が太い部位であること (3) 血管内からのアクセスが困難でない部位、という観点から内頸動脈海綿静脈洞部を第一候補、椎骨動脈を第二候補とした。いずれも上記条件を満たすものであり、本ステントの臨床応用に向けて非常に良いターゲットになると考えられた。このうち内頸動脈海綿静脈洞部については当施設における過去 7 年間の症例 (30 例) のプロファイリングを行い、動脈瘤の最大径平均 20mm 、頸部長 9mm 、平均母血管径 4.5mm という結果から、ステントのサイズを径 3.5mm 、 4mm 、 4.5mm 、 5mm の 4 種類、長さ 16mm 、 22mm 、 28mm の 3 種類として計 12 種類に絞り込むこととした。

D. 考察

脳動脈瘤の増大、破裂の予防に関しては高血圧のコントロールおよび喫煙者に対する禁煙などが内科的治療として推奨されているがそれだけでは不十分であり、動脈瘤内に血流が入り込まないようにするための外科的処置が必要となる。

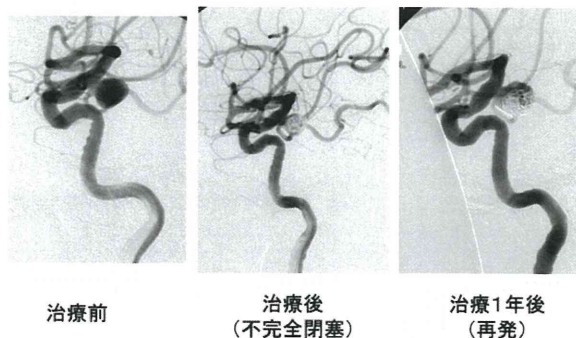


図 2. 脳動脈瘤コイル塞栓術後再発

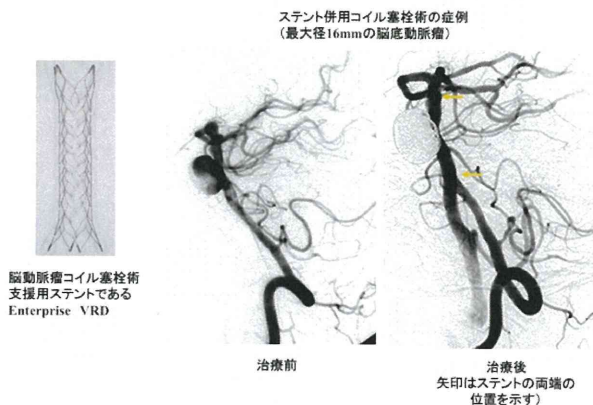


図 3.

これには開頭脳動脈瘤ネッククリッピング術と血管内からカテーテルを用いて瘤内にアプローチし、プラチナコイルを瘤内に充填する脳動脈瘤コイル塞栓術の二つの手法がある。前者は動脈瘤を露出し、その頸部にしっかりとクリップをかけることができれば、再発のかの旺盛はほとんどなく、根治性に優れている反面、周囲の脳神経組織や他の血管へのダメージが起きる可能性があり、特に脳深部に位置する動脈瘤や大型の動脈瘤に対しては困難かつ侵襲が強いのが弱点である。一方、近年急速に普及してきている後者はアクセスルートさえ確保できれば深部の動脈瘤であっても比較的到達でき、周囲の組織に影響を与える可能性は少なく、低侵襲の治療が可能となった(図 1)。ただし、瘤内へのコイル充填が不十分に終わった場合には根治性は低くなるとされている(図 2)。

多くの動脈瘤は上記の二方法で破裂もしくは再破裂の可能性を予防できているが、大きなサイズの動脈瘤や瘤内の一部に血栓を有する部分血栓化動脈瘤の場合には、母血管の血流をクリップもしくはコイルで遮断することにより瘤への血流を絶つ、という方法がとられることがある。側副血行路が発達している場合には問題はあまり生じないが発達が悪い場合には頭蓋内外の血行再建術が必要となり、侵襲度の高い治療となってしまう。

最近、脳血管内治療(コイル塞栓術)における技術、器具の発展にはめざましいものがあり、上述のプラチナコイルの多種多様化や、広頸の動脈

瘤におけるコイルの瘤外への逸脱を防ぐためのバルーンカテーテルや金属性の網目状の筒であるステントの併用により、その適応と安全性は向上してきている (図3)。

ただし、コイル塞栓術における再発の問題についてはクリッピング術では動脈瘤頸部の内膜同士がクリップで挟まれることにより密着して、瘤内への血流はほぼ完全に絶つことができるのに対して、コイル塞栓術においては動脈瘤内に挿入できるコイルの体積占有率 (塞栓率) はせいぜい30%程度であり、治療が低い塞栓率に終わった場合については再発の可能性は低くなく、また長期にわたっての脳血管撮影や MRI などの画像追跡を必要とする。また破裂の危険性がある瘤内へのマイクロカテーテルおよびコイルの挿入、という手技であるコイル塞栓術には術中破裂の危険性は常に伴っており、また、特にステント併用例においては最大の合併症である血栓塞栓症の回避のために長期間の抗血小板薬投与を必要とする。これは脳内部の径の細い血管に金属製のステントを置いた際に、その上を血管内膜が覆う (上皮化する) が完全には起こりにくいことためであり、抗血小板療法による出血性合併症の増加の懸念もある。

近年報告が相次いでいる flow diverter stent についてもいくつかの問題点があり、動脈瘤の完全閉塞は必ずしも達成できないこと、留置に技術を要すること、長期の抗血小板療法を要すること、などが挙げられる。

本研究で開発を進めている膜付きカバードステントは、実験結果においては全て動脈瘤の閉塞および母血管、分枝血管の温存が確認されており、その留置は比較的容易である、また、微細孔を設けることによりステントの膜上に血管内皮新生

が起こりやすく、上皮化が完成すれば抗血小板療法が不要となる可能性も高い。今後品質改良をすすめ、早期の臨床応用を行うことが期待される。

E. 結論

難治性脳動脈瘤に対する膜付きカバードステントの臨床応用に向けて動物実験の結果並びに臨床データの使用に基づいたプロファイル選択を行った。今後は GLP 規格での実験を行うとともに臨床治験に向けての環境整備を行っていく。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

- 1) Nishikawa Y, Satow T, Takagi T, Muraio K, Miyamoto S, Iihara K.
Efficacy and Safety of Single versus Dual Antiplatelet Therapy for Coiling of Unruptured Aneurysms. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2012 Mar 20. [Epub ahead of print].
- 2) 山尾幸広、佐藤 徹、村尾健一、宮本 享、飯原弘二.
未破裂脳動脈瘤コイル塞栓術時にコイルが母血管に突出した症例における予後の検討.
脳神経外科 40 巻 1 号 p. 23-29. 2012.

頭蓋内カバードステントの開発：

機械工学に基づく2次元動脈瘤モデルを用いた生体外評価に関する研究

研究分担者 大場 謙吉 関西大学システム理工学部 教授

研究分担者 田地川 勉 関西大学システム理工学部 専任講師

これまで開発してきたカバードステントについて、さらなる内膜肥厚抑制と早期の内腔内膜化のため、カバー薄膜微細孔の直径とその開口数（開口率）を増加させても、塞栓機能が維持できる条件を探し出すために、機械工学に基づいた生体外模擬実験によってその留置効果を定量評価した。実験では、側壁型でアスペクト比 1.42 の 2 次元動脈瘤モデルを作製し、流れの相似則に基づき親血管におけるレイノルズ数を 170~950 に変化させ実験した。その結果、薄膜留置前の瘤内流れは親血管血流の粘性せん断力により誘起された瘤全体にわたる渦流れが生じたのに対して、小開口の薄膜を留置すると先の旋回流とは逆回転の非常に低速で小さな半円状の旋回流が瘤下部に現れた。これらの流れの発生条件を、留置した薄膜の開口径、開口率と親血管のレイノルズ数によってマッピングした。さらに、流れの可視化計測を行い、瘤内流れの運動エネルギー、平均せん断速度等を求めたところ、薄膜留置前と比べ運動エネルギーが 7%以下、血栓形成指標であるせん断速度は 20%以下に抑制できた。特に開口率 60%の多孔薄膜については、孔直径を 300 μm 以下にすることで留置効果が大きかったことから、カバー薄膜における微細孔直径は 300 μm 以下が望ましいことが示唆できた。

A. 研究目的

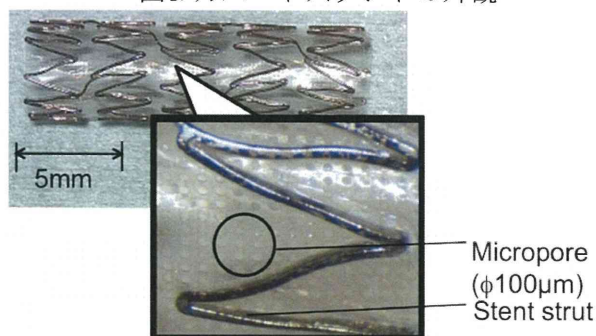
動脈瘤の治療には、クリッピング術やコイル塞栓術があるが、瘤の大きさや形によっては、クリッピングやコイル留置が出来なかったり、十分に塞栓出来なかったりするなど、瘤破裂リスクと治療リスクを比較しながら治療するか否かを判断しており、動脈瘤をより早期に低侵襲・簡便・確実に治療できるデバイスの開発が望まれている。

本研究で開発中のカバードステント（図1）による治療は、カテーテル治療のためコイル塞栓術と同様に低侵襲であり、またステントを親血管に留置するだけで良いという特徴がある。その構造的特徴は、Ni-Ti製ステントストラットをポリウレタン製フィルムで覆い、フィルムを直径数百ミクロンの円型微細孔によって多孔化している。一般的にこのようなステントを血管内に留置するとステント内腔面が内膜組織の形成によって肥厚しながら最終的に内腔が内膜化されていくが、小血管の場合肥厚しすぎると閉塞に至る場合がある。そこで、本ステントのようにカバー薄膜を多孔化することで血管内皮細胞が微細孔を通過して内腔面に移動できるようになるため、早期に内皮化でき過剰な肥厚を抑制できるという特徴を有している。

これまでの動物実験で、多孔膜の開口率を 12.6%から 23.6%に増加させることで、確実に動脈瘤を塞栓しながら、内膜肥厚の抑制し内腔面を内皮化できた。さらに開口率を大きくすることで、より早期の内皮化が期待できるが、塞栓能が低下

することが懸念される。

図1. カバードステントの外観



そこで本研究では、カバー薄膜が有する微細孔の直径と開口率の最適化を目的として、円型孔の直径と開口数（開口率）を系統的に変化させたカバー薄膜を作製し、これを動脈瘤モデルの開口部に留置し、生理的流れ条件下で瘤内流れの可視化を行うことで、その留置効果を定性的に調べた。また瘤内の血流速度ベクトルを PIV 法によって計測し、流体力学に基づいてカバー薄膜の塞栓能を定量評価する試みを行い、得られた結果を使って、大きな開口を有しながら塞栓能も両立した微細孔の最適設計を提案したので報告する。

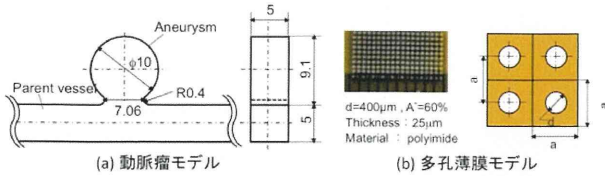


図 2. 2次元動脈瘤モデルと多孔薄膜モデル

B. 研究方法

本研究では、カバー薄膜の血流抑制効果による瘤塞栓能の定量評価と微細孔の設計最適化を目的としていることから、個体差の影響の大きい動物実験では無く、所望の条件を再現することで繰り返し実験可能で、かつ定量評価可能な生体外模擬実験を行った。生体外模擬実験を行う場合、生体内の全てを生体外に再現すると、より正確に現象を再現できるが、モデルの作製や計測・評価が難しくなったり、結果に一般性が無くなったりする可能性もある。そこで本研究では、動脈瘤内の血流動態を再現するために、流体力学理論と力学的相似則に基づいて、動脈瘤モデルの設計と実験条件の設定を行った。

具体的には、カバードステントを留置する動脈瘤ができた血管（以下、親血管と呼ぶ）の内腔直径を動脈瘤が好発する代表的な脳動脈である直径を $d=3\sim 6\text{mm}$ 、そこを流れる平均血流量を $Q=0.1\sim 0.6\text{L/min}$ 、心拍数を $HR=60\sim 100\text{bpm}$ ($f=1\sim 1.67\text{Hz}$)、血液の密度と粘度を $\rho=1040\text{kg/m}^3$ 、 $\mu=4.62\text{mPa}\cdot\text{s}$ (動粘度 $\nu=4.44\text{mm}^2/\text{s}$)と設定した。流体力学では、管内を流れる流体が時間変動を伴う拍動流れでは、流れの状態を表す無次元パラメータとしてReynolds数 (Re) とWomersley数 (a)

$$Re = \frac{\bar{U}d}{\nu}$$

$$a = \frac{d}{2} \sqrt{\frac{2\pi f}{\nu}}$$

を使って、流れの支配方程式を表現できる。ここでReynolds数は流れの状態（層流、乱流）を表すパラメータであり、定常流れではReynolds数が同じであれば流れが相似となる。Womersley数は、流れの非定常性を表すパラメータであり無次元周波数を意味する。親血管におけるこれら無次元パラメータは、 $Re=170\sim 950$ 、 $a=1.78\sim 5.0$ 程度となる。 $Re<2000$ では流れは層流であり、Womersley数は $a\leq 5.0$ であれば準定常流れと見なすことができ、これは流れが時間変動の影響を受けず各瞬間の流速値に対応する定常流れと同じ流れが時々刻々と現れることを意味している。以上のこ

とから、力学的相似則に基づき、親血管内の流れが同じレイノルズ数の定常流れで相似と見なせることから、定常流れ条件下でレイノルズ数をパラメータとして、 $Re=170\sim 950$ の範囲で実験することとした。

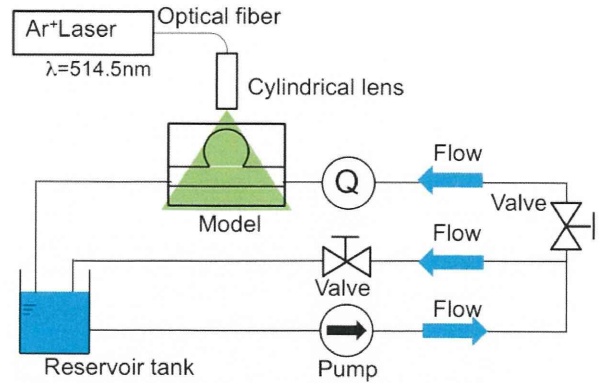


図3. 生体外模擬循環回路概略図

図2に実験で使用したモデルを示す。動脈瘤モデルとしては、親血管が直径5mmで、瘤が親血管側壁に形成される側壁型を想定した。ここで瘤の大きさは、瘤直径を親血管直径の2倍、瘤開口部直径（ネック幅）を約7mmとし、瘤直径とネック幅の比で表されるアスペクト比が約1.43と、瘤破裂する危険性があまり高くないものを対象とした。実際の動脈瘤と親血管は3次元的な形状を有しているが、これではモデル内流れが複雑になるため、親血管は直管とし、親血管と瘤はそれらを側面から投影した形を有する2次元モデルとして単純化した。ただし、2次元動脈瘤・親血管モデル内で生じる流れによる圧力損失を実際の親血管と一致させるため、親血管と動脈瘤の奥行きは親血管幅と同じ5mmとした。

モデルに留置する多孔薄膜モデルとしては、実際に留置されるカバー薄膜とほぼ同じ25・μmの膜厚をもつポリイミドフィルムに、正方格子状に円型微細孔をエキシマレーザーによって搾孔し、格子間隔と孔直径を系統的に変化させた。なお、カバードステントでは、微細孔直径と比ベステントストラットのピッチは十分に広く、流れの抑制効果のほとんどがカバー薄膜によると考えられることから、ステントストラットは無視し、多孔薄膜モデルだけを2次元動脈瘤モデルに設置し生体外模擬実験を行った。

生体外模擬実験用の循環回路の概略図を図3に示す。本回路は、タンクに貯められた模擬血液（45wt%グリセリン水溶液、密度 $\rho=1090\text{kg/m}^3$ 、動粘度 $\mu=4.0\text{mm}^2/\text{s}$ ）を、遠心ポンプによって圧送し、バルブと流量計で流量を調整した後に、親血管モデルに流入させ、その後タンクに戻す閉ループ循環系とした。実験では、予め作動流体中に流れの

可視化のための散乱粒子（二酸化ケイ素粉末、密度 $\rho=1950\text{kg/m}^3$ 、平均粒径 $d=20\mu\text{m}$ ）を混入してあり、半導体レーザーを光源としたレーザーシートを照射することで、動脈瘤モデル内流れを高輝度化し、側方に設置した高速度カメラで撮影した。得られた可視化画像を基に、動脈瘤内流れの流脈線画像の再構築や、PIV解析により速度場情報を求めた。

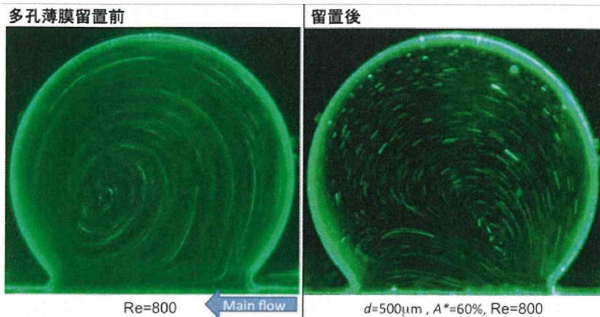


図4. 動脈瘤内で見られたフローパターン

C. 研究結果

まず、瘤内に現れたフローパターンの可視化写真例を図4に示す。本実験条件内では、大きく分けて2つのフローパターンのいずれかが現れた。1つめは、薄膜留置前に代表的に観察できる流れで、親血管の主流の影響を受け、そのせん断力によって瘤内の流体が駆動され、瘤内で大きく渦を巻いていた。この渦の回転速度は非常に速く、このような流れを主流せん断応力誘起型とした。2つめは、親血管内で主流方向に圧力損失が生じ、この小さな圧力差が駆動力となり、瘤内の流体が主流せん断応力誘起型とは逆回転で非常にゆっくりとした円弧状の流れパターンを示していた。このような流れを摩擦圧力損失誘起型とした。微細孔直径と薄膜の開口率に関わらず、この2つのいずれかもしくは2つが共存するようなフローパターンが観察されたことから、これらが発生する条件を開口率と開口直径、レイノルズ数でマッピングしたところ図5の様になり、摩擦圧力損失誘起型のフローパターンが最も薄膜留置効果が現れていることがわかった。

そこで薄膜留置効果の定量評価を試みた。具体的には、可視化画像を基に、瘤内流れの速度分布をPIVにより計測し、そこから①瘤内流体の流動の程度を表す運動エネルギー、②血管内血流において血栓形成の指標とされるせん断速度、③瘤内に形成された渦の強さを表す循環、をそれぞれ算出し、多孔薄膜の留置前後の比を取ることで、留置効果を定量的に評価した（図6）。

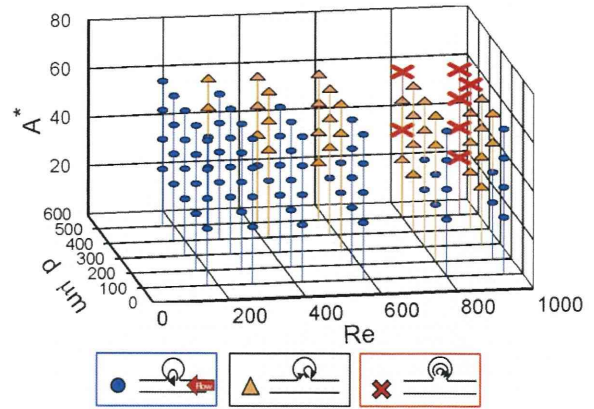


図5. 多孔薄膜の留置条件と瘤内フローパターンの関係

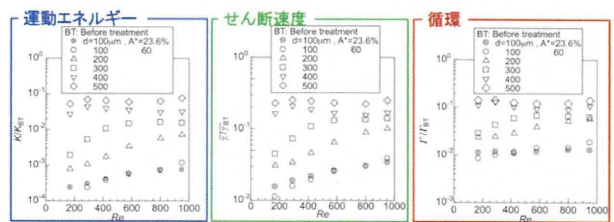


図6. 力学量による薄膜留置効果の定量評価結果

その結果、孔径や開口率に関わらず薄膜の留置によって、これら力学量は大幅に抑制でき、薄膜留置前と比べ運動エネルギーが7%以下、血栓形成指標であるせん断速度は20%以下に抑制できた。特に孔径 $100\mu\text{m}$ の薄膜については、従来の動物実験で瘤への治療効果が確認できていた開口率23.6%から60%と大幅に開口させても、その流れ抑制効果はほとんど変わらないことが分かった。また開口率60%の多孔薄膜については、孔径が $300\mu\text{m}$ 以下にすることで留置の効果が大きく現れたことから、カバー薄膜に穿孔する微細孔直径は $300\mu\text{m}$ 以下が望ましいことが予測された。

D. 考察

図6で示したように、同じ開口率にも関わらず開口直径の違いが瘤内フローパターンに影響した原因については、大孔径の方が微細孔配列1ピッチ間にわたる親血管壁での圧力損失が大きくなることから、各孔間の圧力差が大きい方が瘤内の流れが誘起されやすくなったためと考えられる。また、レイノルズ数の増加に伴い圧力損失も大きくなるため、誘起された流れも速くなるが、これに伴い対となる渦が誘起されることとなり、最終的に低レイノルズ数でも圧力損失型の流れからせん断応力誘起型へと遷移したと推察される。このことから、比較的小さな孔を多数開け、各孔間の圧力差を小さくすることで、瘤内の循環

流れを抑制できると考えられる。

E. 結論

側壁型動脈瘤の2次元モデルを使用した生体外模擬実験によって、カバードステントの多孔薄膜の塞栓性能の定量評価を行ったところ、薄膜留置によって瘤内流れを大幅に抑制できることが確認できた。また、従来と比べ約2.5倍の開口率を持つ開口率60%の多孔薄膜についても、孔径が300・m以下にすることで、薄膜留置前と比べ瘤内流れの運動エネルギーを1/100以下、血栓形成指標であるせん断速度は1/10以下に抑制でき、カバー薄膜に搾孔する微細孔は直径300・m以下が望ましいことが分かった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

- 1) 紅林芳嘉, 中川雄太, 田地川勉, 大場謙吉, 中山泰秀, 西正吾; 頭頸部動脈瘤治療のための微細多孔薄膜カバードステントの開発: 微細孔設計のための生体外実験, 生体医学, 49 Suppl. 1, 03-4-2, (2011).

学会発表

- 1) 紅林芳嘉, 中川雄太, 田地川勉, 大場謙吉,

中山泰秀, 西正吾; 頭頸部動脈瘤治療のための微細多孔薄膜カバードステントの開発: 微細孔設計のための生体外実験, 第50回日本生体医工学会大会.

- 2) 紅林芳嘉, 市川智紀, 吉田直之, 田地川勉, 大場謙吉, 西正吾, 中山泰秀; 動脈瘤治療用微細孔カバードステントの開発における拍動流下での瘤内流れの解析, 第49回日本人工臓器学会大会, 人工臓器, 40 (2), S. 106, (2011).
- 3) 中山泰秀, 西正吾, 紅林芳嘉, 田地川勉, 大場謙吉, 植田初江, 森脇健司, 和田晃, 山下修蔵; 動脈瘤治療用カバードステントの開発: 大開口化孔設計時の塞栓, 分枝開存, 内膜形成評価, 第49回日本人工臓器学会大会, 人工臓器, 40 (2), S. 102, (2011).
- 4) 紅林芳嘉, 田地川勉, 大場謙吉, 西正吾, 中山泰秀; 生体外模擬実験による脳動脈瘤治療用多孔薄膜カバードステントの開発—孔径・孔密度の違いが瘤内流れに及ぼす影響—, 日本機械学会バイオエンジニアリング部門 第24回バイオエンジニアリング講演会, 第24回バイオエンジニアリング講演会講演論文集 (CD-ROM), 11-47, 7F23, (2012).

厚生科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）
 分担研究報告書

頭蓋内カバードステントの開発：
 デバイス設計に関する研究

研究分担者 山下 修蔵 日本ステントテクノロジー株式会社社長
 研究分担者 三宅 雅 日本ステントテクノロジー株式会社開発部長
 研究分担者 和田 晃 日本ステントテクノロジー株式会社開発部研究員
 研究分担者 則安紘亨 日本ステントテクノロジー株式会社開発部研究員

頭蓋内ならびに心血管の双方を治療可能な新たな低侵襲血管内治療デバイスとして「多孔化薄膜カバードステント」の開発を開始した。最終年度の医師主導型治験によって早期の実用化を目指すための基盤技術を構築するため、カバードステントへの穿孔を行うエキシマーレーザー装置を導入し、カバードステント量産体制の一角を整備した。脳血管外科領域で必要とされる、巨大あるいは広開口脳動脈瘤の治療デバイスとして開発するためには、心血管用ステントよりも大きな、拡張径 4.5mm φ前後が必要と考えられるが、そのための設計見直しも開始した。平行して行われた、第一次のカバードステント量産の結果、今後の更なる量産に向けた問題点の抽出が行われ、いずれも改良に向けた施策を講じる見通しが出来てきた。

A. 研究目的

本研究は、頭蓋内ならびに心血管の双方を治療可能な新たな低侵襲血管内治療デバイス「カバードステント」の開発を目的とする。このステントは、独自の骨格設計によって、高拡張力と柔軟性を併せ持つ高い力学的特性を有する。さらに、厚さ僅か十数ミクロンの高伸縮性ポリウレタン薄膜によってステントストラットが埋没するようにカバー化され、金属の露出は全く無く、高生体適合性を有するものである。これは、従来にない全く新しい発想の新規血管内治療デバイスであるため、治験の段階に至るためにはいくつかのブレークスルーが必要と考えている。

平成 23 年度から平成 27 年度に至る全 5 カ年の計画の中で、平成 23・24 年度には、ステント基材の設計、物性評価、孔設計、薬物搭載技術など基盤技術の確立を目標としている。全 5 カ年の計画の中盤以降には、カバードステント、特にそのカバーフィルムに対する各種安全性試験、非臨床・臨床試験を実施する予定であり、最終段階の治験に至るまでには相当量のサンプル（年間数百本以上）を供給できる体制が不可欠である。本年度は、本格的な量産体制を構築する以前に、最終ステント仕様を決定するために必要な基礎情報の整備、必要な開発環境構築を行う。具体的には、カバーフィルムの設計改良や加工法検討、及び留置部位の見直しによる拡張径の大径化検討等を行う。

B. 研究方法

これまでのラボスケールでは、旧式のエキシマーレーザー加工装置を用いてステントのカバーフィルムに 100 μm または 300 μm の穿孔作業を行

ステント拡張時 [mm]		Diameter [mm]		
		4.0	4.5	5.0
Length [mm]	16.0			
	22.0			
	28.0			

Middle Size

材料チューブ径 [mm]	拡張径 [mm]		
	4.0	4.5	5.0
	3.0		4.0

っていたが、機械的性能の制約から非常に作製効率が低い

表 1. 脳動脈用ステントのサイズについて

プロセスであった。本年度の研究では、最新式エキシマーレーザー加工装置を導入し、最新の機能を用いた新しい穿孔手法の検討を行った。具体的には、加工装置の画像自動認識機能と、穿孔パターン、孔サイズの選定により、動脈瘤の自然閉塞や分枝血管への血流確保に最適な開口率や力学的強度を実現するように設計するものである。

また、これまでのラボスケールではウサギの頸動脈留置実験を行うことを前提としていた関係上、拡張径 3.0mmφ のステントを作製していた。しかし、将来の本格的な臨床試験を想定した場合、ターゲット部位として、内頸動脈海綿静脈洞部（頭蓋底付近）に発生した動脈瘤を選定し、その正常血管径（5mmφ弱）をステントの中心径とする拡張径 4.0~5.0mmφ のステントを対象とすることが考えられた。これに合せ、材料チューブも従来の外径 2.0mmφ ではなく、3.0mmφ または 4.0mmφ を調達する必要が生じ、ステントデザインについても基本的な最適設計をやり直す必要が生じた（表 1）。なお、上記ターゲット部位では側副血行が十分に発達している症例であれば、万一閉塞が起きても重大な障害に繋がる可能性は少ないと判断している。



図 1. エキシマーレーザー加工装置

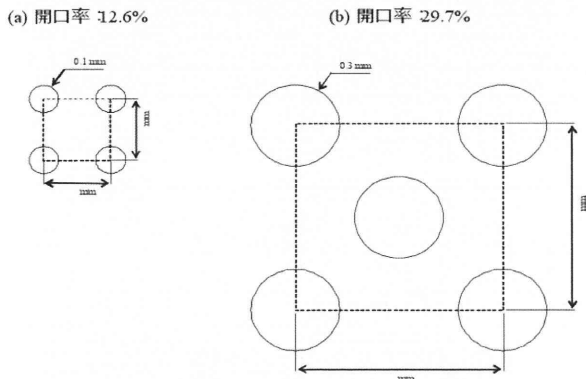


図 2. カバーフィルムへの穴あけパターン

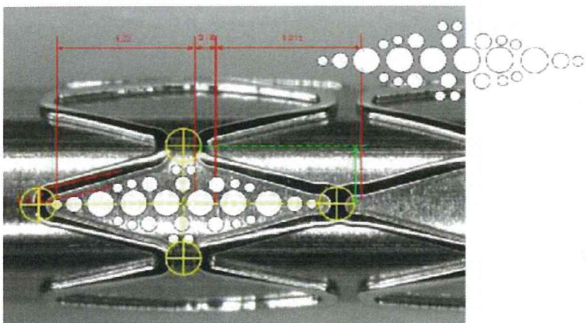


図 3. 画像パターン認識機能

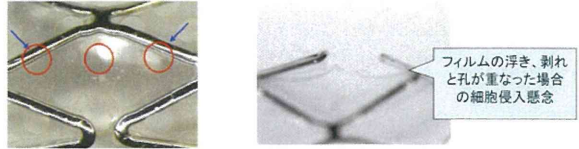


図 4. ステントと孔の重なり

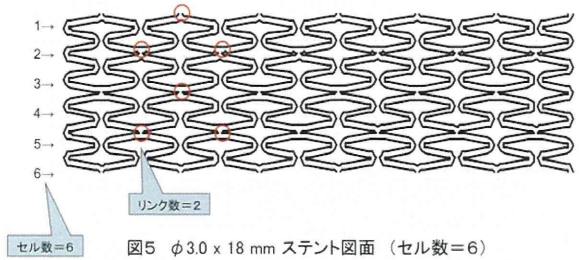


図 5 φ 3.0 x 18 mm ステント図面（セル数=6）

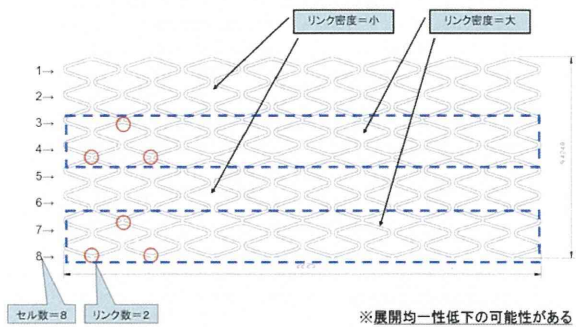


図 6 φ 4.5 x 22 mm ステント図面（セル数=8）

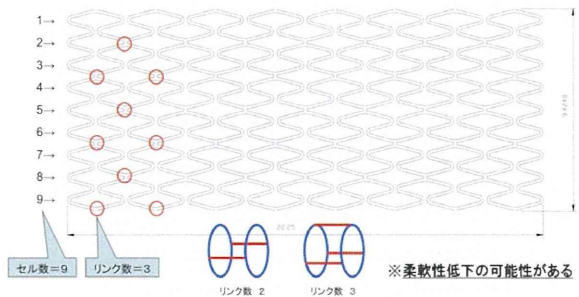


図 7 φ 4.5 x 22 mm ステント図面（セル数=9）

C. 研究結果

今回導入したエキシマーレーザー加工装置（図 1）は、レーザー発振機（KrF:波長 248nm、出力 3W、10mJ、300Hz）を備え、本研究において対象としている代表的な寸法のカバードステント（外径 2mmφ×18mm）に対して、図 2 のような穴あけパターンであれば、1本あたり約 5分（性能からの計算上）で全体に穿孔を行うことができる。従来国立循環器病研究センター内のラボスケールで実施していた旧型エキシマーレーザー加工装置では 1本あたり 1時間程度加工時間がかかっていたことから比べ、大幅に作業効率を向上させた製作体制を構築することが出来た。

また、この最新型エキシマーレーザー加工装置は穿孔する対象物の画像情報からパターン認識を行い、特定の場所（ステントストラット部分）を避けて穿孔するプログラム機能を有する（図

3)。従来のレーザー加工装置ではステントストラット部分と空けるべき孔が重なってしまった場合(図4)、無関係に孔を空けてしまっており、そこがカバーフィルムの破断や細胞侵入に繋がる可能性があった。今後はこの自動認識機能を活用することにより、カバーフィルムの耐久性を大きく改善できる見通しが得られた。この自動認識機能と、新たなカバーフィルム穿孔パターンの設計開発から得られた成果は、特許性のある差別化独自技術であると考えられ、次年度早い時期に特許として出願する計画である。

従来拡張径 3.0mmφのステントでは、円周方向のセル数は6個であった(図5)。これに対し、今後脳動脈瘤用ステントとして拡張径を4.5mmにする場合に、3.0mmφステント用の設計図をそのまま二次元的に拡大すると、空隙が大きくなって、血管内壁の支持性能に悪影響が出ることが懸念された。これを改善し、空隙の適正化とステントの血管支持力を確保するため、セル数を8個(図6)や9個(図7)にした場合にどうなるかを検討した。本年度は基本設計と初期のレーザー加工を行う段階までであったが、セル数9個の場合、自然なリンク数は3本となるため(図7)、この形状ではステント全体の柔軟性に問題が発生することが予想された。図8は、実際にセル数8の設計図を作成し、レーザー加工を行った段階のステントである。

カバードステントの量産体制構築に備え、そのストラット幅、厚み、カバーフィルムとの接着状況に大きな影響を与える要素技術である、電解研磨技術の導入をI社経由でAMS社から受け入れた。電解研磨に際しては、

- ・定電圧制御又は定電流制御のいずれか
- ・効果的な電流、電圧領域
- ・実用的な研磨率(重量減少%)
- ・レーザー加工法や前処理(エッチング)、後処理(洗浄)
- ・反応系の温度制御、最適温度域、それを実現する容器
- ・電極形状
- ・電源装置のパルス電流化とその設定間隔
- ・研磨用電解液の組成

等において、従来の社内技術上の問題点(長尺ステントの均一研磨、表面の粗さ調整、製造手順、大口径ステントへの対応、等)を改善する上で大きな成果を得た。

この技術者は、海外大手のステント加工技術のアドバイスをしていた実績もあり、本研究開発で行う予定のNiTiの加工技術や電解研磨の知識に長けていた。当面、CoCrを材料としたステントを対象とし、年間数百本から2000本程度のステント作製を行う程度であるが、今回の電解研磨技術導入によって、10,000本/年という生産数はそう多くない本数といえる程度の技術が極めて短期に導入出来たと考えている。特に別途当社に導入した、最新のステントカッター(ファイバーレーザー発振器)によって、非常にバリの少ないステントを加工できる体制が整ったため、効率的な電解研磨に至るまでのステントデザインの設計方

法、最適レーザー加工フロー、エッチング処理、等の工程改良・開発手法をノウハウとして取得できたことは有益であった。

D. 考察

本研究に並行して行われた、カバードステント第一次量産(総数100本)は、従来のラボスケールの製作工程の単なる拡大版として行われた。その結果、以下のような問題点が抽出され、次の量産に向けた多くの改善対象項目となった。

- ・材料チューブが冠動脈ステントと同じ1.55mmφであり、製作されたステントにポリウレタン製カバーフィルムを形成するために2.0mmφまで予備拡張する工程が複雑。ステント物性への悪影響も未評価。
- ・カバーフィルムを形成する作業環境のクリーン度が低く異物が入り易い。
- ・カバーフィルムにアルガトロバンを含浸させる工程が定量性に欠ける。
- ・フィルム形成後、マンドレル(軸棒)を抜く際にフィルム破損が起き易い。
- ・フィルム形成後の乾燥や滅菌条件の設定が標準化されていない。
- ・エチレンオキサイドガスで滅菌する際、カバーフィルムの物性への影響評価が不明。

また、脳動脈瘤用カバードステントについては、関係者による情報収集及び意見交換の結果、冠動脈用カバードステントの拡張径(3.0mmφ)よりも大きなサイズで開発を行うこととなり、中心拡張径を4.5mmφとすることとなった。結果に記したように、冠動脈用ステントの規格から大きく外れるため、材料チューブの手配、ステント設計、搭載するバルーンのサイズ、一連のマッチング評価など、新規デバイスとして基本的な評価をすべき項目がいくつか存在する。

この脳動脈瘤用カバードステントは、まず、オーファンデバイス(希少疾病用医療用具)として治験申請することを目標に開発を進める計画である。オーファンデバイスとして認定されると、補助制度や優先審査、審査費用軽減などの特典があり、一定の実績を積むことによって、より広い症例に対して適用できるデバイスへと発展できる可能性も存在するとのことである。オーファンデバイスとして申請する手順について、次年度早い時期に準備を進め、申請の根拠となる症例数など、必要な情報を収集する。なお、日本の全人口1.2億人とすると、1.2億人×3%(脳動脈瘤患者)×0.5%(適用可能部位)=18000人、程度が対象患者数となる。

E. 結論

本年度のカバードステント第一次量産で見出された課題については、それぞれ、

- ・材料チューブを予め予備拡張寸法の外径に設定し、ステントへ切出す技術(拡張径3.0mmであれば2.0mmチューブから)。
- ・コーティング装置改良、クリーンブース設置。

- ・アルガトロバン濃度 v s ポリマー濃度、定量法の確立。
- ・フィルム形成時のマンドレルからの脱離を溶媒系の工夫により容易化する技術。
- ・真空乾燥装置導入及び温度高温化 (55℃) 設定。
- ・エチレンオキサイドガス滅菌手法標準化、評価技術確立。

等、当社保有技術の本格的適用及びカバードステントに最適化すべき改良処置の開発研究により、次の第二次量産に向けた製造体制の整備を行うことができた。

脳動脈瘤用カバードステントのターゲットサイズ拡大 (中心径 4.5mmφ) により、材料チューブサイズも冠動脈ステント用の外径 2.0mmφ から 3.0mmφ へと変更となる。外径 3.0mmφ の材料チューブ (CoCr) は冠動脈ステント用としては一般的ではないサイズであるため、従来のルートでの入手から新たな入手の手配を検討する必要があり、次年度に早期の手当てを行いたい。また、ステン

トの設計段階から見直しも必要となるが、本年度研究の成果を元に当社の保有技術をフルに適用することにより次年度中に試作段階へ至ることは可能であると考えている。

この拡張径 4.5mmφ サイズのカバードステントでは、従来、脳動脈瘤動物実験モデルとして使われていたウサギ頸動脈瘤実験を適用することが出来ない。また、別途行われた動物実験の情報から、ウサギとブタでは炎症反応の起き方に差異があり、ブタの方が人間に近い反応を示すとの情報を得た。こうした結果に対応した動物実験モデルを構築すべく、次年度の早い時期に最適な試験環境を探索する計画である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sumikura H, Toda K, Takewa Y, Tsukiya T, Ohmura K, Sasagawa M, Watanabe F, Ugawa J, Taenaka Y, Tatsumi E	Development and Hydrodynamic Evaluation of a Novel Inflow Cannula in a Mechanical Circulatory Support System for Bridge to Decision	Artificial Organs	35(8)	756-764	2011
Tatsumi E	Challenges in research and development, productization, and clinical application of advanced medical devices in Japan	Japan Medical Association Journal	54(5)	331-334	2011
Tsukiya T, Toda K, Sumikura H, Takewa Y, Watanabe F, Taenaka Y, Tatsumi E	Computational fluid dynamic analysis of the flow field in the newly developed inflow cannula for a bridge-to-decision mechanical circulatory support	J Artif Organs.	14	381-384	2011
巽 英介	次世代型人工心臓の開発と臨床応用	応用物理	80(2)	110-115	2011
巽 英介	先進医療機器の開発・臨床応用・製品化における現在の課題	ライフサポート	23 (2)	58-62	2011
築谷 朋典	ターボ型血液ポンプの研究開発の進歩	循環器病研究の進歩	32	73-80	2011
妙中 義之、山本 晴子、小林 江梨子	医療機器の臨床試験の実施の基準（医療機器 GCP）について	医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	42 (8)	680-683	2011
巽 英介	わが国における先進医療機器の研究開発・臨床応用・製品化に関する諸問題と対策	日本機械学会雑誌	114 (1115)	9-12	2011

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakayama Y, Yamaoka S, Yamanami M, Fujiwara, M, Uechi M, Takamizawa K, Ishibashi-Ueda H, Nakamichi M, Uchida K, Watanabe T, Kanda K, Yaku H	Water-soluble argatroban for antithrombogenic surface coating of tissue-engineered cardiovascular tissues	J Biomed Mater Res B Appl Biomater	99B(2)	420-430	2011
Nakayama Y, Yahata Y, Yamanami M, Tajikawa T, Ohba K, Kanda K, Yaku H.	A completely autologous valved conduit prepared in the open form of trileaflets (type VI biovalve): mold design and valve function in vitro.	J Biomed Mater Res B Appl Biomater	99B(1)	135-141	2011
Nakayama Y, Yamaoka S, Nemoto Y, Alexey B, Uchida K.	Thermoresponsive heparin bioconjugate as novel aqueous antithrombogenic coating material.	Bioconjug Chem	22	193-199	2011
Nakayama Y, Okuda K, Takamizawa K, Nakayama A.	Preparation of well-defined poly(ether-ester) macromers: photogelation and biodegradability.	Acta Biomater.	7	1496-1503	2011
Nishi S, Nakayama Y, Ishibashi-Ueda H, Okamoto Y, Yoshida M.	Development of microporous self-expanding stent grafts for treating cerebral aneurysms: designing micropores to control intimal hyperplasia.	J Artif Organs.	14	348-356	2011
Moriwaki T, Oie T, Takamizawa K, Murayama Y, Fukuda T, Omata S, Kanda K, Nakayama Y.	Variations in local elastic modulus along the length of the aorta as observed by use of a scanning haptic microscope (SHM).	J Artif Organs.	14	76-283	2011
Watanabe T, Kanda K, Yamanami M, Ishibashi-Ueda H, Yaku H.	Long-term animal implantation study of biotube-autologous small-caliber vascular graft fabricated by in-body tissue architecture.	J Biomed Mater Res.	98B(1)	120-126	2011
紅林芳嘉、中川雄太、田地川 勉、大場謙吉、中山泰秀、西 正吾	頭頸部動脈瘤治療のための微細多孔薄膜カバードステントの開発 発：微細孔設計のための生体外実験	生体医工学	49	recorded on CD-ROM disk	2011