

体内埋め込み医療材料の開発と
その理想的な性能・デザインの要件

技術情報協会

[9] 心臓血管外科で起こるトラブルと求められる足場材料

はじめに

心臓血管外科領域の術後合併症の中でも、感染は治療に難渋するトラブルである。特に心臓外科手術で頻用される人工血管や人工弁などの代用物は感染に弱く、一旦感染してしまうと抗生物質の大量長期投与でも完治することは少なく、しかも抗生物質の大量全身反復投与は腎臓や肝臓をはじめとした臓器障害をきたす。結局、感染人工物の再置換術が必要となるが、この種の手術成績は極めて不良である。

そこで我々は田畑らが開発した生体吸収性ゼラチンハイドロゲルによるタンパク徐放システム¹⁾や、玄らが開発した aldehyded dextran ande-poly (L-lysine)²⁾に着目し、これらを足場材料として、血管新生タンパク局所徐放による血管新生誘導や、感染部位に対する抗生剤の局所徐放投与による新たな感染予防法・治療法の開発に取り組んできた。本稿では、心臓血管外科領域における感染に対するこれまでの我々の取り組みを概説する。

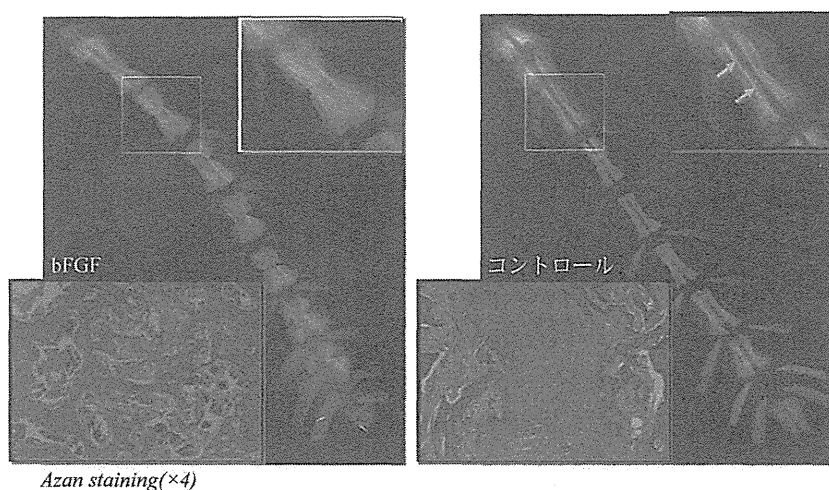
1. 心臓血管外科領域での足場材料の応用

1.1 胸骨早期再生に対するゼラチンハイドロゲルを用いた bFGF 徐放の応用

心臓外科手術においては、胸骨正中切開により心臓にアプローチするのが一般的であるが、胸骨切開部の虚血や壊死から前縦隔の感染を発生し、胸骨縦隔洞炎へ移行する場合がある。胸骨縦隔洞炎はデブリドマンや抗生剤投与を行っても死亡率は高い。また、冠動脈バイパス術の使用血管に関して、胸骨栄養血管である内胸動脈を使用する機会が増えていくが、両側の内胸動脈を使用することで胸骨への血流は減少し、胸骨縦隔炎を増加させることにつながる。このような状況において胸骨の治癒を促進させ胸骨合併症のリスクを減らすことは非常に大きな意味を持つ。

塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) は優れた血管新生効果や骨新生効果を有していることが知られており、我々が求める胸骨の早期治癒には有用であると考えた。そこでまず糖尿病ラットを用いて、胸骨正中切開後に両側内胸動脈を結紮・切離して胸骨虚血モデルを作成し、胸骨下に bFGF 徐放化ゼラチンシートを接着させ胸骨を閉鎖した群 (bFGF 群) とゼラチンシートのみを接着させた群 (対照群) を比較したところ、術後 4 週目の血流測定で bFGF 群では有意な血流量の増加がみられた。さらに胸骨縦隔洞炎発生についても、bFGF 群は有意に発生率が少ないという結果が得られた³⁾。

さらに、ビーグル犬を用いた大動物での実験では、胸骨切開後両側内胸動脈を剥離・切除し bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルシートを縫着した群 (bFGF 群) と対照群を比較したところ、bFGF 群では血流量の増加だけでなく、術後 4 週目のレントゲン写真と組織標本の比較で完全な骨癒合と軟骨内骨化を認めたのに対して、対照群では一部にしかみられなかった (図 1)⁴⁾。以上の結果より bFGF 局所徐放が胸骨感染予防に対して有用であることが証明された。



コントロール群では、胸骨切開部にスリットを認めるが、bFGF 徐放シート治療群では強固な骨新生を認めた (引用:文献 4)

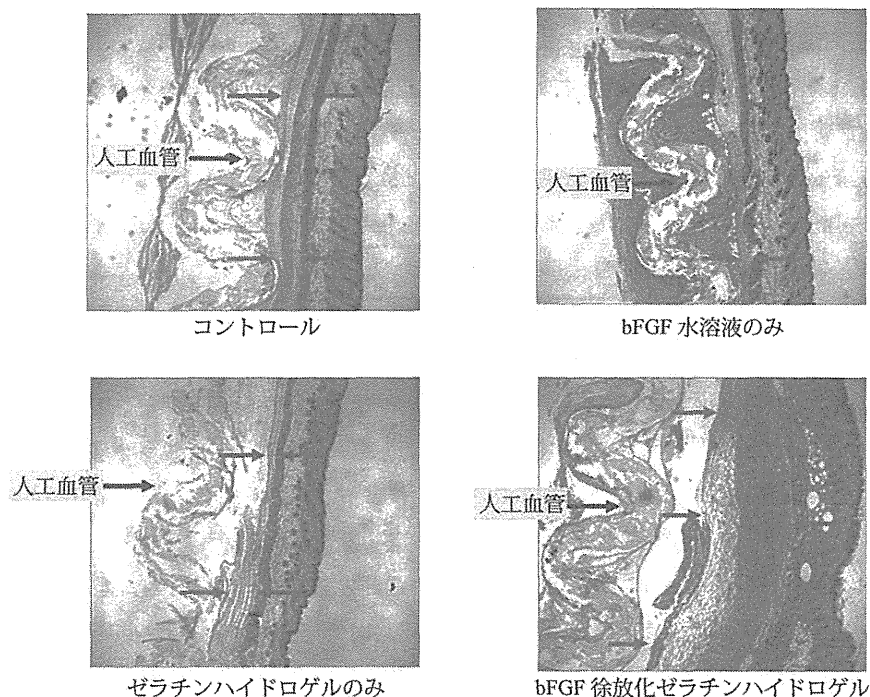
図 1 胸骨 X 線および組織像 (ビーグル犬)

1.2 bFGF 徐放効果によるライン感染予防

ドナー不足が深刻な問題となっている心臓移植の代わりに補助人工心臓が注目されているが、補助人工心臓やそのドライブラインなどの感染症は非常に重篤で致命的となる。人工物ライン感染の原因のひとつはライン刺入部からの細菌の混入である。そのため、刺入部からの感染予防及び異物であるラインへの菌の付着防止が重要である。

そこで生体分解材料である poly-L-lactide-co-caprolactone (PLCA)⁵⁾ を用いた抗生剤徐放効果に注目し、マウスの皮下に術後感染の原因菌の一つであるメチシリン耐性ブドウ球菌 (MRSA) と人工血管および MRSA に対する抗生剤バンコマイシン (VCM) を含浸させた PCLA シートを併せて植え込み評価を行った。VCM 局所投与群では組織中 VCM は投与後 2 日で消失したが、VCM+PLCA シート群は投与後 2 週間以上検出され続け、MRSA の菌体数に関しても対照群と比較し、VCM+PLCA シート群で有意に減少していた⁶⁾。

また、生体分解材料であるゼラチンハイドロゲルを用いて、bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルの MRSA 感染による治療効果についても検討した。マウスの皮下に人工血管と bFGF 徐放化ゼラチンハイドロゲルを併せて植え込み、その直上に MRSA を皮下接種したところ、他群と比べ bFGF 徐放群で人工血管周囲組織に血管新生が確認され、また人工血管繊維中の MRSA 数の有意な減少 (約 10 分の 1) が見られた。また、bFGF 徐放群にのみ人工血管と筋組織との間に豊富な肉芽組織と血管が形成された (図 2)⁷⁾。



人工血管と筋繊維の間には肉芽組織 (矢印) が観察されるが、bFGF 徐放により多くのコラーゲン組織と血管を含む豊富な肉芽組織が形成され、細菌の進入を防ぐと考えられる (引用: 文献 7)

図 2 bFGF 徐放による人工血管周囲の豊富な肉芽組織の形成 (Masson trichrome 染色)

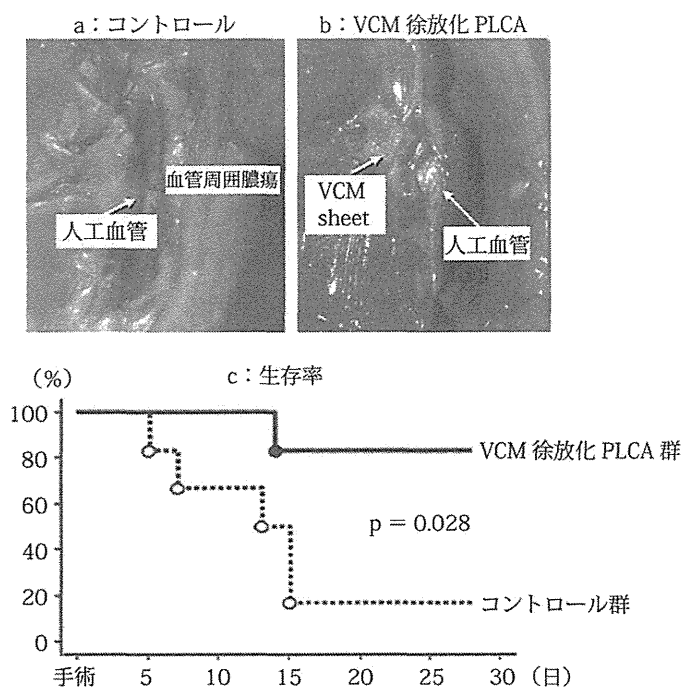
以上より、効果的に抗生剤を局所徐放投与でき、また血管新生により人工血管繊維周囲に有効な組織再生・癒着を起こすことで、細菌の人工血管繊維への侵入防御が可能となり、ライン刺入部創からの細菌感染予防につながるため、さまざまなライン感染予防に応用可能と考えられた。

1.3 人工血管感染に対する抗生剤徐放効果

心臓血管外科の術後合併症の中で、人工血管感染は特に難治性であり、死亡率は高い。治療法としては、感染人工血管の摘出と周囲組織の郭清が重要であるが、再度感染創で人工血管置換をせざるを得ない場合もあり、人工血管再感染の危険は高い。

我々は、ラットの腹部大動脈の一部を MRSA に感染させた人工血管で置換し、PLCA による VCM 局所徐放投与によ

る治療効果を検討した。対照群（抗生剤無し）では血管周囲膿瘍及び膿性液貯留が認められたが、VCM+PLCA 群では、感染所見は認められなかった（図 3a, b）。また、対照群及び VCM 局所投与群と比べ VCM+PLCA 群でのみ血中から MRSA が検出されず、また人工血管に付着した MRSA 菌数の有意な減少も認められ、生存率に関しても VCM+PLCA 群で有意に減少した（図 3c）⁸⁾。また、aldehyded dextran ande-poly (L-lysine) を用いた VCM の局所徐放投与による MRSA 人工血管感染への有効な治療効果も示した⁹⁾。



a: コントロール群, b: VCM 徐放化 PLCA 群
 術後 7 日目において、対照群では血管周囲の膿瘍および膿性液の貯留が認められたが、バンコマイシン徐放化 PLCA 群 (VCM + PLCA) 群では感染所見は認められなかった
 c: 生存率
 VCM 徐放化 PLCA 群で、生存率は有意に減少した
 (引用: 文献 8)

図 3

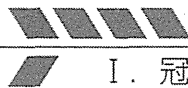
これらの研究結果より、生体吸収性材料を用いることで抗生剤を局所的、より効率的に効果発現させることが可能となり、今後より効果的な人工血管感染治療が期待できると考えられる。

まとめ

心臓血管外科領域の感染症に関連するトラブルの予防は非常に重要なテーマであり、足場材料として生体吸収性材料を用いることにより血管新生タンパクや抗生物質の効率的な局所徐放が可能となり、より低侵襲かつ効果的に感染の予防が可能となった。今後更なる前臨床試験での検証をすすめ、安全性に最大限配慮しつつ臨床応用を目指すことが必要と考えている。

文 献

- 1) Tabata Y, Yamada K, Miyamoto S, Nagata I, Kikuchi H, Aoyama I, et al.: Bone regeneration by basic fibroblast growth factor complexed with biodegradable hydrogels. *Biomaterials* 1998; 19: 807-815
- 2) Nakajima N, Sugai H, Tsutsumi S, Hyon SH. Self-degradable bioadhesive. *Key Eng Mat* 2007;342-343:713-716
- 3) Iwakura A, Tabata Y, Tamura N, Doi K, Nishimura K, Nakamura T, et al. Gelatin sheet incorporating basic fibroblast growth factor enhances healing of devascularized sternum in diabetic rats. *Circulation* 2001; 104: I325-1329
- 4) Iwakura A, Tabata Y, Koyama T, Doi K, Nishimura K, Kataoka K, et al. Gelatin sheet incorporating basic fibroblast growth factor enhances sternal healing after harvesting bilateral internal thoracic arteries. *J ThoracCardiovascSurg* 2003; 126: 1113-1120
- 5) Zhu Y, Chian KS, Chan-Park MB, Mhaisalkar PS, Ratner BD. Protein bonding on biodegradable poly(L-lactide-co-caprolactone) membrane for esophageal tissue engineering. *Biomaterials* 2006; 27:68-78
- 6) Hirose K, Marui A, Arai Y, Nomura T, Inoue S, Kaneda K, et al. Sustained-release vancomycin sheet may help to prevent prosthetic graft methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *J Vasc Surg.* 2006;44:377-382
- 7) Hirose K, Marui A, Arai Y, Fujita M, Nomura T, Mitsuyama M, et al. Basic fibroblast growth factor prevents catheter-related bacterial invasion in mice. *Interactive Cardiovasc Thoracic Surg.* 2005;4:526-530
- 8) Sakaguchi H, Marui A, Hirose K, Nomura T, Arai Y, Bir SC, et al. Less-invasive and highly effective method for preventing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* graft infection by local sustained release of vancomycin. *J ThoracCardiovasc Surg.* 2008;135:25-31
- 9) Morishima M, Marui A, Yanagi S, Nomura T, Nakajima N, Hyon SH, et al. Sustained release of vancomycin from a new biodegradable glue to prevent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* graft infection. *Interact CardiovascThorac Surg.* 2010;11:52-55



1. CABG の現況

坂田隆造

[京都大学医学部附属病院心臓血管外科]

◆はじめに

冠動脈バイパス術 coronary artery bypass grafting (CABG) は、1967年 Cleveland Clinic の Favaloro らによって初めて行われ、本邦でも1970年に瀬在らの最初の報告があった。以来、社会の高齢化や生活様式の西洋化などの影響で虚血性心疾患患者数は増大し、これに伴い CABG 症例数も増加して現在では心臓血管外科手術の中で最も症例数の多い術式となっている。

2005年に本書の第1版が上梓され5年が経った。この間、人工心肺を用いない off-pump CABG (OPCAB) の普及や経皮的冠動脈インターベンション percutaneous coronary intervention (PCI) における薬剤溶出性ステント drug eluting stent (DES) の臨床使用開始があり、CABG を取り巻く環境は大きく変化してきた。

本邦における CABG の現況を日本胸部外科学会の2009年年次集計で分析する。

◆1. 症例数

単独 CABG の年度別手術件数の年次推移を図1に示す。2003年までは右肩上がりで症例数を伸ばしていたが、2004年に大きく減少し、ここ数年は17,000例で推移している。これは先述した DES が本邦でも臨床使用が可能となった時期と一致する。DES の出現により治療方針が少なからず影響を受けた結果といえよう。

ただし、弁膜症と同時手術として行われた CABG が2003年の1,506例と比較して2009年

には2,936例と倍増しており、総 CABG 症例数は20,000例前後で大きな変化は見られない。CABG 症例の重症化を示すものといえよう。

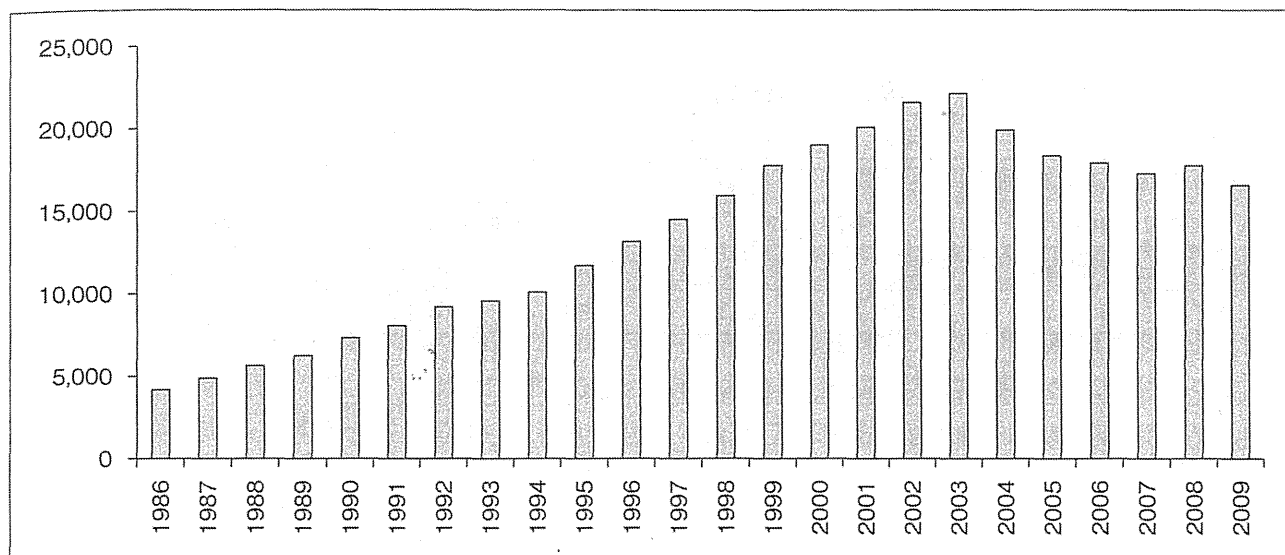
◆2. on-pump vs. OPCAB

OPCAB は人工心肺使用や大動脈遮断による脳合併症は回避できるという点で on-pump CABG より優位とされる。OPCAB 症例は、2000年には約25%でその後漸増していたが、2005年以降は約60%で推移している(図2)。ただし2009年には6,184例の on-pump CABG のうち約3分の1の1,867例が心拍動下に行われており(表1)、全体の約70%の症例は心拍動下に行われていた。OPCAB のデバイスの進歩に加え心拍動下手術経験と吻合技術の向上が寄与しているものと思われる。

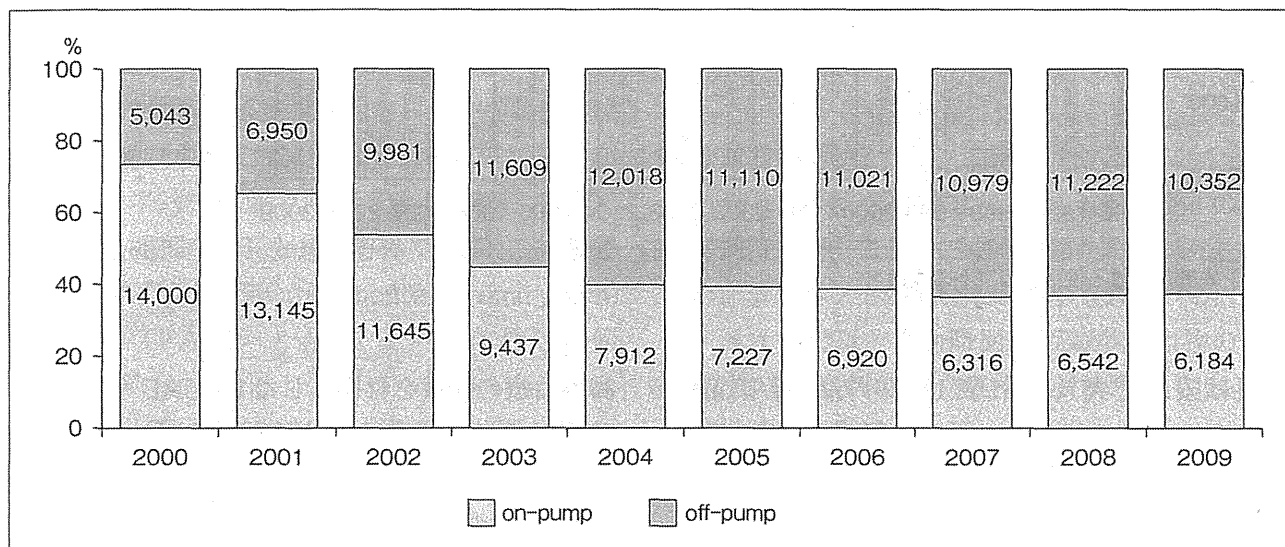
◆3. 使用グラフト

使用グラフトの推移(図3)は、OPCAB の増加と歩調を合わせるように動脈グラフトのみの症例が増加し、2000年前半には全症例の半数を超えていた。aorta non touch による動脈グラフト使用増加と思われるが、その後徐々に減少し2009年には全症例の27%となり、代わりに動脈グラフトと静脈グラフトの組み合わせ症例が約7割まで再増加している。OPCAB 症例で、auto-suture 法を含めた吻合法の確立で安全に中枢吻合が施行できるようになったことが要因の一つと考えられる。

- ◎年々増加していた単独 CABG 症例は DES の普及により減少した。
- ◎OPCAB の比率が高く、その成績も良好である。
- ◎グラフトは、動脈+静脈グラフト症例が多い。



[図1] 本邦における単独 CABG 症例数の変遷



[図2] 本邦における on-pump と off-pump CABG (OPCAB) の症例数と割合の変遷

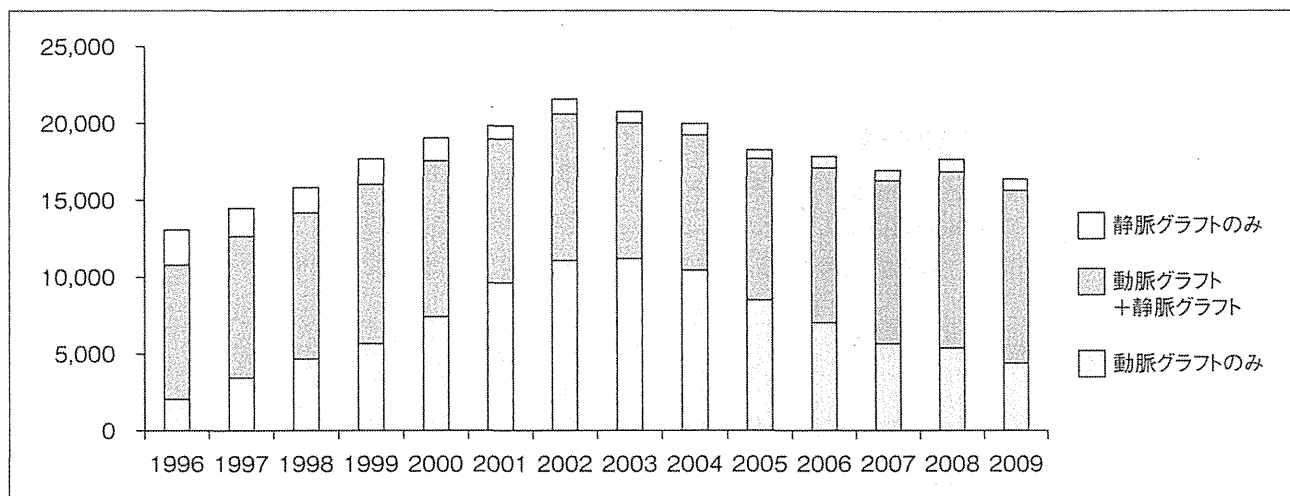
◆ 4. 手術成績

単独 CABG の病院死亡率は 1990 年代後半では 3~4% で推移していたが、2002 年に初めて 3% を割り 2009 年には 2.3% にまで低下した。このうち待機手術の病院死亡率は 1.3% と良好であっ

たのに対し、緊急手術では 8.0% と依然として高い死亡率であった。待機手術の人工心肺の有無では、初回手術の病院死亡率は on-pump arrest 1.1%, on-pump beating 2.7%, OPCAB 1.1% と良好で、再手術症例でもそれぞれ 4% 前後であった。待機手術においてはいずれの方法であっても

[表1] 本邦における2009年の単独CABGの各症例数と病院死亡数・死亡率

on-pump arrested CABG (4,317 症例)							
初回・待機		初回・緊急		再手術・待機		再手術・緊急	
症例	病院死亡	症例	病院死亡	症例	病院死亡	症例	病院死亡
3,605	40 (1.1%)	633	54 (8.5%)	65	3 (4.6%)	14	1 (7.1%)
on-pump beating CABG (1,867 症例)							
初回・待機		初回・緊急		再手術・待機		再手術・緊急	
症例	病院死亡	症例	病院死亡	症例	病院死亡	症例	病院死亡
1,271	34 (2.7%)	526	59 (11.2%)	52	2 (3.8%)	18	2 (11.1%)
off-pump CABG (10,352 症例)							
初回・待機		初回・緊急		再手術・待機		再手術・緊急	
症例	病院死亡	症例	病院死亡	症例	病院死亡	症例	病院死亡
8,927	96 (1.1%)	1,239	78 (6.3%)	166	5 (4.2%)	20	2 (10.0%)



[図3] 本邦における使用グラフトの変遷

成績は安定している(表1)。一方、術中 on-pump conversion となった症例が2009年に214例あり、そのうち待機手術に限っても病院死亡率は4.2%と高いことも事実であり、「on-pump 症例の適応」を十分踏まえたうえでの治療法選択が重要である。

おわりに

以上見てきたように、より低侵襲で臨床効果の

高い治療の提供を目標とした OPCAB や DES の普及が CABG に与えた影響は少なくない。今後、robotic surgery や distal auto-suture technique などに代表される新たなテクニックやテクノロジーの開発が重要であり、それらの普及により CABG もまた大きく変化していくものと思われる。

3. 再生治療

2) 血管

丸井 晃・坂田隆造

要旨

虚血性心疾患や重症下肢虚血に対し、遺伝子導入や細胞移植による血管新生療法が行われているが、現時点では有用性が十分に証明されておらず、確立された治療法には至っていない。われわれは血管新生療法の新たな方策として、生体材料であるゼラチンハイドロゲルをDDSに応用した。塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）徐放化ゼラチンハイドロゲルは臨床試験で安全かつ優れた血管新生効果を示しており、手技も簡便で低コストであった。現在、高度医療評価制度などの医療制度の利用や、企業との連携を強化し、将来的な製品化や保険診療化をめざしてプロジェクトを進めている。

キーワード 血管新生療法, 塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF), ゼラチンハイドロゲル, 虚血性心疾患, 重症下肢虚血

● はじめに ●

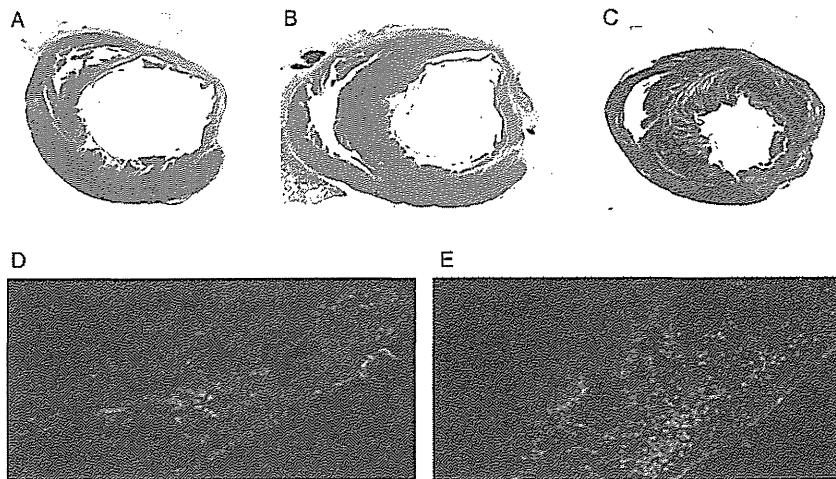
虚血性心疾患や重症下肢虚血に対する血管新生療法が近年脚光を浴びており、すでに国内外で遺伝子導入や細胞移植による血管新生療法が行われている。しかし現時点では、プラセボ群を置いたランダム化比較試験での有効性が証明されておらず、いまだに治療法として確立していない。また、これらの方法によって形成される新生血管の成熟度や永続性、虚血部で活性化すべき血管新生タンパクの組み合わせなどについては不明な点が多く残されている。さらに臨床への応用にあたっては、臨床効果の客観的な評価法や承認に至るまでの医療制度への対策、従来の薬物療法やカテーテル治療・外科手術との位置づけなど、多くの課題が残されている。われわれは遺伝子導入や細胞移植とは別のアプローチとして、生体吸収性材料のゼラチンを用いた細胞増殖因子のドラッグデリバリーシステム（DDS）を血管新生療法に応用しており、ここではその心臓血管外科領域における試みを紹介する。

I. 様々な血管新生療法

現在臨床では主として細胞増殖因子タンパク・遺伝子導入・細胞移植による血管新生療法が行われている。タンパク治療は組織再生を促す増殖因子タンパクを投与し、遺伝子治療は増殖因子タンパクをコードした遺伝子をウイルスベクターもしくはプラスミドDNAなどにより投与する。細胞移植治療は、骨髄幹細胞・間葉系幹細胞などを移植することによって血管新生を促す。

しかし、タンパク治療では通常高濃度の増殖因子の反復投与を必要とする点、遺伝子治療ではウイルスやプラスミドなどの遺伝材料の短期・長期的な安全性が懸念される点、増殖因子の徐放コントロール性を十分にもったベクターがいまだ存在しない点、目的臓器以外での遺伝情報の発現などの問題点も指摘されている¹⁾²⁾。細胞移植治療においても、自己骨髄幹細胞移植では細胞採取時に全身麻酔を必要とし、細胞種の適否、免疫反応、十分な細胞数の確保などの問題もいまだ解決されていない。また、細胞の採取・培養・管理などにかかるコストは細胞

図④ 心筋芽細胞移植前の心筋梗塞巣へのbFGF徐放による血管新生誘導 (prevascularization) の有効性 (文献8より)



細胞移植4週後では、細胞移植のみの群ではほとんどの移植細胞は傍梗塞領域に観察されたのみであったが (D)、bFGFによる血管新生誘導の後に細胞移植をした群では梗塞領域を含むすべての瘢痕領域に移植細胞が観察された (E)。心筋梗塞壁は細胞移植群、bFGF群 (B)、bFGFによる血管新生誘導 + 細胞移植群 (C) では壁厚を保っていたが、コントロール群 (A) では壁が薄剥化していた。

A-C, HE (hematoxylin and eosin) 染色
D, E, PKH26蛍光染色

(グラビア頁参照)

移植治療の課題となっている。

II. 生体吸収性ゼラチンハイドロゲルによるDDS

そこでわれわれは新たなアプローチとして生体吸収性材料のゼラチンから作製した「ゼラチンハイドロゲル」をDDSに応用した⁹⁾。ゼラチンハイドロゲルは酸性ゼラチンを化学架橋して作製する。ゼラチンハイドロゲルは生理活性を保ったままサイトカインを静電気力により吸着し、これを生体内に投与するとゼラチンハイドロゲルが生体内で分解されるにしたがい増殖因子の効果が発現する。

この方法の最大の利点はゼラチンハイドロゲルの生体吸収性であり、臨床における安全性が期待できる点である。ゼラチンはすでに臨床応用されている材料であり、生体内で分解された後、生体に毒性のないアミノ酸になる。またゼラチンハイドロゲルは、タンパクの発現の時期・濃度をきめ細かくコントロールでき、シート状・ディスク状・粒子状などの成形が可能で応用箇所の幅が広く、様々なタンパクを組み合わせでの徐放投与が可能である (DDSにおける幅広い応用性)。さらに、細胞移植・遺伝子治療と比べて患者投与までの手技が非常に簡便で低コストであり、実施可能性という点でも臨床向きといえる。

III. 心臓血管外科領域におけるゼラチンハイドロゲルの応用

1. 基礎研究

われわれは、ゼラチンハイドロゲルから優れた血管新生・組織再生因子である塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) などを徐放させることにより、様々な動物実験で有効性を証明してきた。bFGFはFGFファミリーに属する人体に広く分布する強力な血管新生・組織再生因子であり、血管新生 (angiogenesis) のみならず動脈形成 (arteriogenesis, 小動脈レベルの血管拡張, リモデリング) を促進する特色をもつ。さらにbFGFは血管内皮増殖因子 (VEGF), 肝細胞増殖因子 (HGF) などの増殖因子をupregulateする特徴をもっている。例を挙げると、虚血性心疾患における血管新生・心機能回復¹⁰⁾、細胞移植治療前の血管新生誘導⁸⁾ (図④)、胸骨感染後の骨再生促進⁹⁾ (図⑤)、重症下肢虚血に対する血管新生^{10)・16)}、肺高血圧症治療¹⁷⁾、人工臓器感染予防¹⁸⁾など、非常に多くの領域での有効性を確認してきた。

2. 臨床研究

さらにこれらの結果を踏まえ、虚血性心疾患および重症下肢虚血に対して臨床試験を行った。

(1) 虚血性心疾患

薬物治療が無効な虚血性心疾患に対する治療法としてカテーテルインターベンションや冠動脈バイパス手術 (CABG) が行われているが、冠動脈がびまん性に狭窄している症例や重症虚血性心筋症に対しては有効性に限