

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：37114

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01314

研究課題名(和文) バイオマテリアルを用いたレーザー透過溶着法による革新的生体組織接合技術の研究開発

研究課題名(英文) Research and development of innovative biological tissue bonding technology by laser transmission welding method using biomaterial

研究代表者

池田 哲夫 (Tetsuo, Ikeda)

福岡歯科大学・口腔歯学部・教授

研究者番号：60585701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：動脈などの組織にレーザー照射することにより、組織接合が可能なのが近年明らかにされてきたが、そのメカニズムと至適条件および器具は不明のままであった。コラーゲン接合のメカニズムは可逆性の加熱(47-52℃)によって密に絡み合っているコラーゲン繊維が弛緩、膨化する現象が見られる。お互いに弛緩、膨化したコラーゲン組織に一定の圧を加えることによって、コラーゲン繊維同志の嵌合(嵌め合い)が起こって組織が接合されることを発見し、強固な嵌合を完成させるための至適条件は加熱温度、加圧力、接触面積そして、嵌合状態での再冷却であることを実証した。

研究成果の概要(英文)：Background) Since current surgical tissue repair methods cause injuries and overpressure by suture, complete remodeling of viable tissue is impossible. The tissue fusion technique without damages is hoped. Purpose) This study is aimed to clarify the mechanism of interdigitation by laser energy between collagen fiber, and develop the technique of tissue repairing and fusion without injuries. Results) The bundle of collagen fiber was loosened and was swollen at 45℃. The pressure proof was significantly strong in Group A and interdigitation of different collagen fiber was observed.

研究分野：消化器外科

キーワード：バイオマテリアルコラーゲン 嵌合 レーザー加熱 組織接合

1. 研究開始当初の背景

コラーゲンは細胞外マトリックスの主成分であり、細胞の支持、増殖の足場として細胞を結して臓器や組織を形成しており、動物の体の構築には欠かせない支持タンパク質である。コラーゲンは、アミノ酸配列において3個目こゝとにクゝリシン残基がゝ存在し、残りの二つの残基中にフゝロリンがゝ高頻度でゝ存在する一次構造を持ったヘゝフゝチトゝ鎖がゝ3本螺旋構造を有したタンパク質である(電顕像図1)。コラーゲンはその優れた生体適合性から化粧品原料や医療用材料として幅広く応用されている。特に医療用材料としては、優れた細胞接着性を有することから、組織工学における細胞の足場(scaffold)としての利用がゝ盛んに行われている。一方、コラーゲンは単に多細胞動物組織の骨組みとして働いたゝけてゝはなく、細胞の分化・運命決定、創傷治癒、血液凝固、血管新生などゝ高等動物の高次の営みを直接的あるいは間接的に制御するシグナル分子としても重要な役割を担っており。幹細胞の補充、さらに、組織誘導を促進する走化、接着、増殖、分化因子(サイトカイン)の補充によって好ましい再生形態がゝ得られるものと期待される(CGM(Cementum-impregnated Gelatine Membran 法)においても細胞やサイトカインを補充する担体として、コラーゲンは生体由来の高分子でゝ、細胞親和性がゝ高い、抗原性がゝ低い、生体吸収性がゝ高いなどゝの優れた特性を有しており、人工材料として好適でゝあると考えられる(1. Saito A, et. al. 2009 Jun; 80(6): 961-8.)。

2. 研究の目的

- 生体素材に低レヘゝル量の熱エネルギーゝ、圧力エネルギーゝを組み合わせることゝでゝ、生体組織のコラーゲンと生体由来のコラーゲン(生体素材として動物由来のコラーゲンより作成された医療材料)を溶融、

溶着を生起し低損傷な生体組織接合技術を確立を行う。

- 生体素材としてのコラーゲンを応用する事によって老化などの原因で組織中コラーゲンが糖化あるいは石灰化した様な組織あるいはコラーゲンに対してエラスチンの濃度が高く低温では溶着出来ない大動脈、神経、軟骨、腱、靭帯などの生体組織を、組織が挫滅しない1Pa以下の圧迫(密着)と組織にとって可逆的な40ゝ〜60ゝの温度で短時間加熱を複合して加えることにより「生体組織と生体由来コラーゲン(生体素材)と生体組織」の三者間の溶着方法を確立するための基礎的な研究を行う。この技術により、これまで困難であった中枢神経の再建、微小血管縫合そして軟骨の再建、脳や脾臓などの低侵襲な閉鎖、止血などゝの生体組織接着に加えて、人工血管、ステントなどゝの人工物と生体組織の接合にも応用可能なまったく新しい接合技術と成り得る。
- 本研究でゝは熱源として半導体レーザーを用いて極めて局所的で選択的な熱エネルギーを現在工学技術として確立されたレーザー透過溶着技術を用いる事によって生体素材を応用した、生体組織接合技術の「機序の解明」、「接着技術の最適化」、「安全性の確認」を行い、臨床応用を見据えた生体組織接合技術の確立を目的とする。

3. 研究の方法

- この研究は損傷あるいは切断された組織に適切な圧力をかけ密着させた状態で、生体由来のコラーゲンを組織にとって可逆的な40ゝ〜60ゝの熱を加え、軟化させ、組織内のコラーゲン繊維と生体由来のコラーゲン線維を絡み合わせで接着させるというもので工学接着技術として開発されたレーザー透過溶着法を生体に応用する物である。
- 基礎的な研究(27年度)として 生体由来コラーゲンの吸光度を測定し色調を検討する。 溶着用に固形の生体由来コラーゲン

で光透過性と光吸収性の固形コラーゲンを作成する。レーザービームの波長と照射時間によって発生する温度を検討する。溶着条件の設定：生体由来コラーゲンのレーザー透過溶着技術による溶着状態を耐圧試験を行った上、顕微鏡所見（光顕、電顕）で検討し溶着に適した温度と圧力を検討する。

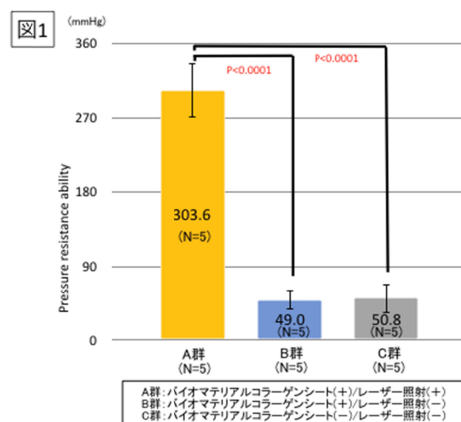
- 応用研究（28年度以降）動物実験による生体組織と生体由来コラーゲン（生体素材）と生体組織への応用研究。先行実験にてレーザー溶着が可能であったが、温度が高く組織学的に不可逆的な変化を生じていた、ブタ大腿動脈を用いて60℃以下の可逆的な温度と1Pa以下の圧迫圧で接着実験を行う。同様の実験をエラスティン濃度が高くコラーゲン濃度が低い大動脈でも行い、接着後の組織内のコラーゲン濃度を測る。

実験1：動脈およびバイオマテリアルコラーゲンを4と45℃の保存液で48時間固定した。実験2：動脈の1/2周を全層切開したウシ頸動脈に10x10x0.3mmの未架橋バイオマテリアルコラーゲンシートで切開部を中心に被覆した後にテフロンシートで圧巻する。半導体レーザーでコラーゲン被覆部を4秒間（40-55℃）照射する。A群：コラーゲンシート被覆+レーザー照射群(図1)、B群：のみ、C群：のみの3群とした。評価は、光学および走査型電子顕微鏡でコラーゲン形状を観察し、実験2では耐圧テストも行なった。

4. 研究成果

動脈などの組織にレーザー照射することにより、組織接合が可能なが近年明らかにされてきたが、そのメカニズムと至適条件および器具は不明のままであった。

池田哲夫らは2014年から研究に取り組み、コラーゲン接合のメカニズムは可逆性

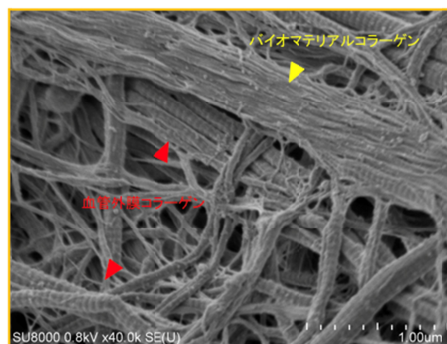


の加熱 (47-

52℃)によって密に絡み合っているコラーゲン繊維が弛緩、膨化する現象が見られる。お互いに弛緩、膨化したコラーゲン組織に一定の圧を加えることによって、コラーゲン繊維同志の嵌合（嵌め合い）が起こって組織が接合されることを発見し、強固な嵌合を完成させるための至適条件は加熱温度、加圧力、接触面積そして、嵌合状態での再冷却であることを実証した。

実験結果)実験1：45℃ではコラーゲン線維の束は隙間なくき締まった状態であったのに対し40℃では束の弛緩と膨化が観察された(図3)。実験2：切開部の耐圧能はA群:303.6±55.2、B群:50.8±33.0、C群:49.0±11.8(mmHg)で、A群で有意に(p<0.0001)高かった(図1)。A群光顕、電顕で2種類のコラーゲン線維が絡み合う様子が観察出来た(図2)。ることによって嵌合が生じ、冷却と共に緊張が回復して接合が完成する現象が嵌合の原理と考えられた。

図2



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

国内外の別：国内

〔雑誌論文〕(計3件)

1. Ikeda T, Kumashiro R, Oki E, Taketani K, Ando K, Aishima S, Akahoshi T, Morita M, Maehara Y. Evaluation of techniques to prevent colorectal anastomotic leakage. The Journal of surgical research. 194. 450-457. 2015. doi: 10.1016/j.jss.
2. Ikeda T, Kumashiro R, Taketani K, Ando K, Kimura Y, Saeki H, Oki E, Morita M, Akahoshi T, Hashizume M, Maehara Y. Endoscopic evaluation of clinical colorectal anastomotic leakage. The Journal of surgical research. 193. 126-134. 2015. doi: 10.1016/j.jss
3. Nakadate R, Omori S, Ikeda T, Akahoshi T, Oguri S, Arata J, Onogi S, Hashizume M. Improving the strength of sutureless laser-assisted vessel repair using preloaded longitudinal compression on tissue edge. Lasers Surg Med. 49. 533-538. 2017. doi: 10.1002/lsm.22621.

〔学会発表〕(計2件)

1. 佐々木駿、池田哲夫、沖原伸一郎、西村正太郎、佐伯浩司、沖英次、橋爪誠、前原喜彦、コラーゲン組織の熱融合機序の解明と新たなバイオマテリアルコラーゲン組織接合技術の開発。第118回日本外科学会定期学術集会。2018年4月東京
2. 佐々木駿、池田哲夫、沖原伸一郎、西村正太郎、佐伯浩司、沖英次、橋爪誠、前原喜彦。生体コラーゲン線維嵌合現象の機序解明と組織 viability を担保したレーザー接合技術の開発研究。第73回日本消化器外科学会総会、2018年7月、鹿児島。

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称：コラーゲン嵌合パッチ
発明者：池田哲夫、佐々木 駿、沖 英次、
沖原 伸一郎
権利者：九州大学
種類：徳眼
番号：037082
出願年月日：2018年3月2日

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田哲夫 (Ikeda Tetsuo)
福岡歯科大学 口腔歯学科 教授
研究者番号：60585701

(2) 研究分担者

赤星 朋比古 (Akahoshi Tomohiko)
九州大学 医学研究員 准教授
研究者番号：20336019

中橋 龍 (Nakadate Ryu)
九州大学 先端医療イノベーションセンタ
ー 特任准教授
研究者番号：40584470

沖 英次 (Oki Eiji)
九州大学 大学病院 助教
研究者番号：70380392

橋爪 誠 (Hashizume Makoto)
九州大学 医学研究員 教授
研究者番号：90198664

西村 正太郎 (Nishimura 正太郎)
九州大学 農学研究員 准教授
研究者番号：70237725

(3) 連携研究者

沖原 伸一郎 (Okihara Shinichiro)
光産業創成大学院大学 光産業創成専攻
光加工・プロセス分野 准教授

(4) 研究協力者