

平成21年 4月30日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18390397

研究課題名（和文）脳動脈瘤血管内治療に用いる新規デバイスの開発研究

研究課題名（英文）New devices for endovascular treatment of intracranial aneurysms

研究代表者 滝 和郎 (TAKI WARO)

三重大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：70144368

研究成果の概要：

脳動脈瘤コイル塞栓術の問題を解決するため、あらゆるタイプの動脈瘤を安全かつ確実に治療するために、生理活性物質やナノテクノロジーを用いた全く新しい発想の新規デバイスの開発研究を行った。その結果、脳動脈瘤治療効果を促進するマトリックス細胞タンパク固定化脳動脈瘤塞栓用コイル、およびナノファイバーを用いた脳動脈瘤治療用カバードステントを開発した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	5,300,000	0	5,300,000
2007年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2008年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
年度			
年度			
総計	15,200,000	2,970,000	18,170,000

研究分野：脳血管内外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：脳動脈瘤・血管内治療・デバイス・コイル・ステント

1. 研究開始当初の背景

近年、脳動脈瘤コイル塞栓術の安全性と操作性が格段に改善され多数の症例に適応されるようになってきた。良好な治療成績から適応が拡大する一方で、長期成績を含めたコイル塞栓術の限界点や問題点も明らかになってきた。最大の問題は、現時点での動脈瘤コイル塞栓術が動脈瘤内にコイル塞栓子を挿入する充填法であるがゆえに、動脈瘤の形態に制限され、初期治療で完全閉塞が得られない症例があること、特に動脈瘤の入口部の

閉塞が不完全のため、再発の頻度が少なくなることである。そこで、これらの諸問題を解決し、あらゆるタイプの動脈瘤を安全かつ確実に治療するために、従来にはない全く新しい発想のデバイスや治療法を開発する必要性に迫られている。

当教室では、これまで血管生物学および再生医学さらに材料工学より得られた最新の知見を基礎とした動脈瘤塞栓術のためのデバイス開発を行ってきた。平成15年度からは3年間、基盤研究(B)(一般)の研究助成

を受け、細胞増殖因子や細胞外マトリクスを結合させたコイルの開発 (Neurol Med Chir (Tokyo) 44: 279-85, 2004、J Neurosurg 102:109-15, 2005、J Neurosurg 103: 681-686, 2005)、液体塞栓物質の改良 (Biomaterials 25: 3845-52, 2004)、金ステント (AJNR Am J Neuroradiol 25: 53-9, 2004) の開発を行い報告してきた。

本研究では、これまでの研究成果を基礎として、さらに斬新なアイデアと最先端技術を用い動脈瘤塞栓術のための塞栓物質の開発を行う。さらに、その作用を最大限に生かすためにサポート用頭蓋内ステントを開発する。

2. 研究の目的

(1) 生理活性物質固定化脳動脈瘤塞栓用コイルの開発

細胞増殖因子のうち塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) は、血管新生作用や、線維芽細胞、内皮細胞、平滑筋細胞などあらゆる細胞の増殖作用が知られている。一方、細胞外マトリクスのなかでも、tenascin-C (TNC) は細胞接着活性、細胞増殖促進、血球凝集能、T細胞の免疫抑制などの機能が報告されている。これらの生理活性物質が動脈瘤内で作用することにより、コイル周囲に形成された血栓の器質化、瘤内の線維化、瘢痕化が促進する。我々は既に FGF-2 と比較して TNC をコーティングしたコイルにおいて血栓の器質化が有意に促進されることを報告した。組織修復の初期に一過性且つ局所的に発現するタンパク群はマトリクス細胞蛋白と呼ばれ、修復組織への細胞反応を促進する機能を持つことが明らかにされてきている。前述した TNC のほかにオステオポンチン (OPN)、結合組織増殖因子 (Connective tissue growth factor; CTGF) などが知られている。これらのマトリクス細胞蛋白や成長因子、サイトカインなどの脳動脈瘤治療機転を促進すると考えられる候補の分子をコイルに固定化し、動物実験にて有効性を比較評価する。

(2) ナノテクノロジーを用いた脳動脈瘤塞栓用頭蓋内ステントの開発

脳動脈瘤塞栓術においてサイズの大きい、あるいは開口部の大きい動脈瘤は再発の可能性が高く、この治療法の弱点である。対処法としてバルーンアシストによる塞栓術やダブルカテーテル法などがあるが、最近、ステントをあらかじめ瘤の入口部に留置し、そのストラットの間からマイクロカテーテルを挿入し、コイル塞栓を行うステントアシスト脳動脈瘤塞栓術が行われ始めている。しかし、問題点としてその複雑な血管構築と細い血管径

などから現在、頭蓋内に安全に使用できるステントは存在しない。現在使用可能なカバードステントにおいてはフレキシビリティ、コンフォーマビリティが低く、またステント径が大きいために頭蓋内に導入しにくい、血栓塞栓症のリスクが高い、などの問題がある。そこで、我々はナノテクノロジーを用いて、蛇行した脆弱な脳血管に安全に誘導できるような頭蓋内動脈瘤専用のカバードステントを開発する。

3. 研究の方法

(1) 生理活性物質固定化脳動脈瘤塞栓用コイルの開発

① 細胞外マトリクス蛋白の選択

脳動脈瘤の組織修復効果をもたらす最適なマトリクス細胞タンパクを選択するため、ラット頸動脈結紮モデルを用いて、6種類のマトリクス細胞タンパクをヘパリン固定化プラチナコイルに固定化し、動脈瘤内の組織修復効果を比較検討した。ヘパリン結合能を有するマトリクス細胞タンパクとしては Fibronectin、Osteopontin、Thrombospondin、Secreted protein, acidic and rich in cysteine (SPARC)、Connective tissue growth factor (CTGF) と TN-C を用いた。300-400 g のラット右総頸動脈を結紮し、盲端となった総頸動脈を脳動脈瘤と仮定するモデルを用いた。その脳動脈瘤モデルに表面に各種の細胞外マトリクスを固定した直線状の 10mm のプラチナコイルを挿入し閉鎖した。留置 2 週間後に右総頸動脈を摘出し、ホルマリン・パラフィン固定後にコイルを取り除き、HE 染色し血管内腔の器質化の有無・血管径のサイズを評価した。

② 硫酸化ジェラン固定化ジェランを用いたコイルの開発

マトリクス細胞タンパクを保持・作用させるため、ヘパリン結合タンパクの結合性を制御することが可能な繊維性素材を検討した。本研究では、食品添加物としても用いられ安全性が高いと考えられている多糖類のジェランをもとにヘパリン活性をもつ分子として開発された硫酸化ジェランを利用することとした。太く長い直線状のジェランを中空に挿入したプラチナコイル (Gellan Sulfate core platinum coil 以後 GS-core coil とする) を作成した。

このコイルに TN-C を結合させ生体親和性および TN-C の作用による血管内の組織修復効果を確認した。300-400 g のラット右総頸動脈を結紮し、盲端となった総頸動脈を脳動脈瘤と仮定するモデルを用いて、GS-core coil を 100 μ g/ml の TN-C 溶液に浸漬させた群とコントロール群とで比較検討した。その脳動脈瘤モデルに硫酸化ジェラン固定化ジ

ェランに TN-C 溶液を浸漬させることで結合させた直線状の 10mm の GS-core coil を挿入し閉鎖した。留置 2 週間後に右総頸動脈を摘出し、ホルマリン・パラフィン固定後にコイルを取り除き、HE 染色し血管内腔の器質化の有無・血管径のサイズを評価した。

(2) ナノテクノロジーを用いた脳動脈瘤塞栓用頭蓋内ステントの開発

溶媒 (tetrahydrofuran) に溶かしたポリウレタン (PU) に電圧をかけることにより直径数百ナノメートルの PU 繊維を作り出し、それを回転するバルーン拡張型ステントに吹き付けること (エレクトロスピニング法) によってカバードステントの作成を試みた。また、このようにして作成したカバードステントを用い、あらかじめウサギの右総頸動脈に作成したエラスターゼ動脈瘤モデルに留置し、その組織学的検討を行った。

4. 研究成果

(1) 生理活性物質固定化脳動脈瘤塞栓用コイルの開発

① 細胞外マトリックス蛋白の選択

Fibronectin, Osteopontin, TN-C をコーティングしたコイルを使用した例で血管内腔が器質化する傾向が見られた。その他のマトリックス細胞タンパクをコーティングしたコイルを使用した例では、血管内腔の器質化はほとんどみられず、血栓が明らかに残存していた。また、血管径の収縮および血管収縮による血管壁弾性板の引き離れは TN-C をコーティングしたコイルのみに見られた。

② 硫酸化ジェラン固定化ジェランを用いたコイルの開発

硫酸化ジェラン固定化ジェラン単独群では血管内腔の器質化は認められず、血栓が明らかに残存していた。一方、TN-C 溶液に浸漬させた群では血栓の残存はほとんど認められず、血管内腔は器質化が認められた。

③ 新たな学術的知見と今後の展望

本研究では、マトリックス細胞タンパクとして TN-C を選択し、TN-C を局所に保持する繊維性素材としては硫酸化ジェラン固定化ジェランを開発し、繊維状に二次加工した機能生体材料を開発した。この機能性生体材料は、動物実験にて良好な生体親和性を認めており、医療材料の開発研究を進める段階にきている。さらに、この硫酸化ジェラン固定化ジェランに TN-C を結合させて、動脈瘤モデルに留置したところ、血栓器質化、すなわち組織修復を促進する効果が確認できた。今後は臨床応用に関しても検討を進めることが可能と思われる。

(2) ナノテクノロジーを用いた脳動脈瘤塞

栓用頭蓋内ステントの開発

① エレクトロスピニング法によってカバードステントの作成を試みた結果、きわめて薄く平坦な膜を作成することが可能であった。水漏れ試験では、0.2mg の PU で 60 mmHg に耐えることが証明された。しかし、0.05mg では瘤閉塞能力がなかった。

ウサギ動脈瘤モデルの留置実験では、翌日の血管撮影で全例で瘤の閉塞が認められた。10 日目に母血管ごとステントを摘出し、長軸に切り開いた後に実体顕微鏡ならびに電子顕微鏡で観察したところ、瘤入口部は内皮細胞で覆われていた。

② 新たな学術的知見と今後の展望

本研究では、エレクトロスピニング法を用い、ポリウレタン製のナノファイバーをカバーとしたバルーン拡張型カバードステントを新たに開発した。また、それをウサギ動脈瘤モデルに留置し、瘤の消失と母血管の patency が保たれていることを明らかにした。ナノファイバーを用いたこのカバードステントは極めて薄く柔軟性に富み、種々の動脈に導入することができ、コイル単独では治療が困難な動脈瘤に対して非常に有用であると思われる。今後は、実用化に向けて抗血栓性に優れ、自己拡張型のカバードステントの開発を行う予定である。

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)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Kuraishi K, Iwata H, Nakano S, Kubota S, Tonami H, Toda M, Toma N, Matsushima S, Hamada K, Ogawa S, Taki W. Development of nanofiber-covered stents using electrospinning: in vitro and acute phase in vivo experiments. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2009; 88: 230-239. 査読有

② 滝 和郎. 脳動脈瘤治療の現状と問題点. 脳神経外科ジャーナル 2006; 15; 822-826. 査読有

[学会発表] (計 4 件)

① 滝 和郎. 脳神経血管内治療の開発研究から臨床応用へ. Stroke2009, 2009 年 3 月 20-22 日, 松江市.

② Hamada K, Toma N, Miyamoto K, Imanaka-Yoshida K, Matsushima S, Yoshida T, Taki W. Gellan sulfate core platinum coils binding tenascin-C promote the organization in a rat aneurysm model. 8th

Meeting of the Asian-Australasian Federation of Interventional and Therapeutic Neuroradiology, April 5-8, 2008, Taipei.

③ 倉石慶太, 岩田博夫, 中野恵之, 窪田真一郎, 外波弘之, 戸田満秋, 当麻直樹, 濱田和秀, 松島 聡, 滝 和郎, 小川 寛. ナノファイバーを用いた脳動脈瘤治療用カバードステントの開発. 第23回日本脳神経血管内治療学会, 2007年11月14-17日, 神戸市.

④ Kuraishi K, Iwata H, Tonami H, Toda M, Nakano S, Kubota S, Toma N, Matsushima S, Taki W. Development of polyurethane-covered metallic stents using electrospinning. -In vitro and acute phase in vivo experiments-. 4th International Intracranial Stent Meeting, April 18-20, 2007, Kyoto.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

滝 和郎 (TAKI WARO)
三重大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：70144368

(2) 研究分担者

松島 聡 (MATSUSHIMA SATOSHI)
三重大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：50252367

阪井田 博司 (SAKAIDA HIROSHI)
三重大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：40273362

当麻 直樹 (TOMA NAOKI)
三重大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80362341

(3) 連携研究者

岩田 博夫 (IWATA HIROO)
京都大学・再生医科学研究所・教授
研究者番号：30160120