

平成22年6月2日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20760026
 研究課題名（和文）血液接触デバイスのための炭素系薄膜形成技術の開発とその評価に関する研究
 研究課題名（英文）Development of carbon film coating technique for blood contact device

研究代表者
 大越 康晴（OHGOE YASUHARU）
 東京電機大学・理工学部・助手
 研究者番号：10408643

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、血液ポンプおよび人工血管内壁面への a-C:H の均一形成を実現した。それぞれの内壁面に形成した a-C:H は、良好な細胞親和性が見込まれ、細胞増殖促進効果が確認された。また、血漿タンパクの吸着評価では、アルブミンの吸着量の増加と、フィブリノーゲン、グロブリンの吸着量の低減効果が得られ、本研究課題で開発した a-C:H は、“細胞親和性+抗血栓性”を複合的に有する膜として、血液接触デバイスとしての活用が見込まれた。

研究成果の概要（英文）：In this study, a-C:H film was deposited on an artificial heart blood pump and synthetic vascular graft inner-wall, respectively. After the film deposition, we focused on effect of the film deposition for cell culture and protein adsorption. As a result, it was found that the a-C:H film deposition is quite a potential method to improves performance of cytocompatibility and protein adsorption as a blood contact device.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：応用物理学・工学基礎・薄膜・表面界面物性

キーワード：プラズマプロセス

1. 研究開始当初の背景

血液接触デバイスは抗血栓性と同時に生体との親和性が要求されるが、現実には、血栓形成や生体との親和性に問題を常に抱えている。血漿タンパクや血小板が付着しにくいよう設計されたデバイス表面は、生体が体の一部として融合しようとする周辺組織の

内皮細胞も寄せ付けない。それ故、生体内に留置後は、周辺組織の内皮細胞に被覆されること無く、生体に取り込まれない“不安定”な状態に置かれ、この“不安定”な状況下では、血液接触面は血栓が常に付着した状態となり、患者は血栓性閉塞や細菌感染といった危険に晒されることになる。こうした“血漿タ

ンパクや血小板は無論、いかなる吸着物も排除する表面”を優先してきた従来の血液接触デバイス設計の一方で、細胞工学や再生医療の観点から、より生体の血管内壁面に近い状態で“生体との安定化”を得るために、内皮細胞被覆のための細胞親和性の改善を図り、血栓形成反応を抑制する取り組みがある。最近では、血液接触デバイスの細胞親和性を高め、積極的に内皮細胞を取り込む方法として、細胞の足場となる繊維性 Scaffold の形成やイオンビームを利用した表面処理技術などの研究が、国内外で進められている。しかし、こうした研究が進む一方、血液ポンプや人工血管といった既存の血液接触デバイスの用途や形状・材質に適合した表面処理技術の開発・検討は十分とは言えず、表面処理技術を確立した上での血液接触デバイスの設計が重要である。

2. 研究の目的

ダイヤモンド状炭素膜を含む水素化された無定形炭素 (a-C:H: amorphous carbon) 膜は、成膜条件によって、良好な抗血栓性や細胞親和性を示し、血液接触デバイスを含む生体材料として大いに期待される材料である。しかし、膜質の特性が成膜方法・条件に大きく依存するため、各種医療器具の形状に合わせた成膜技術が確立されていない現状にある。本研究では、高周波プラズマ CVD (chemical vapor deposition) による a-C:H 形成技術を、血液ポンプおよび人工血管の内壁面へ応用し、細胞親和性に優れる a-C:H 膜を形成し、安定した抗血栓性材料の実現を目指す。

生体医療器具を対象とした薄膜形成技術が確立されていないが故に、a-C:H 形成をはじめとする生体材料の表面処理の評価系が確立していないこの研究分野において、本研究で得られる成果は、“薄膜形成技術+血液接触デバイスとしての設計”という新たな知見を与え、実用化に向けた産業応用技術として、学術的にも大きな意味を持つ。

3. 研究の方法

(1) 血液ポンプおよび人工血管内壁面を対象とした高周波プラズマ CVD 法として、これらの形状に対応した電極を作製した。そして、これらの電極を用いて生成したプラズマについて、double probe 法によるプラズマ診断を実施した。また、セグメント化ポリウレタン製血液ポンプ内部と、延伸性ポリテトラフルオロエチレン (ePTFE) 製人工血管内壁面に対し、実際に a-C:H 膜を形成し、プラズマ状態と成膜の均一性について検討した。なお、本実験でのプラズマ診断は、プローブの汚染を防ぐために、He プラズマにて実施した。

(2) 血液ポンプおよび人工血管内壁面へ形成

した a-C:H の細胞親和性評価では、それぞれの内壁面へ形成した a-C:H について、繊維芽細胞および血管内皮細胞による細胞親和性試験を行い、細胞親和性に対する a-C:H の最適条件を検討した。更に、a-C:H が細胞に与える影響を調査するために、細胞が移動しやすい繊維性 Scaffold 上に a-C:H を形成し、その繊維上を移動する細胞について a-C:H の影響を検討した。

(3) 血液ポンプおよび人工血管内壁面へ形成した a-C:H 膜の血漿タンパク吸着性評価では、それぞれの内壁面に形成した a-C:H 膜について、アルブミン、グロブリン、フィブリノーゲンの吸着性を評価した。

4. 研究成果

(1) 血液ポンプおよび人工血管内部のプラズマ状態と a-C:H 膜形成の関係について検討を行った。double probe 法によるプラズマ診断の結果より、血液ポンプ内部に生成されたプラズマは、平行平板電極と比べ、高い電子温度と電子密度が得られることが確認された。また、これらの電子温度および電子密度分布は、いずれも均一であった。また、プラズマ供給電力に対し、人工血管内部に生成されたプラズマの電子温度および電子密度分布を図 1 および図 2 に示す。血液ポンプ内部に生成したプラズマと同様に、電子温度および電子密度分布は、いずれも均一であることが確認された。

次に、本手法を用いて血液ポンプおよび人工血管内壁面へ形成した a-C:H について、成膜の均一性評価を行った。プラズマ診断と同様に、各位置に成膜された a-C:H について、Raman 分析および X 線光電子分光分析を行った。その結果、電子温度および電子密度分布と同様に、血液ポンプおよび人工血管内壁面へ形成された a-C:H は均一に形成されていることが確認された。これらの結果から、本研究で提案した高周波プラズマ CVD 法は、血液ポンプおよび人工血管内壁面を対象とした a-C:H 被膜が可能であることが示された。

(2) 血液ポンプおよび人工血管内壁面へ形成した a-C:H について、細胞親和性評価を実施した。人工血管内壁面へ成膜した a-C:H に対する 4 日間の細胞培養結果を図 3 に示す。本実験では、繊維芽細胞は増殖傾向を示していることから、本プロセスにより成膜した a-C:H は、良好な細胞親和性を有していると考えられる。また、血管内皮被細胞についても同様な傾向が確認された。

更に、a-C:H が細胞に与える影響を調査するために、細胞が移動しやすい繊維性 Scaffold 上に a-C:H を形成し、その繊維上を移動する細胞について a-C:H の影響を検討し

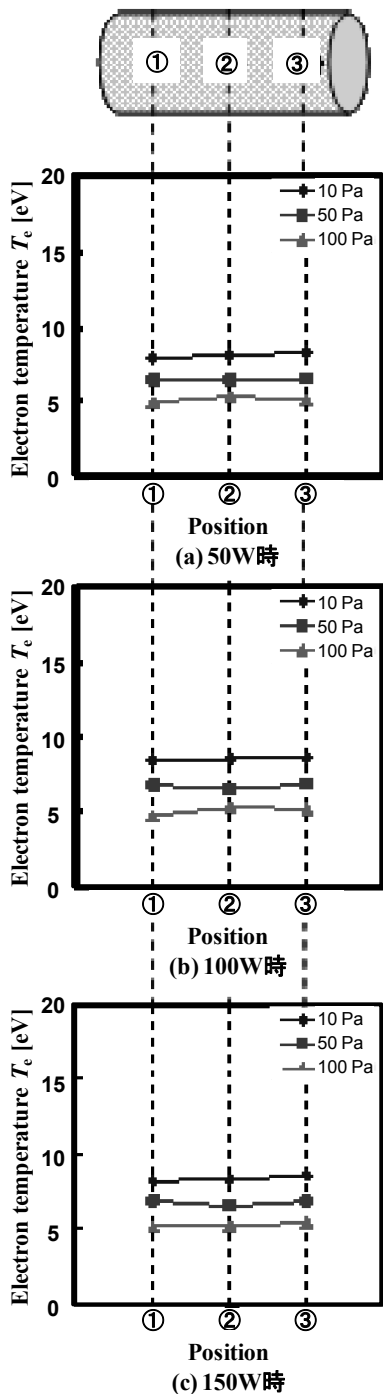


図1 人工血管内に生成したプラズマの電子温度分布

た。その結果、a-C:H 表面に対し窒素プラズマ処理を行うことで、細胞運動および増殖の促進化が確認された。この窒素プラズマ表面処理は、本プロセスにより形成した a-C:H において、細胞親和性を向上させる後処理手段として有効であることが示唆された。

(3) 血液ポンプおよび人工血管内壁面へ形成した a-C:H 膜の血漿タンパク吸着性評価では、それぞれの内壁面に形成した a-C:H 膜について、アルブミン、グロブリン、フィブリノー

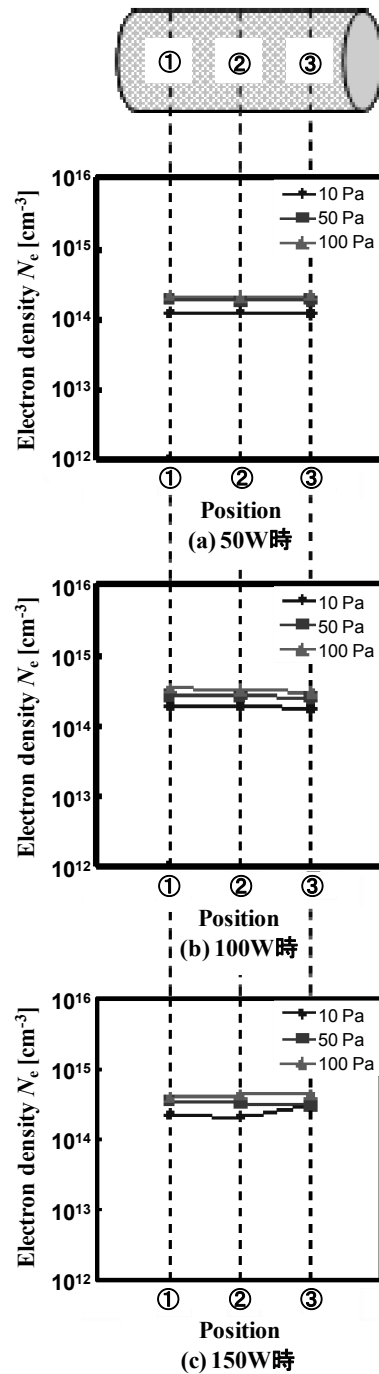


図2 人工血管内に生成したプラズマの電子密度分布

ゲンの吸着性を評価した。この結果を図4に示す。アルブミンについては同レベルの吸着量であったが、血液凝固因子となるグロブリン、フィブリノーゲンが減少した。この結果から、抗血栓性材料としての特性が見込まれる。

上記(1)~(3)の結果より、本研究では、血液ポンプおよび人工血管内壁面を対象とした高周波プラズマ CVD 法による被膜プロセスにより、a-C:H の均一形成を実現した。また、この a-C:H は、繊維芽細胞および内皮細胞に

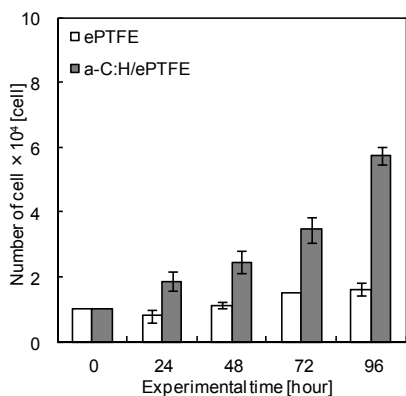


図3 ePTFE製人工血管内壁面へ成膜したa-C:Hの細胞親和性評価（繊維芽細胞）

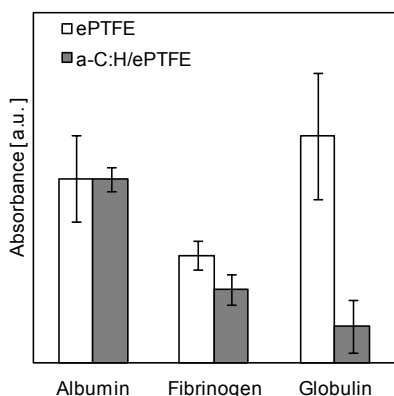


図4 ePTFE製人工血管内壁面へ成膜したa-C:Hのタンパク質吸着評価

対し良好な親和性を示した。特に、細胞の増殖および移動性に対し、窒素プラズマ処理を施したa-C:Hが有効であることが確認された。

更に、タンパク質吸着評価でも、血液凝固因子となるタンパク質の吸着量を低減し、本プロセスにより形成したa-C:Hは、生体適合性が見込まれる血液接触デバイスとして期待される。

なお、本研究の計画当初は、動物実験によるin-vivo評価を実施し、a-C:H膜の血管内皮細胞の接着・増殖の促進効果および血栓形成反応の抑制効果について明らかにする予定であったが、in-vivo試験による十分な評価が実施できなかった。今後は、動物を用いたin-vivo試験を実施し、生体組織反応や抗血栓性評価を中心に、a-C:Hについて詳細な表面設計の検討が必要である。

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5件)

- ① H. Matsuo, K. Kanasugi, Y. Ohgoe, K. K. Hirakuri, and Y. Fukui, Biocompatibility of a-C:H film coating for synthetic vascular

graft, Diamond and Related Materials, 査読有, Vol. 18 No. 5-8, 2009, 1031-1034

- ② K. Kanasugi, Y. Ohgoe, K. K. Hirakuri, and Y. Fukui, Cytocompatibility of modified a-C:H film deposited on complicated polymeric medical apparatus, Journal of Applied Physics, 査読有, Vol. 105 No. 9, 2009, 094702 1-5
- ③ K. Ozeki, I. Nagashima, Y. Ohgoe, K.K. Hirakuri, H. Mukaibayashi, and T. Masuzawa, "Gas barrier properties of diamond-like carbon films coated on PTFE", Applied Surface Science, 査読有, Vol. 255, 2009, 7286-7290
- ④ Y. Ohgoe, K. Kanasugi, A. Homma, K. K. Hirakuri, A. Funakubo, Y. Taenaka, E. Tatsumi, and Y. Fukui, Amorphous hydrogenated carbon (a-C:H) film coating on an inner-wall of cylindrical textile materials by r.f. plasma CVD, Diamond and Related Materials, 査読有, Vol. 17 No. 7-10, 2008, 1702-1705
- ⑤ 大越康晴、平栗健二、生体材料としてのDLC膜の薄膜形成技術、工業材料 Vol. 56、No. 9、2008、54-57
[学会発表] (計6件)
- ① Y. Ohgoe, H. Matsuo, Kenji K. Hirakuri, A. Funakubo, and Y. Fukui, "Diamond-like carbon coatings for synthetic vascular graft", Thermec'2009 (International conference on processing & manufacturing of advanced materials), August 25-29, 2009, Berlin, Germany.
- ② A. Toriu, H. Matsuo, K. Nonaka, Y. Ohgoe, K. K. Hirakuri, A. Funakubo, and Y. Fukui, "Cytocompatibility of hydrogenated amorphous carbon (a-C:H) films deposited on polymeric fibrous scaffold", 19th International Symposium on Plasma Chemistry, July 26-31, 2009, Bochum, Germany.
- ③ Y. Ohgoe, K. Kanasugi, T. Yaguchi, K. Nonaka, H. Matsuo, K. K. Hirakuri, A. Funakubo, and Y. Fukui, "Diamond-like Carbon Film Coating for Tissue Engineering", 2008 Materials Research Society Fall Meeting, December 1-5, 2008, Boston, USA.
- ④ Y. Ohgoe and Y. Fukui, "DLC (Diamond-like Carbon) Coating Technology for Artificial Organs", European Society for Artificial Organs 2008, September 3-6, 2008, Geneva, Switzerland.
- ⑤ Y. Ohgoe, Y. Fukui, A. Alanazi, and K. Hirakuri, "a-C:H film coating for synthetic vascular graft inner-wall" 第23回ダイヤモンドシンポジウム DLC 国際特別セ

セッション, 2009年11月18~20日

- ⑥ 鳥生敦子, 松尾晴貴, 金杉和弥, 大越康晴, 平栗健二, 福井康裕, “3次元構造物への窒素添加 a-C:H 膜の作製” 第56回応用物理学関係連合講演会(春季), 2009年3月30日~4月2日

6. 研究組織

(1)研究代表者

大越 康晴 (OHGOE YASUHARU)

東京電機大学・理工学部・助手

研究者番号: 10408643

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし