

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592024

研究課題名(和文) ナノ磁性体による電磁誘導を利用したハイブリッド人工血管の開発に関する研究

研究課題名(英文) Development of new biodegradable hybrid artificial vascular graft with nanotechnology

研究代表者

石橋 和幸 (ISHIBASHI, KAZUYUKI)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：00291617

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：新しい生体吸収性人工血管の基材物質を開発し、その材料表面および基質に対するナノテクノロジー加工により、細胞接着性を変化させることに成功した。素材は、ポリカプロラクトンとポリ乳酸のマルチブロック共重合体を使用し、始めに厚さ50 $\mu$ mのフィルムを作成し、その材料表面を加水分解したところ、材料表面が多孔性となり、細胞侵入が容易となり、材料の生体吸収が促進されることを明らかとした。次いで、その基材からナノファイバーを作成し、電子紡錘技術を用いて新たなシートを作成することに成功した。このシートは張力が強く、また組織親和性がフィルムより高いことが明らかとなった。現在この素材を用い人工血管を作成中である。

研究成果の概要(英文)：We developed a new polymer for a biodegradable vascular graft. We have treated its surface of polymer with nanotechnology and succeeded in changing the cell adhesion of the polymer. Polymer is made from a multi-block copolymer of poly-lactic acid and poly-caprolactone. We create a new film, which was hydrolyzed to the surface, it was found that the surface of films is porous and cell entry is facilitated, as a result, bio-absorption of the film is promoted. Then we developed a new sheet with nanofibers from the polymer using an electronic spindle technology. The sheet was compared with the film, the tension is strong and tissue high affinity was revealed. Currently, we have developing an artificial vascular graft with a new polymer.

研究分野：胸部外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：生体吸収性 人工血管 癒着防止

## 1. 研究開始当初の背景

我々はこれまでに、細胞工学的手法を用いて、小口径の人工血管上に自己の血管壁細胞を階層性に構築し、生体に移植したところ、移植後早期より、自己の血管と同様な血管壁構築を行い、長期間安定した開存性を維持することを報告してきた。さらに、その技術を応用し、生体吸収性人工血管を作成し、生体内へ移植したところ、動脈において、自己の血管の再生が確認された。しかし、これまでの研究で、移植後の血管壁の再構築速度は、自己の治癒能力に全てを任せているものであった。そこで、はじめは生体吸収性人工血管内にナノ磁性体を封入し、体外より磁場を加えることにより、細胞を誘導させようと実験していたが、その実験途中において、材料表面の特殊加工により、細胞接着性が変化することが明らかとなった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、生分解性・生体吸収性材料を用いて、新しい医用材料を開発し、その材料表面を特殊加工することによって、細胞接着性を変化させ、細胞誘導を能動的にした、人工血管の基材となるシートの開発である。

## 3. 研究の方法

### (1)生体吸収性フィルムおよびシートの作成

ベンジルアルコールを用いたε-プロラク톤の開環重合により、ベンジルエステル化されたポリε-プロラク톤を合成した。これを開始材としたラクチドの開環重合により、

ベンジルエステル基をもつジブロック共重合体を合成した。ベンジルエステルを接触水素還元によりヒドロキシル基とし、これを縮合材を用いた重合により目的とするマルチブロック共重合体を合成した。

キャスト膜は伸縮性生分解性高分子のクロロホルム溶液をガラス板上にキャストすることにより作成した。(膜厚約 80 μm)キャスト膜の親水化処理は水酸化ナトリウム水溶液(1M)に浸漬することにより行った。

また、シートは伸縮性生分解性高分子の HFIP 溶液から、電界紡糸法により不織布を作成した。(繊維径約 1.6 μm、厚さ約 70 μm)このシートの親水化処理は水酸化ナトリウム水溶液(0.2M) エタノール溶液に 30 分間浸漬することにより行った。

作成したフィルムの接触角を測定し、走査電子顕微鏡を用いて材料表面の評価を行った。

### (2)ラット肝臓表面への移植による、生体吸収実験

作成した生体吸収性フィルム 1 (表面加工せず)と 2 (親水化処理施行)を 3x3cm の大きさとし、Wister 系ラット (n=12) の肝臓表面を擦過した部位に移植した。それぞれ移植後、5 日、1 ヶ月時に sacrifice し、肉眼的癒着の程度、および組織学的に生体分解状況を評価した。

### (3)雑種成犬を用いた生体吸収性シート of 心臓膜への応用実験

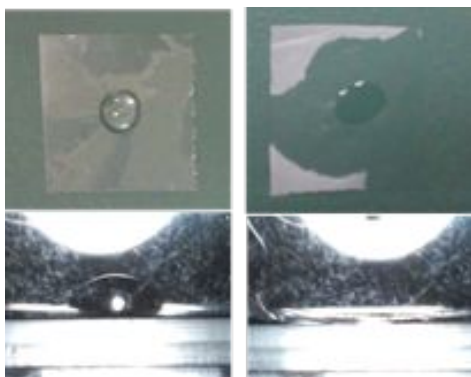
作成した生体吸収性シートを用いて以

下の実験を行った。雑種成犬(n=4)を全身麻酔し、左開胸した。心膜を 2x2cm の大きさに 2ヶ所切除し、1ヶ所はコントロールとし、もう1ヶ所には、シートを 5-0 ポリプロピレン糸で固定した。移植後 12 週間で sacrifice し、肉眼的癒着の程度、および組織学的に生体分解状況を評価した。

#### 4. 研究成果

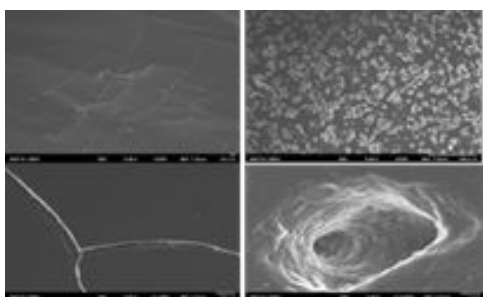
##### (1) フィルムの作成

表面処理をしていないフィルムは水滴がスライドのように残り、接触角は 69.3 度でした。一方、表面を親水化処理したフィルムは、水滴を垂らすと、水がしみこんでいき、接触角は測定できなかった。(図1)



(図1)

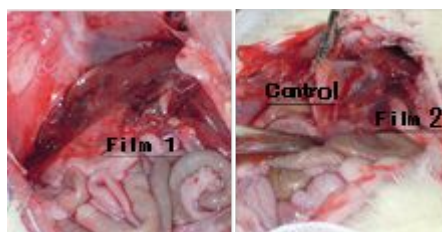
走査電子顕微鏡では親水化処理をしていないフィルムの表面は平滑であったが、親水化処理を行ったフィルムは、ハニーカム状に多数の孔を認めた。(図2)



(図2)

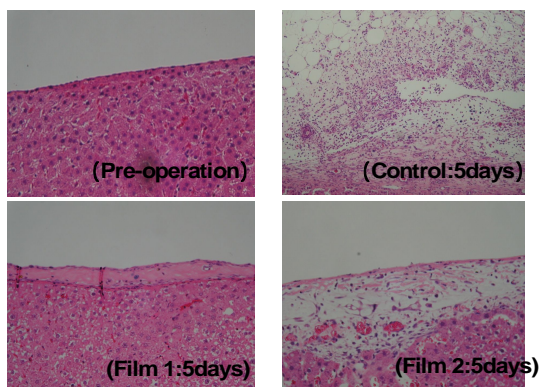
##### (2) ラット実験 (腹膜への応用)

移植後 5 日目では、表面加工していないフィルムは、癒着もせずそのまま残存していた。表面を親水化処理したものは、肉眼的には、ほぼ吸収されていた。コントロールでフィルムを留置しなかった部位の癒着は強固であった。(図3)



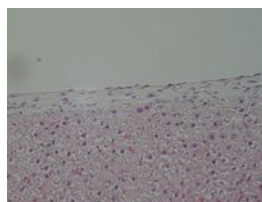
(図3)

組織学的所見では、フィルム1は肝臓表面に弱く接着はしていたが、フィルム内への細胞侵入はごく僅かであった。フィルム2においては、フィルムはほぼ全域に渡り細胞侵入を認め、生分解が始まっていた。(図4)



(図4)

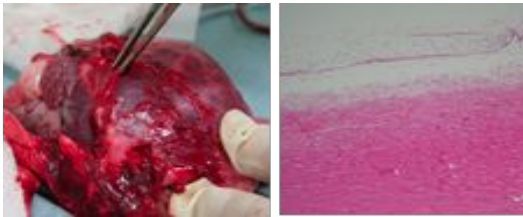
フィルム2においては、1ヶ月後には、ほぼ生体吸収が終了し、同部位に薄膜が形成されていた。(図5)



(図5)

(3) 雑種成犬実験 (心膜への応用実験)

移植後 12 週間では、シートの一部は残存しているものの、シートの形状はなく、バラバラになっており、癒着も軽度であった。コントロール部位の癒着は、非常に強固であった。(図 6) 組織学的には、生分解された部位には、疎な線維層がありその上に薄膜が形成されており、癒着形成は認めなかった。(図 7)



(図 6)

(図 7)

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)

[学会発表](計 2 件)

(1)

発表者: 石橋和幸、山本文雄

発表標題: Development of new biodegradable PLLA-PCA film for prevention of post-operative adhesion.

学会名: 第 64 回日本胸部外科学会総会

発表年月日: 2011 年 10 月 12 日

発表場所: 名古屋国際会議場

(2)

発表者: 石橋和幸、山本文雄

発表標題: Development a novel artificial pericardium with biodegradable poly-lactide sheet.

学会名: 第 65 回日本胸部外科学会総会

発表年月日: 2012 年 10 月 19 日

発表場所: 福岡国際会議場

[産業財産権]

出願状況(計 1 件)

名称: 親水性多孔質及びその製造方法、並びに医療用癒着防止膜及び細胞増殖用基材

発明者: 寺境光俊、石橋和幸

権利者: 国立大学法人秋田大学

種類: 特許

番号: 特願 2011 - 198550

出願年月日: 2011 年 9 月 12 日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石橋 和幸 (ISHIBASHI, Kazuyuki)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号: 00291617

(2) 研究分担者

山本 文雄 (YAMAMOTO, Fumio)

秋田大学・医学部・教授

研究者番号: 00127474

本川 真美加 (MOTOKAWA, Mamika)

秋田大学・医学部・助教

研究者番号: 70451648