

令和 3 年 4 月 23 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08733

研究課題名(和文) 管空内DLCコーティングによる細径人工血管開存率向上の試み

研究課題名(英文) Improvement of the patency rate for a small diameter vascular graft using Diamond-like-carbon coating

研究代表者

村岡 玄哉 (MURAOKA, GENYA)

岡山大学・大学病院・医員

研究者番号：90816258

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：DLCをePTFEにコーティングすると、親水性が向上し、多孔性を保ったままePTFE繊維が平滑になり、アルブミン吸着とフィブリノーゲン吸着が2倍になり、血小板付着が著しく減少した。SDS-PAGEでは全てのタンパク質領域でタンパクの付着がDLCで増加していることが示された。総合的な性能としては、全血試験では、In-Vitro(ヒト)、In-vivo(ラット)ともに従来品より非劣勢であり、犬頸動脈置換術での人工血管としての性能も抗血栓性・開存性の面で非劣勢を示した。本研究中、親水性をより向上したカルボキシル基付加DLCを開発した。また、我々のDLCは既存の分類で分類不能の新しいDLCであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、我々が開発した樹脂によってできた管状物質内面へのDLCコーティングの血液適合性及び、細径人工血管に使用した際の性能に関するIn-Vitro、In-vivoデータを世界で初めて獲得することができた。また、本DLCは、DLCとPLCの両面の性能を併せ持ち、従来の分類で分類不能のDLCであることが分かった。また、カルボキシル基付加DLCも開発し生体模倣DLC開発への端緒となった。

研究成果の概要(英文)：When inner surface of ePTFE artificial vascular graft was coated with our new DLC-coating technology, the DLC-coated surface was more hydrophilic, more smooth, had more albumin and fibrinogen adsorption, and less platelets adhesion. With SDS-PAGE, protein adsorption was increased in almost all of category of protein molecule size. The whole blood test indicated that DLC has non-inferior hemocompatibility to normal ePTFE. As for an vascular graft function, DLC-coated ePTFE was non-inferior to normal ePTFE for hemocompatibility and patency in carotid artery replacement animal model using beagles. During this study, we newly developed carboxylated-DLC which is more hydrophilic than normal DLC and has started some studies about this new DLC with a new grant. In addition, during this study, we verified that this DLC can't be classified by current DLC classification because it has both DLC features and PLC features. This fact will be very historical in the field of DLC research.

研究分野：心臓血管外科学

キーワード：Diamond-like carbon 人工血管 血液適合性 細径動脈 プラズマ タンパク吸着 血小板 心臓血管外科

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

血管外科領域の手術では、様々な血管の再建を行う。狭窄、閉塞した血管の再建には人工血管もしくは大伏在静脈等の自己静脈が用いられる。大動脈や径が6mm以上の比較的大きな動脈の再建にはダクロンや extended polytetrafluoroethylene (ePTFE) という素材の人工血管を用いて、良好な成績を得ているが、径が6mmより小さい動脈の再建、静脈の再建、透析用動静脈シャント作成に際しては、人工血管では極端に開存率が落ちるため、これらの手術では人工血管は自己の血管が使用できない時のオプションにすぎない。細い動脈、静脈の血行再建にはダクロンより生体適合性がよい ePTFE が主に用いられている。心臓の血管再建に至っては、人工血管の使用は事実上許されていない。我々はこれらの人工血管による諸問題を新しい技術の開発により医工連携で改善したいと考えている。今回申請する研究では、細径人工血管(3.5mm以下)の開存率向上を目指す。

Diamond-like-carbon (DLC) コーティングは、元来、自動車のエンジン等に使用されている超薄膜の工業用コーティング素材である。近年医療機器への応用が、特に整形外科領域、歯科領域で実用段階に入っている。様々な加工を加えることで親水性、疎水性、靱性、表面電位等をコントロールし、その性質を用途に応じて変化させ各臓器に最適な生体適合性と性能を獲得できる可能性が非常に高いこと、半永久的に劣化しないこと、超薄膜(数十ナノメートル単位)であることから、次世代医療機器用コーティング材料として注目されつつある。従来、DLC は成膜時にプラズマを発生させ、高熱になることから、樹脂には使いにくいと言われていた。しかしながら、樹脂は意外融点が高いものも多く、さらに DLC 成膜時の発熱を抑える技術も進んできていることから、現在では樹脂に対する DLC コーティングも可能となった。また、我々は樹脂管腔物内腔に安定的にプラズマを発生させてコーティングする技術を取得し、特許を取得した。これにより、DLC を細径の人工血管に応用することが可能となった。そこで、DLC が細径の ePTFE 人工血管にコーティングすることにより、血栓形成性の抑制や開存率の向上が得られるかどうか？ 検討するため、本研究を発案した。

2. 研究の目的

細径の ePTFE 人工血管内面に DLC をコーティングし、DLC コーティング ePTFE 人工血管とし実験動物で頸動脈置換術を行い、開存の仕方を通常の ePTFE と肉眼的に、組織学的に比較する。

3. 研究の方法

本研究はミニプタ使用を予定していたが、ビーグル犬の使用に変更した。ePTFE は4mm径のものを使用した。開発した DLC コーティング 4mm ePTFE 人工血管と通常の 4mm ePTFE 人工血管を使用して、実験動物の頸動脈人工血管置換術(人工血管の移植)を行い、8週間生存させ、通常の ePTFE 人工血管と肉眼的開存率、グラフト壁内や周囲の炎症細胞・繊維芽細胞・平滑筋細胞浸潤の詳細、新生内膜形成状態を比較検討した。個体差を除去するため、同一個体の一方の頸動脈に通常の ePTFE 人工血管を、反対側の頸動脈に DLC コーティング人工血管を移植した。手術は、全身麻酔下(獣医施行)で行い、気管挿管後人工呼吸器管理とした。動脈圧ラインにて血圧を持続測定する。静脈ラインも確保し、手術開始前に抗生剤を投与した。経皮的酸素分圧と心電図も術中持続モニタリングした。吸入麻酔で麻酔維持を行い、基本的に筋弛緩剤は使用しなかった。前述の人工血管置換術を行い、人工血管-径動脈の端端吻合で施行した。手術終了後、実験動物を覚醒させ、人工呼吸器を離脱した。再挿管の可能性がないところまで覚醒を確認した時点で、長期管理に移行した。

術後8週で安楽死させた。人工血管は剥離しすぎずに、周囲組織をある程度残して採取した。IVUS はレンタルを予定したが、起業からのレンタルが打ち切れ、施行することを断念した。狭窄度強化は、人工血管を横切りにすることで、横断面を複数作り内膜肥厚を評価することにした。吻合部周囲組織とそれ以外の人工血管部分に分けてホルマリン保存し、組織染色を行った。組織染色は H-E 染色、繊維染色を行った。免疫染色(-SMA、CD-31、CD-68)も施行した。

4. 研究成果

本研究は再径の ePTFE 人工血管内腔に DLC をコーティングし、その開存率向上有無を調査した、世界で初めての研究である。本研究の結果からは、DLC は ePTFE の線維を平滑化し、著名に親水性を向上し、アルブミン吸着とフィブリノーゲン吸着を2倍に増加させ、血小板付着を抑制することが確認された。SDS-PAGE では DLC は通常の ePTFE に対するタンパク付着をほぼ全ての分子量領域で増加させていることが確認された。全血付着試験では、ヒト全血とラット全血で非劣勢であるが、フィブリンの膜が DLC コーティング人工血管できており、やや劣勢なのではないかと予想された。しかし、それでもビーグル犬を用いた頸動脈置換術では少なくとも、8週間の生存で、細径人工血管開存率に対して、悪影響を与えることはないことが示された。従来の ePTFE でも DLC コーティング人工血管でも血栓の形成はほとんどなかった。-SMA 陽性細胞が、明確に DLC-coated ePTFE 人工血管壁内に侵入しにくい所見が組織学的検査で認められ、DLC は細胞

種の遊走に影響を与える可能性があると思われた。組織所見からは細径人工血管の吻合部狭窄が血栓閉塞よりも最も改善すべき事象と思われ、DLCに吻合部線維化予防効果を持たせる手法を検討中である。その一つとして、本研究中に、より親水性を向上させたカルボキシル基付加DLCのプロトタイプを開発し、新たな研究資金を獲得することができてDLCの改善を試みている。今回DLCでは、フィブリノーゲンの付着が増えたという点が、血液適合性の観点からは非常に残念であった。しかしながら、血管内の生体界面では、表面に官能基が存在し、種々のタンパクを結合させて、血液への適合性を保っている、各種のタンパクが付着することは必ずしも血液適合性にNegativeに作用するわけではない。アルブミンの付着は既存の文献から判断すると、血液適合性を増す所見であり、血小板付着を抑制するのも非常に好ましい点である。実際、全血付着試験ではほぼ非劣勢の結果でフィブリノーゲンが倍付着する結果と矛盾する結果であり、動脈置換術でも血栓形成がDLCで明確に促進される証拠は無かった。生体内の血管内壁表面では、官能基が存在し、様々な作用を持つタンパク分子が存在する。アルブミンも血管内壁表面で血栓形成抑制の役割の一端をになっており、昔からアルブミンコーティングで血栓形成を抑制する試みは行われてきた。各種タンパクが多く付着し、総合力としてはほぼ従来のePTFEの同等の血液適合性を保っていると考えるのが妥当と思われた。本研究成果を元に、今後は、現在のDLCの抗感染性や各種タンパクや白血球付着等の性質をさらに深く掘り下げて解明すると共に、DLCを生体界面に近づけるBiomimeticDLCを開発の試み、DLCを用いた樹脂や金属への薬剤付加技術の向上の試みなどを行う予定である。また、DLCは半永久に劣化しないことから、剥離耐性や生体内での耐久性をさらに確認すれば、現在のDLCでも、ePTFEより血液適合性の劣る物質を人工血管に使用できるePTFE並にはできることも本研究であきらかになったため、医療用としての用途開発の端緒も得ることができた。

また、NEXAFS、RBS、ERDA、分光エリプソメトリー、ナノインデンテーション法での膜の構造解析では、我々のDLC膜は、水素化アモルファスカーボンに分類されながら、硬さは、ポリマー状炭素(PLC)に分類されるという驚くべき結果を得た。これは、従来のDLC分類法では当てはまるカテゴリーがなく、新種のDLCである可能性が高いことが示唆され、学術的に歴史的意義があるものと思われた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tatsuyuki Nakatani, Yuichi Imai, Yasuhiro Fujii, Takashi Goyama, Susumu Ozawa	4. 巻 31
2. 論文標題 Novel DLC Coating Technique on an Inner-wall of Extended Polytetrafluoroethylene Vascular Grafts Using Methane Plasma Produced by AC HV Discharge	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Photopolymer Science and Technology	6. 最初と最後の頁 373-377
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2494/photopolymer.31.373	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 中谷達行、藤井泰宏	4. 巻 37
2. 論文標題 技術解説：交流電圧バーストプラズマCVD法による人工血管内壁への生体適合性DLCコーティング	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 EW DIAMOND	6. 最初と最後の頁 25-30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yasuhiro Fujii, Takashi Goyama, Genya Muraoka, Daiki Ousaka, Tatsuyuki Nakatani, Haruhito A. Uchida Susumu Oozawa
2. 発表標題 Effects of diamond-like-carbon coating for ePTFE artificial vascular graft as arteriovenous graft
3. 学会等名 European Society of Vascular Surgery（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 國竹 真司, 今井 裕一, 福江 紘幸, 大澤 晋, 藤井 泰宏, 中谷 達行
2. 発表標題 交流高電圧プラズマCVD法を用いたチューブ内面へのDLC成膜におけるガス温度特性
3. 学会等名 第69回電気情報関連学会中国支部連合大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 逢坂大樹, 合山尚志, 村岡玄哉, 中谷達行, 今井裕一, 柴田憲明, 藤井泰宏, 大澤 晋, 笠原真悟
2. 発表標題 Diamond-like carbon成膜技術を応用した ePTFE人工血管の血液適合性評価 ~先天性心疾患術後の合併症軽減を目指して~
3. 学会等名 第56回日本小児循環器学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柴田憲明
2. 発表標題 Diamond like carbonコーティング人工血管の生体適合性に関する検討
3. 学会等名 第2回医用DLC研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今井裕一, 中谷達行, 逢坂大樹, 藤井泰宏, 大澤晋, 國次真輔
2. 発表標題 交流高電圧バーストプラズマを用いた医療用チューブ内腔の親水化技術の開発
3. 学会等名 OUSフォーラム2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井裕一, 國次真輔, 神田一浩, 和田里章悟, 逢坂大樹, 藤井泰宏, 大澤晋, 中谷達行
2. 発表標題 小径長尺チューブ内壁へのダイヤモンドライクカーボン成膜と酸素プラズマ処理による表面構造の生体模倣
3. 学会等名 表面技術協会第22回関西表面技術フォーラム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中谷達行, 藤井泰宏, 逢坂大樹, 大澤晋, 今井裕一, 國次真輔
2. 発表標題 交流高電圧バーストプラズマを用いた医療用チューブ内腔の親水化技術の開発
3. 学会等名 第25回岡山リサーチパーク研究・展示発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中谷達行, 佐藤岳彦, 中島智樹, 和田里章悟, 逢坂大樹, 荒木元朗, 和田耕一郎, 大澤晋, 藤井泰宏, 藤村茂
2. 発表標題 プラズマを用いた抗菌、滅菌技術の最前線
3. 学会等名 第2回OUSフロンティアセミナー『コロナに立ち向かう知識と技術：岡山から考え発信する』
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今井裕一, 中谷達行, 國次真輔, 神田一浩, 逢坂大樹, 藤井泰宏, 大澤晋, 内富男
2. 発表標題 医療用チューブ内腔へのダイヤモンドライクカーボン成膜と酸素プラズマ処理による表面構造の生体模倣
3. 学会等名 第2回OUSフロンティアセミナー『コロナに立ち向かう知識と技術：岡山から考え発信する』
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 逢坂大樹, 藤井泰宏, 大澤晋, 中谷達行, 笹井泰志, 今井裕一
2. 発表標題 Diamond-Like-Carbonコーティングの医療応用とその未来
3. 学会等名 第3回岡山テックグランプリ
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤井泰宏、中谷達行、逢坂大樹
2. 発表標題 剥離・塞栓症予防を目指した次世代型カテーテル成膜技術の開発
3. 学会等名 JSTイノベーションジャパン2020
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 内面皮膜チューブ	発明者 今井裕一、中谷達行、大澤晋、藤井泰宏、逢坂大樹	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-036032	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 DLC人工血管	発明者 藤井 泰宏	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-165849	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	内田 治仁 (UCHIDA HARUHITO) (00550857)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	
研究分担者	大澤 晋 (OOZAWA SUSUMU) (20643414)	岡山大学・大学病院・講師 (15301)	
研究分担者	藤井 泰宏 (FUJII YASUHIRO) (40534673)	岡山大学・医学部・客員研究員 (15301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	中谷 達行 (NAKATANI TATSUYUKI) (50520920)	岡山理科大学・フロンティア理工学研究所・教授 (35302)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関