

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 3 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18184

研究課題名（和文）DLCコーティングによるワーファリン不要機械弁の開発

研究課題名（英文）Development of warfarin-free mechanical heart valve using DLC coating

研究代表者

衛藤 弘城（Etou, Kohki）

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：70637157

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：DLCをSJM機械弁の弁葉に立体的にコーティングすることに成功した。血小板吸着試験、フィブリノーゲン、アルブミン吸着試験を繰り返したが、DLCで血小板付着は明確に低下、アルブミン吸着は明確に上昇。フィブリノーゲン吸着は当初、吸着が減るのではないかと思われたが、実験を繰り返し吸着は増加すると結論づけた。フィブリノーゲン吸着増加は血液適合性低下を意味するため、現在DLCを改良中である。また、施設の都合で人工心肺技師の協力が得られなくなり、In-Vitroでの評価系を構築し、そのための装置を開発した。現在のDLCの血液適合性については全血接触を含めた包括的な評価を行いSci Repに採択された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の育成するDLCの特性があきらかになった。DLCは炭素結合の種類比率、水素含量、原子の密度でかなり性質が異なる事が明らかになった。我々のDLCはこれまでにない、柔らかく、樹脂に適したDLCであることが分かった。酸素含量の調整による、親水性、ゼータポテンシャルの変化のデータを取得できた。また、血液適合性については当初の予想通りの圧倒的な血液適合性は得られなかったが、本研究と他の研究で得られた知見をまとめて、Scientific Reportに論文を提出、現在2度目のReviseを行い結果待ちである。また、人工弁のIn-Vitro評価装置を開発し、次のステップに繋げることが可能となった。

研究成果の概要（英文）：We have successfully achieved three-dimensional coating of DLC on the valve leaflet of the SJM mechanical valve. Platelet adhesion tests, fibrinogen tests, and albumin adhesion tests were conducted repeatedly. The platelet adhesion with DLC clearly decreased, while the albumin adhesion showed a clear increase. Initially, it was suspected that fibrinogen adhesion would decrease, but through repeated experiments, it was concluded that the adhesion actually increased. The increased fibrinogen adhesion indicates a decrease in blood compatibility, so we are currently working on improving the DLC. Additionally, due to facility constraints, we were unable to obtain the cooperation of perfusionists, so we established an in-vitro evaluation system and developed the necessary equipment. The current blood compatibility of DLC was comprehensively evaluated, including whole blood contact, and the results were accepted in Sci Rep.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：Diamond-like carbon 血液適合性 人工弁 カルボキシル基 生体模倣 親水性 ゼータポテンシャル

1. 研究開始当初の背景

本邦における心臓弁膜症患者は推定で 200~300 万人とされており、高齢化社会を迎え、その数は増加することが予想される。心不全を呈する症例では、手術による根治術が必要となる。機能的あるいは解剖学的理由で自己弁修復が不可能な場合、自己弁は切除して、代わりに人工弁で置き換える必要が生じる。これを弁置換術と呼び、手術件数は増加の一途をたどっている。弁置換術に用いる人工弁には、生体弁と機械弁の 2 種類が存在する。生体弁は、ブタ、ウシなどの心膜を加工して作成されたもので、生体適合性に優れるため、術後特別な投薬を必要としない。一方で耐久性に限界があることが知られており、15 年前後で再置換手術が必要である。再手術では、癒着による手術難度の増加、患者の高齢化、人工弁の劣化による心臓機能の低下などにより、各段に初回手術よりも重篤な合併症や死亡のリスクが高い。一方、機械弁は 1970 年代に臨床使用が始まり、改良を加えられて現在に至る。現在はカーボン素材で頑丈な作りとなっており、その耐久性は 50 年以上とされる。しかし、生体適合性に劣るため、弁表面に容易に血栓を形成する。形成された血栓は、脳梗塞等の重篤な塞栓症の原因となる。これを回避する目的で抗凝固薬（ワーファリン）を生体内服し続ける必要があるが、抗凝固薬を内服すると脳出血、消化管出血などのリスクが大きく上昇する。また、出血を伴う医学的処置も行いにくくなる。ワーファリンは厳格な外来管理を要し、通常は月 1 回以上の通院と、血中 PT-INR 値による投薬量調整が必要となる。患者にとっては時間的、肉体的、金銭的負担が非常に大きい。また、ワーファリンには催奇形性という副作用が報告されており、拳児希望のある若年女性には機械弁は使用できない。従って、若年女性には耐久性に限界のある生体弁を使用せざるを得ず、将来的に複数回の再手術が必要となり、患者の大きな負担となる。

過去の文献では、DLC コーティングを施すことで血小板付着が減少し、血液凝固タンパクである Fibrinogen の吸着も減少することが報告されている。また、それは DLC による親水性の向上が寄与していると思われる (Roy RK, et al. Acta Biomater. 2009;5:249-56)。当研究室でも、DLC コーティングで親水性の向上が認められている。成膜時間 5 分以上でかなりの親水性が得られることを確認済みである。

人工弁の問題を解決するには、機械弁にワーファリン不要な抗血栓性を持たせる、生体弁の耐久性を大きく向上させる、の 2 つの方法があるが、工業製品を扱う①に対し、生体材料を使用する②の開発のハードルは非常に高く、類似品の改良レベルの変化では劇的に耐久性が向上する可能性は非常に薄い。対して、は現状の Valve 構造に DLC コーティングで機械弁の抗血栓性を大きく向上させることができるならば、一番早急な問題解決手段となるものと思われる。上記の如く DLC は抗血栓作用を有する事が証明されているが、機械弁に応用した研究成果は調べた限り存在せず、DLC が機械弁置換術後にワーファリンが不要になるほどの抗血栓効果を有するかどうかは不明である。

2. 研究の目的

本研究では、DLC コーティングで心臓機械弁の血液適合性が大きく向上できるかどうか？確認することである。

3. 研究の方法

血液適合性解析:網羅的タンパク吸着試験、アルブミン吸着試験、フィブリノーゲン吸着試験、血小板付着試験、ヒト全血・動物全血接触試験。

In-Vivo での人工弁植え込み試験 (途中で In-Vitro 試験系構築が必要になった (詳細は研究成果の項目参照)):ブタに大動脈弁置換術を行い、ワーファリンなしで長期飼育し、人工弁の血栓形成性を DLC コーティング有無で比較検討する。機械弁が非常に高価であること、またワーファリンなしでは機能しない事は既に既知の事である事から DLC 機械弁のみ、ブタ 4 頭での実験を予定した。(使用機械弁) 19mm 大動脈弁用機械弁:Mechanical Heart Valve, St. Jude Medical (使用動物) メスの成獣ブタ (使用頭数) X (グループ) DLC コーティング群のみ 4 頭 (手術手技) ヒトでの手術手技に準ずる。全身麻酔下に前胸部切開にて心臓へアプローチする。人工心肺補助下に心停止として大動脈弁を切除し、機械弁を移植する。その後、心拍再開させて人工心肺補助から離脱して手術は終了する。閉胸前に心嚢・縦郭ドレーンを留置する。(術後管理) 術後は止血確認後にドレーン抜去し、麻酔を覚まし、人工呼吸器を離脱する。循環作動薬も中止し、点滴ラインを抜去する。術後の抗凝固薬投与は行わない。呼吸状態が良い事を確認後、動物管理部門の管理に移行する。

4. 研究成果

本研究で用いる DLC の血液適合試験については、当初フィブリノーゲン吸着は低下する Data が出ていたが、研究数が増えるにつれ、フィブリノーゲン吸着は増える事が判明した。本研究遂行にあたり、確定が必要であるので、研究を繰り返し、フィブリノーゲン吸着は DLC で ePTFE 基板にて増加することを確定した。その他、DLC の血液適合性がどれくらいであるか？ということを確認させる必要があるため、網羅的タンパク吸着試験、アルブミン吸着試験、フィブリノーゲン吸着試験、血小板付着試験、ヒト全血・動物全血接触試験を追加施行し、フィブリノーゲン吸着は増えるものの、我々の育成する DLC に期待できる血液適合性は、ePTFE にかかなり近いものであることを確認し（同等か、やや落ちる）Scientific Report に論文掲載予定である。DLC の血液適合性については、現状のままではワーファリンフリーは望めないと考える。ePTFE を超えるものが望ましいと考え、血液適合性がさらに向上する DLC 開発を現在施工中である。

上記DLCをもちいて、SJMの機械弁の立体構造にDLCをコーティングする技術を確立した。そのDLCコーティング機械弁を用いて、ブタ大動脈置換術を1例施行したが、生存を得られなかった。その後、施設の都合で人工心肺技師の本研究への協力が不可能となり、In-Vitroで人工弁を開閉させて、血液適合性を確認する実験系構築が必要となり、In-Vitro人工弁開閉が可能となる装置を開発した。完全に生体のような圧波形は得られないものの、人工弁開閉は可能な閉鎖系回路を作成できた。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 中谷達行, 逢坂大樹	4. 巻 675
2. 論文標題 特集「表面処理とトライボコーティングの最近の動向」医療分野に貢献する日本医用DLC 研究会の設立と今後の展望	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 潤滑経済	6. 最初と最後の頁 17-21
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 -

1. 著者名 中谷達行, 藤井泰宏	4. 巻 37
2. 論文標題 交流高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 NEW DIAMOND 第140号	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6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yuichi Imai, Tatsuyuki Nakatani, Kazuhiro Kanda, Shinsuke Kunitsugu, Yasuhiro Fujii, Daiki Ousaka, Susumu Ouzawa, Tomio Uchi
2. 発表標題 Biomimetic Diamond-like Carbon Coating on a Lumen of Small-diameter Long-sized Tube Functionalized by Oxygen Plasma Treatment
3. 学会等名 Material Research Meeting 2021 (MRM2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yasuhiro Fujii; Takashi Goyama; Genya Muraoka; Daiki Ousaka; Yuichi Imai; Susumu Oozawa; Yasushi Sasai; Tatsuyuki Nakatani
2. 発表標題 Application of Diamond-Like-Carbon (DLC) for the Medical Fields; New Technologies and Potential for Innovation
3. 学会等名 TERMEC 2021, 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柴田憲明
2. 発表標題 DLC人工血管のAntimicrobial test
3. 学会等名 日本医用DLC研究会第3回総会・研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tatsuyuki Nakatani, Yuichi Ima, Yasuhiro Fujii, Daiki Ousaka and Susumu Oozawa
2. 発表標題 Present trends and future prospects for medical applications of diamond-like carbon
3. 学会等名 第36回プラズマプロセッシング研究会 (SPP-39) 第31回プラズマ材料科学シンポジウム (SPSM-34)
4. 発表年 2021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 プラズマを用いた滅菌、抗菌技術の最前線
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 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

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------