

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21591628

研究課題名（和文） 人工細胞膜表面を有する新規小口径人工血管の開発

研究課題名（英文） Development of small-diameter vascular graft composed of antithrombogenic phospholipid polymer

研究代表者 岡本 宏之（OKAMOTO HIROYUKI）

東京大学医学部附属病院・助教

研究者番号：60348266

研究成果の概要（和文）：イヌの頸動脈または大腿動脈に対して新規小口径人工血管を移植した。その開存率は、MPC ポリマーをコーティングしたものと未コーティングの人工血管では、一週間後がそれぞれ 9/37(24%)と 14/37(38%)、2 週間後が 4/37(11%)と 6/37(15%)、4 週間後が 3/37(8%)と 3/37(8%)と差を認めなかった。採取された人工血管の内腔表面には、コーティング済みと未コーティングの人工血管を比べても、同程度の血栓の付着を認め、組織標本においても、ほぼ同程度の人工血管の内膜肥厚や平滑筋細胞の増生を認めた。

研究成果の概要（英文）：The patency rates of carotid or femoral arterial bypass with MPC-coated and noncoated ePTFE grafts were 9/37 (24%) and 14/37 (38%) after one week; 4/37 (11%) and 6/37 (15%) after two weeks; and 3/37 (8%) and 3/37 (8%) after four weeks. Based on a histological examination, the thrombus was attached to the cut edges of the host artery. Intimal hyperplasia at the anastomosis and the surface of MPC-coated grafts was not changed remarkably compared with noncoated grafts.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：医学・外科系医学・外科学一般

キーワード：小口径人工血管、MPC ポリマー、抗血栓性

1. 研究開始当初の背景

血管疾患に対する手術の際に用いられる代替血管は、1950 年代に同種あるいは異種生体動脈移植から高分子繊維による人工血管へと研究の対象が移行した。様々な素材の出現、淘汰を経て、柔軟性、耐久性、生体適合性に優れたポリエステル（ダクロン）および ePTFE（ゴアテックス）が最も多く臨床の現場

で使用されるようになった。現在口径 6mm 以上の人工血管は移植後の長期成績に関して良好な開存成績をおさめているが、5mm 以下の小口径では人工血管の開存性は確立されておらず、自家静脈や動脈グラフトを用いているのが現状である。一方動脈硬化性疾患の増加に伴い、冠動脈疾患や閉塞性動脈硬化症に対する血管バイパス術の需要が高まっている。その際に自家血管がグラフトに適さず、

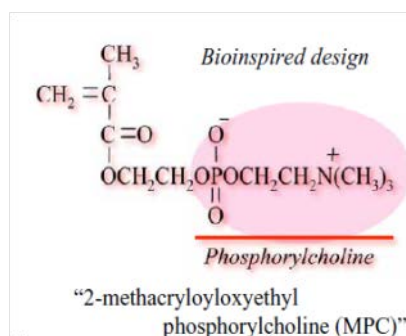
手術不能となる例も多く、開存性にすぐれた小口径人工血管の開発は喫緊の課題である。人工血管の閉塞原因は様々考えられているが、一番の課題は抗血栓性である。

血管疾患に対する手術の際に用いられる代用血管は、1950年代に同種あるいは異種生体動脈移植から高分子繊維による人工血管へと研究の対象が移行した。様々な素材の出現、淘汰を経て、柔軟性、耐久性、生体適合性に優れたポリエステル（ダクロン）およびePTFE（ゴアテックス）が最も多く臨床の現場で使用されるようになった。現在口径6mm以上の人工血管は移植後の長期成績に関して良好な開存成績をおさめているが、5mm以下の小口径では人工血管の開存性は確立されておらず、自家静脈や動脈グラフトを用いているのが現状である。従来使用されている自家静脈グラフトの高い開存率は、元来有する血管内皮細胞の抗血栓性によるものと考えられ、人工血管の抗血栓性の獲得戦略として、人工血管表面に内皮細胞を誘導することで、早期に内皮化させ、抗血栓性を高める方法が多く試みられてきた。

例えば、異種同種の内皮細胞の直接接取であり、人工血管表面へのEGF、VEGF等の内皮細胞を誘導するたんぱく質のコーティングであり、メッシュタイプの人工血管に平滑筋細胞を培養し内皮細胞を接種するハイブリッド型の人工血管の開発といったものである。中には良好な開存率を示したものもあったが、生体由来材料が多く、いずれも実用化が困難であった。

それに対して、高度の抗血栓性を有する人工材料の開発も進められ、内皮細胞を誘導せずとも高い抗血栓性が得られる可能性が示されてきた。

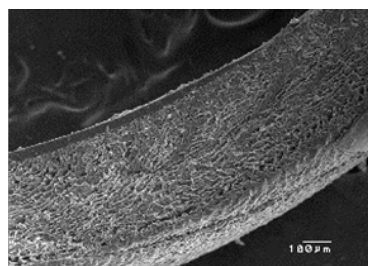
我々は今回、本学工学部の石原研究室と提携し、同研究室が長年研究成果を収めている、リン脂質側鎖構造を有し生体細胞膜表面に模したMPCポリマーに着目した。



MPCはnakabayasiらによって開発された、

側鎖構造にリン脂質基を有する高分子で、疎水性モノマー（n-メチルブタクリレート（BMA）など）と共重合体（PMBなど）を形成させることで既存のいかなる基材に対してもコーティングが可能となり、血漿タンパク質の非特異的吸着の回避と血液成分の粘着、活性化をほぼ完全に抑制する。現在、コンタクトレンズ、人工心臓や人工関節でも臨床応用されており、生体適合性は実証済みである。

MPCポリマーは、さらに柔軟性と組織親和性に優れたセグメント化ポリウレタン（SPU）と混合することで、従来の人工血管表面に膜状のコーティング可能となり、細胞膜表面に模した構造となる。これにより、人工血管表面へのタンパク付着が低下し、抗血栓性が得られる。



(SEM写真:MPCコーティング済みePTFE)

YoneyamaらはSPU/MPCポリマーで被覆した径2mmのダクロン人工血管をウサギ頸動脈に移植した実験で、移植8週間後のグラフト内面の仮性内膜を認めず、高い開存率を獲得した。

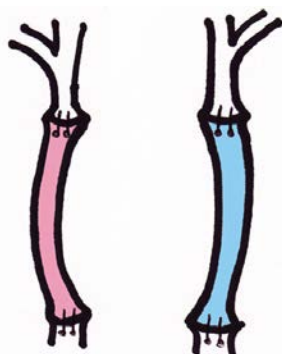
2. 研究の目的

既に臨床応用されているePTFEグラフトにMPCポリマーをコーティングして、抗血栓性を有する4mmの人工血管を作成し、未コーティングの人工血管と比べ、イヌの動脈に移植後長期間開存することまたは人工血管表面の内膜肥厚が改善することを確認する。これがより柔軟で長い人工血管で確認されれば、使用する素材のいずれもが既に臨床応用されて人体に使用されていることから、より短期間で小口径人工血管としての臨床応用が期待できると考えた。

3. 研究の方法

グラフトは、既製の4mm ePTFEないしはセグメント化ポリウレタンで独自に作成した4~5mm径のグラフトに、MPCポリマーをコーティングした。コーティング手法としては、SPUとMPC/EHMA共重合体であるPMEHを混合した溶液を比率を変えて何層にも行うものや、ePTFEの足場が完全に埋没するまで重厚かつ平滑にSPUでコーティングした後にPMEHを

コーティングしたものや、光重合法を用いて高密度に MPC を表面配向させたものを試みた。この過程は工学部マテリアル工学科石原研で行った。



イヌ 頸動脈
赤 : MPC-coated
青 : Non-coated

動物実験は、犬（約 12kg）に対し、全身麻酔下で、動脈に、滅菌済みのグラフト（片側に MPC コーティング済みグラフト、対側に未コーティングのグラフト）を置換した。一週間おきに体表からの超音波でグラフトの開存を確認し、閉塞が認められたら即採取、開存していれば 4 週間後に採取した。採取された標本は、切片を作成し、吻合部やグラフトの組織標本を作成した。さらに免疫染色等で内皮細胞や平滑筋細胞のグラフト表面への付着の程度を評価した。

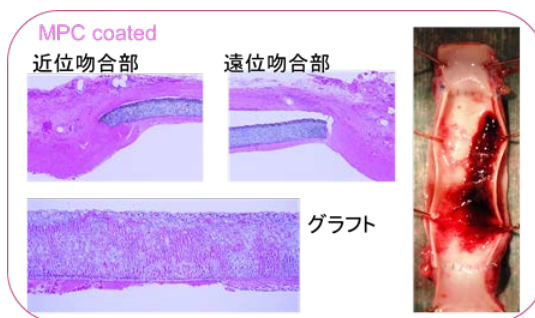
4. 研究成果

人工血管移植実験を数回施行したところで中期成績を評価したが、MPC コーティング済み人工血管の多くに早期閉塞を認め、優位性は示せなかった。一番の問題は、血管のコンプライアンスと、内腔表面の MPC ポリマーの平滑かつ高出力率の高いコーティングの両立が困難であること考えられた。その解決に向けて、陰圧を用いた多孔内の気泡の除去及び多孔側面への効率のよいコーティングに取り組んだ。

最終的な開存率は、MPC ポリマーをコーティングしたものと未コーティングの人工血管では、一週間後がそれぞれ 9/37(24%)と 14/37(38%)、2 週間後が 4/37(11%)と 6/37(15%)、4 週間後が 3/37(8%)と 3/3(8%)と差を認めなかった。

	1week	2w	4w
Non-coated	9/37	4/37	3/37
MPC-coated	14/37	6/37	3/37

採取された人工血管の内腔表面には、コーティング済みと未コーティングの人工血管を比べても、同程度の血栓の付着を認め、組織標本においても、ほぼ同程度の人工血管の内膜肥厚や平滑筋細胞の増生を認めた。



最終的に、MPC ポリマーをコーティングさせた小口径人工血管の移植後長期の開存性を示すことはできなかった。

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 0 件）

〔学会発表〕（計 0 件）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡本 宏之 (OKAMOTO HIROYUKI)
東京大学・医学部附属病院・特任講師
研究者番号：60348266

(2) 研究分担者

小山 博之 (KOYAMA HIROYUKI)
東京大学・医学部附属病院・特任准教授
研究者番号：10241994

宮田 哲郎 (MIYATA TETSUROU)
東京大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：70190791

重松 邦広 (SHIGEMATSU KUNIHIRO)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：20215966

木村 秀生 (KIMURA HIDEO)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：60327070

(3) 連携研究者