

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08865

研究課題名(和文) アミノ基付加DLCコーティング人工血管開発と、官能基がDLCに及ぼす効果の検討

研究課題名(英文) Development of ammoniated DLC coating for artificial vascular graft and evaluation of influence of ammoniation and carboxylation on DLC coating

研究代表者

堀尾 直裕 (Horio, Naohiro)

昭和大学・医学部・助教

研究者番号：90839002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：樹脂管腔内腔表面用のアミノ基付きDiamond-like carbon (DLC)を作製した。アミノ基付DLCはかなり親水性が向上することが明らかになり、成膜条件を調整して水接触角12度の超親水性といえるDLC表面が開発でき、特許申請を行った。ゼータ電位を測定するとアミノ基付加前後でゼータ段位が15～30mV上昇していることが確認された。カルピキシル基とアミノ基両方を持つ両性付加DLCも開発に成功した。カルボキシル基付加、アミノ基付加、両性付加それぞれのDLCコーティング樹脂(ポリウレタン、ePTFE)におけるタンパク付着試験、抗菌性試験(ポリエチレン、ePTFE)を実施中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

管状樹脂基材内腔用のアミノ基付きDLCの生成方法、両性DLCの生成方法の確立は世界初である。DLCは近年は常温でコーティング可能なカーボンコーティングとして注目を集めている、その加工の多様性とDLCそのものの生体適合性の高さから、医療、バイオ領域への応用研究がこれから加速していくものと考えられる。医療機器や細胞培養、遺伝子治療への応用する上での選択肢が格段に広がったといえる。具体的には、今後は、ePTFE、ポリエチレン、ポリウレタン、塩化ビニル等の基材用樹脂にそれぞれのDLCを施すことで、タンパク付着、細胞動態、抗菌性等への有用な機能を付加する動きが加速されると思われる。

研究成果の概要(英文)：We have developed an amino-functionalized diamond-like carbon (DLC) coating for the inner surface of resin lumens. It was found that the amino-functionalized DLC significantly enhances hydrophilicity. By optimizing the deposition conditions, we achieved a DLC surface with an ultrahydrophilic water contact angle of 12 degrees, and a patent application has been submitted for this development. Scanning electron microscope (SEM) observations confirmed that the amino-functionalized DLC maintains a smooth surface, similar to conventional DLC. Furthermore, we successfully developed amphoteric functionalized DLC that incorporates both carboxyl and amino groups. Protein adhesion tests were conducted on ePTFE substrates coated with carboxyl-functionalized, amino-functionalized, and amphoteric-functionalized DLCs, with n=6 for each condition. The results are currently being compiled into a manuscript for publication.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：ダイヤモンドライクカーボン 樹脂 医療機器 人工血管 官能基 ePTFE 蛋白吸着 プラズマ材料

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Diamond-like-carbon (DLC) というカーボンコーティング素材がある。厚さ数十 nm と極薄、強靱、平滑、半永久的耐久性、非アレルギー性等の生体材料に有利な性能を有する。人工血管等の管状物質内空表面に施すことは従来不可能であったが、当研究室では、管空内への DLC コーティング技術を世界で初めて開発した(特許第 6506787 号)。本技術を使用し、平滑性と親水性を向上し、血栓形成を抑制し、一部の細菌付着を抑制する DLC コーティング ePTFE 人工血管の開発研究を進めている。また、官能基を付加し、より生体表面構造に近づくバイオミメティック DLC を構想し、カルボキシル基付加 DLC(C-DLC)を開発(特願 2020-122972) 親水性をさらに向上させることに成功した。さらに、高分子ブラシを用いた DLC への機能付加も検討中である。また、DLC に逆の官能基であるアミノ基を付加しても、やはり親水性が向上するものと考えられ、アミノ基付加 DLC(A-DLC)の開発にも取り組んでいる。また、カルボキシル基とアミノ基両方を付加する(CA-DLC)ことも可能であり、これらで DLC の性能がどう変わるのか?不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、管腔内 DLC にアミノ基を付加する方法を開発し、C-DLC、A-DLC、CA-DLC といったバイオミメティック DLC の官能基の違いが、血液適合性と細菌付着性等の人工血管開発に関連する性質をどのように変化させるのか?調査することである。

3. 研究の方法

樹脂内腔用アミノ基付加 DLC の開発:Chemical vapor deposition 法によって樹脂内腔用 DLC コーティングを行い、さらに窒素プラズマ処理による DLC への窒素ドーピングを施行する。ガス流量、印加電圧を調整し、DLC への安定的なアミノ基付加 DLC 作製方法を確立する。さらに、成膜時間を調整して親水性が最大となる時間を特定する。XPS でアミノ基付加の状況を確認する。DLC の存在はラマン分光法で確認する。開発はポリウレタンチューブやポリウレタンおよびシリコンシートを用いて行う。その後 ePTFE にコーティングを施す(ePTFE は実験に使用できるものがないため)平滑性や ePTFE の線維性構造の維持がなされているかどうかは SEM にて観察する。

樹脂内腔用、両性付加 DLC の開発: 以前既に、樹脂内腔用 DLC にカルボキシル基を付加する技術を開発済みである、上記で開発した、アミノ基付加技術と合わせて、両性付加 DLC の開発を行う。DLC 成膜後の、カルボキシル基付加を行う酸素プラズマ処理条件とアミノ基付加を行う窒素プラズマ処理条件を調整して、両性付加樹脂内腔用 DLC の開発を行う。XPS で官能基付加の状況を確認し、DLC の存在はラマン分光法で確認する。同様にポリウレタンチューブとポリウレタン及びシリコンのシートを用いて開発を行い、その後 ePTFE で実践する。平滑性や ePTFE の線維性構造の維持は SEM にて観察する。

蛋白吸着試験: アルブミン溶液もしくは、フィブリノーゲン溶液に樹脂基材(ポリウレタン、塩化ビニル、ポリエチレン、ePTFE)を接触させて、タンパク吸着量を、プロテインアッセイキットを用いて測定する。

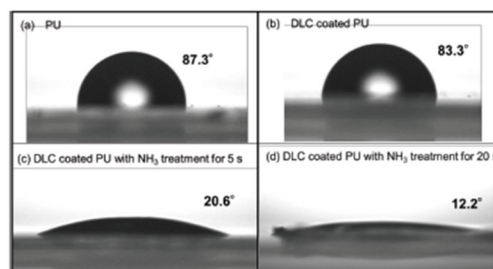
抗菌性試験: 人工血管感染で最も重要な S.Aureus の静置接触試験、灌流接触試験を行った。S.Aureus を培養した、培養液に各種 DLC コーティングを施した樹脂基材(ポリウレタン、塩化ビニル、ポリエチレン、ePTFE)を浸して、細菌付着数をカウントし、吸光度法を用いてバイオフィーム形成を定量化する。

4. 研究成果

樹脂管腔内腔表面用のアミノ基付き Diamond-like carbon(DLC)を作製した。アミノ基付 DLC はかなり親水性が向上することが明らかになり、成膜条件を調整して水接触角 12 度の超親水性といえる樹脂内腔用 Diamond-like Carbon 表面が世界で初めて開発された(図 1)。また、ポテンシャルは DLC よりプラスにシフトすることが証明された。走査型電子顕微鏡(SEM)観察で、アミノ基付加 DLC でも DLC 同様平滑性が増していることを確認した。本技術については特許申請済みである。

本技術と、以前開発した、樹脂内腔用 DLC にカルボキシル基を付加する技術と合わせて、とアミ

図1: アミノ基付加によるDLCの親水性変化



ノ基両方を持つ両性付加 DLC も開発に成功した。

カルボキシル基付加、アミノ基付加、両性付加それぞれの DLC コーティング ePTFE におけるタンパク付着試験、抗菌性試験を実施中であるが、カルボキシル基単独、アミノ基単独では生体適合性は恐らく DLC 単体以上のものでは無いと思われ、生体適合性の向上については ePTFE 以上のものは確認できていない (ePTFE の生体適合性は、生体材料として当初思っていたよりかなり良い)。よって、当初予定した、ブタを用いた動物実験は行わず、DLC のさらなる改良で生体適合性の向上を目指す研究をすすめている。

抗菌性については、その効果は基材と DLC の組み合わせで変わってくる。各種基材 + DLC の多様なくみあわせで、人工血管の主要感染菌である *S. Aureus* を中心に ePTFE、ポリウレタン、ポリエチレン、塩化ビニルにおける抗菌性試験を当初の予定より拡大して継続中である。

今後、開発した DLC を元に、さらなる新しい高生体適合性 DLC 開発、開発した DLC との蛋白吸着、抗菌性、細胞反応についての検証研究を進めていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2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 -
1. 著者名 Yuichi Imai, Hiroyuki Fukue, Tatsuyuki Nakatani, Shinsuke Kunitsugu, Noriaki Kuwada, Yasuhiro Fujii, Daiki Ousaka, Susumu Oozawa, Tomio Uchi	4. 巻 36
2. 論文標題 Ultra-hydrophilic Diamond-like Carbon Coating on an Inner Surface of a Small-diameter Long Tube with an Amino Group by AC High-voltage Plasma Discharge	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Photopolymer Science and Technology	6. 最初と最後の頁 379-384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2494/photopolymer.36.379	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 -
1. 著者名 Goyama T, Fujii Y, Muraoka G, Nakatani T, Ousaka D, Imai Y, Kuwada N, Tsuji T, Shuku T, Uchida HA, Nishibori M, Oozawa O, Kasahara S.	4. 巻 13
2. 論文標題 Comprehensive hemocompatibility analysis on the application of Diamond-like carbon to ePTFE artificial vascular prosthesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-35594-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kuwada N, Fujii Y, Nakatani T, Ousaka D, Tsuji T, Imai Y, Kobayashi Y, Oozawa S, Kasahara S, Tanemoto K	4. 巻 27
2. 論文標題 Diamond-like carbon coating to inner surface of polyurethane tube reduces Staphylococcus aureus bacterial adhesion and biofilm formation.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Artif Organs	6. 最初と最後の頁 108-116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10047-023-01403-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 中谷達行, 藤井泰宏	4. 巻 61
2. 論文標題 解説: 人工血管やカテーテルなどの医療デバイスに用いられている材料の現状と医療用DLCの開発について	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 材料の科学と工学	6. 最初と最後の頁 14-17
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7件 (うち招待講演 3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 藤井泰宏
2. 発表標題 医療機器表面の抗菌加工：ニーズと我々の取り組み
3. 学会等名 第6回医用DLC研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藤井泰宏
2. 発表標題 日本の医療機器開発：AMED出向で学んだこと
3. 学会等名 IEEE JAPAN COUNCIL LIVE WEBINAR SERIES IEEE Engineer Spotlight (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 藤井泰宏
2. 発表標題 Diamond-like Carbon コーティング: 技術革新による医療応用拡大の可能性
3. 学会等名 湘南iPark 第3回Membershipday2024 (招待講演) (招待講演)
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 中谷達行、今井裕一、國次真輔、藤井泰宏	4. 発行年 2023年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 8
3. 書名 “ぬれ性”制御と表面処理・改質技術 -自動車、5G/6G、粘・接着剤、IJインク-, 第3章高分子、樹脂材料におけるぬれ性の制御、第17節 DLC薄膜の形成と表面処理・改質への応用	

1. 著者名 中谷達行、藤井泰宏、栗田憲明、和田里章悟	4. 発行年 2023年
2. 出版社 株式会社エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 12
3. 書名 第2編 バイオフィルム最新研究, 第6章 表面処理によるバイオフィルム形成阻害, 第2節 医療用ダイヤモンド状炭素(DLC)成膜によるバイオフィルム形成抑制, 「バイオフィルム 革新的制御技術」	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 生体機能性材料	発明者 栗田憲明、中谷達行、逢坂大樹、藤井泰宏、今井裕一、國	権利者 学校法人川崎学園、学校法人加計学園、スト
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-103922	出願年 2023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	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・大学病院・助教 (15301)	
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)	
研究分担者	笹井 泰志 (Sasai Yasushi) (60336633)	岐阜医療科学大学・薬学部・教授 (33708)	
研究分担者	逢坂 大樹 (Ousaka Daiki) (70839141)	岡山大学・医歯薬学域・助教 (15301)	
研究分担者	美間 健彦 (Mima Takehiko) (80596437)	愛媛県立医療技術大学・保健科学部・教授 (26301)	
研究分担者	笠原 真悟 (Kasahara Shingo) (90233692)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	

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