

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25年 6月3日現在

機関番号：12101
 研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2010 ～ 2012
 課題番号：22390242
 研究課題名（和文）熱・振動・圧力低エネルギー複合化による新しい生体組織接合技術の確立
 研究課題名（英文） Establishment of novel living tissue adhesion method by using integrated low-level energies of heat, pressure and vibration
 研究代表者
 増澤 徹 (MASUZAWA TORU)
 茨城大学・工学部・教授
 研究者番号：40199691

研究成果の概要（和文）：低エネルギー複合化による新しい生体組織接合技術の確立を行った。加熱・加圧によるコラーゲンの形態学的変化を観察し、熱架橋結合が接合に関係することを見出した。専用加熱制御回路を開発し、接合時間を20秒まで短縮した。金属表面修飾により接合強度を制御可能であることや極性基を有する高分子が生体組織と接着することを見出した。動物実験で、炎症を起こさずに接合部の良好な温存と1月以上の接合維持が可能であることを確認した。

研究成果の概要（英文）： Novel biological tissue adhesion method, which is using integrated low-level energy sources of heat, vibration and pressure, has been established. Morphological changes of collagen by heating and applying pressure were observed. It seems that thermal cross-links of collagen fibers could contribute the adhesion strength. We succeeded in shortening the adhesion time to 20 sec by developing specialized heater control unit. The adhesion performance with metal specimen can be regulated by using DLC coating and changing the roughness of metal surface. The polymer material with polar groups can be adhered on the living tissue. In animal experiments, no inflammation was observed, the tissue construction could be preserved well and the adhesion performance could be kept for more than 1 month in the living body.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	6,000,000	1,800,000	7,800,000
2011年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2012年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：医用工学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 外科学一般

キーワード：人工臓器学，手術機器，生体組織結合，生体組織接着

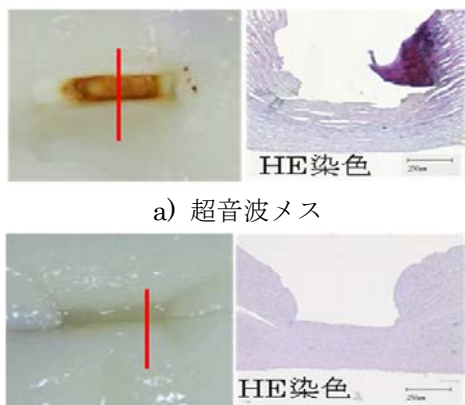
1. 研究開始当初の背景

生体組織の接着，接合に関しては，化学的な生体接着剤やレーザー光，超音波振動，電気メス等を用いた方式が研究されている。化学接着剤では生体組織強度の1/100程度の低

接着強度であるとともに接着に10数分オーダーの時間がかかり，例えば血管縫合に耐える接着強度を実現する接着剤は未だに開発されていない。レーザー光融着方式では，レーザーエネルギーを効率よく吸収させる

ための組織染色が必要である等の使用条件の制限が実用化の壁となっている。現在、止血目的で用いられる電気メスでは局所への高エネルギー集中による組織炭化、術後の止血部脱落による出血が問題となっている。また、電気メス止血は脳外科手術には生体電気信号への擾乱影響のために用いることができない。超音波メスを用いた方法では、超音波振動によるメス刃・組織間の摩擦熱を用いて組織融解を行っていると考えられているが、やはり局所への高エネルギー集中のために組織を接着するとともに熱破壊してしまうため、小血管の切断・断端止血にのみ用いられているのが現状である。また、その接着機序は明らかにされていない。そこで我々は、超音波振動による組織接着現象を、より低エネルギー付加の状況で再現することにより、組織破壊を最低限に抑えた組織接着方法の着想に至った。図1に超音波メスによる豚大動脈血管内皮側組織の損傷融着部外観、断面染色組織像と本方式による低損傷の接合部外観と断面染色組織像を示す。本法を用いることにより、組織破壊を最小限に抑えた組織接着が可能となり、今まで手縫いの縫合しか手段のなかった血管縫合や止血手技において画期的な接合技術の提供が行える。

今までの研究で、30秒程度で組織接着が可能であること、組織接着強度は接着時間、接着温度、接着圧力に比例すること、通常接着剤の3倍以上、血管組織自体の約半分の非常に強力な接着が可能であることを確認している。直径2~4mmの動脈を用いた加圧破裂実験では本接合方式で接着した血管断端が最大350mmHgの圧力まで耐えうることを確認済みである。また本法はステンレス、チタン等の金属や高分子材料と生体組織を接合することにも応用可能で、ステント、人工血管、人工心臓送脱血管等の接合に使用可能である。既に申請者により複数の特許申請済みである。



a) 超音波メス
b) 低エネルギー複合による方法
図1 デバイスによる損傷比較

2. 研究の目的

本研究では熱・振動・圧力低エネルギー複合化による生体組織接合技術の「機序の解明」、「接合技術の最適化」、「安全性の確認」を行い、臨床応用を見据えた本生体組織接合技術の確立を目的とする。

3. 研究の方法

(1)「機序解明」: 本接合方法の機序は図2のように組織内のコラーゲンが高温度(80℃以上)でゲル化したときに圧力、振動を加えることにより混合すると仮定している。本現象の解明の一助として生体組織から抽出したコラーゲン単体を加熱・加圧し、形態学的変化を原子間力顕微鏡(AFM)及び走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて観察を行う。加熱時間、圧力の条件を変化させて行う。

(2)「接合技術の最適化」: 加熱制御法の改良による昇温時間の短縮、伝熱シミュレーションによる最適接着条件割り出しにより接着時間の30秒以下への短縮を行う。また、「生体組織と生体組織」、「生体組織と高分子材料」、「生体組織と金属材料」の種々の接合に応じた最適接着条件を見つける。合わせて、動物実験のためのハンドピース型組織接合装置の開発を行う。

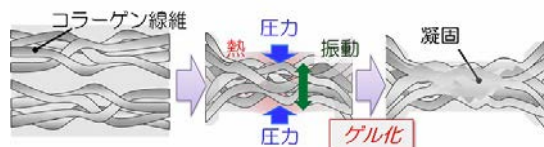


図2 生体組織接合メカニズム

(3)「安全性の確認」: 生体への安全性及び血流化での接合維持期間を評価するために、開発したハンドピース型組織接合装置を用いて下記の動物実験を実施する。

① 炎症反応評価実験: 接合温度 100℃接合時間 30秒の条件で、ドナーラット(F344, 10週令)から採取した大動脈に接合を行う。接合したドナーラット大動脈を近交系のレピエントラット(F344, 10週令)に、背部皮下埋植を行う。移植後7日目に接合部分にHE染色処理を行い、組織評価を行う。比較対象として、接合を行わない大動脈血管、超音波メス(ジョンエンドジョンソン製, 出力Lv1, 出力時間5秒)で接合した大動脈血管それぞれを同じラットに背部皮下埋植を行う。

② 接合部治癒過程評価実験: 接合温度 100℃, 接合時間 30秒の条件でラット頸動脈血管をin vivoで接合を行い、血流を遮断する。4週間にわたる接合部の経過観察を行う。

4. 研究成果

(1) 機序説明

図3に空気中および水中で1分間加熱したときのコラーゲンのAFM画像を示す。空気中では加熱温度120°Cまで、水中では63°Cまで構造上高強度である縞模様のコラーゲン線維の存在を確認した。空気中、加熱温度63°C、80°C、120°Cのそれぞれの条件で、複数のコラーゲン線維の集合による帯状構造の形成を確認した。熱架橋形成が要因と考えられ、本接合技術の接合強度に寄与している可能性があることがわかった。図4に加熱後、圧力の有無によるSEM画像を示す。圧力を印加することでコラーゲン線維同士の融合を確認した。実際の生体組織接合環境は空気中と水中の中間にあるため、双方のコラーゲン変性が接合に寄与している可能性が示唆された。

(2) 接着技術の最適化

① 生体組織同士の接合技術最適化：専用のヒータ加熱部およびPWM加熱制御回路を開発し、把持部位の昇温時間の短縮、温度制御精度の向上を図った。また、接着加温時における伝熱シミュレーションを行い、最適な昇温制御方法の確立を行った。その結果、接合時間を20秒まで短縮できることを確認した。合わせて、リニアアンプを用いて低ノイズの加熱制御部の設計、評価も行い、良好な加熱制御を実現した。

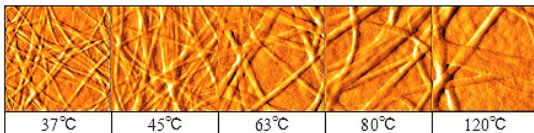
② 金属材料と生体組織の接合技術最適化：ダイヤモンドライクカーボン(DLC)の薄膜をプラズマCVD装置及びスパッタリング装置を

用いてコーティングする金属表面改質により、接着強度を制御することが可能であることを確認した。更に、金属表面粗さを粗くすることで接着強度を増加させることが可能であることを実験で確認した。

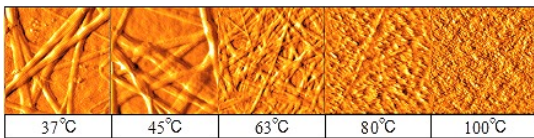
③ ヒータ表面の改質：生体組織とヒータの接合抑制を目的にフッ素40%添加したDLCをヒータ表面にコーティングし、ブタ大動脈血管を用いた接合実験を行った。フッ素添加DLCをヒータにコーティングすることで、生体組織がヒータに付着するまでの回数をコーティング前の1回から5回までに抑えられることを確認した。

④ 高分子材料と生体組織の接合技術最適化：高分子フィルムを用いた高分子-生体組織間の接着実験では極性基を有する高分子が生体組織と接着することを見出し、生体非接着性であるポリエチレン(PE)フィルムを高分子グラフトにて表面改質した。生体組織との接着実験では、カルボキシル基あるいはヒドロキシル基を有する高分子グラフトPEフィルムにて接着性が観察された。高分子材料に使用できる接着補助剤としてDLCを考え、DLCコーティングを血管に行った。走査型電子顕微鏡(SEM)の観察より、血管にDLCコーティングが出来ていることを確認した。DLCコーティング処理の血管と未処理の血管の接合実験より、DLCコーティングしても接合出来ることを確認した。また、DLCコーティングすることで生体組織損傷をより小さくできることが分かった。

⑤ ハンドピース型組織接合装置の開発：図5に開発した動物実験専用のハンドピース型組織装置を示す。ヒータはアルミニウム片にニクロム線を巻きつけて、ニクロム線に電流を流すことによって加熱する。加熱機構の周囲にセラミックウールとテフロンを取り付けることにより、加熱機構の熱の損失を抑え、接合対象以外へ熱の移動を防ぐ断熱機構を備える。ヒータの温度はヒータ側部に取り付けたK型熱電対により測定する。ヒータで組織を挟んでいるときの温度を接合温度と定義し、専用PWM加熱制御回路により温度制御を行う。小径血管組織接着時でも温度計測

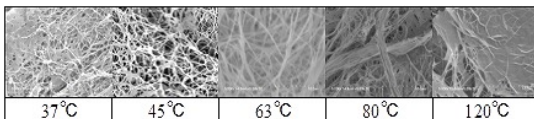


a) 空気中

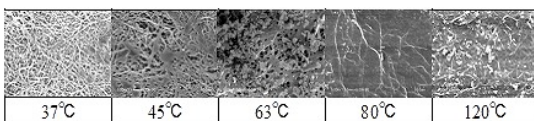


b) 水中

図3 水分量によるコラーゲン変性



a) 非加圧



b) 加圧時

図4 圧力の影響

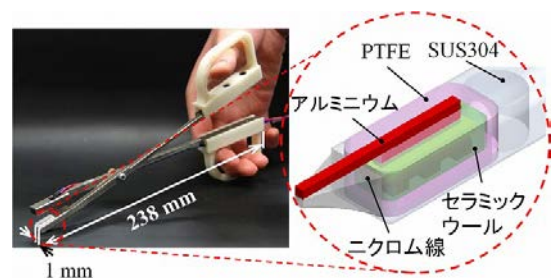
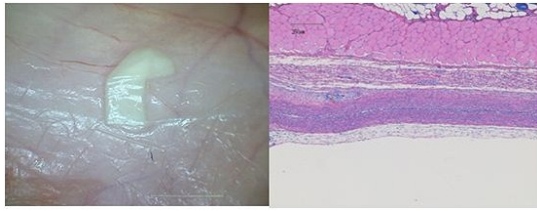
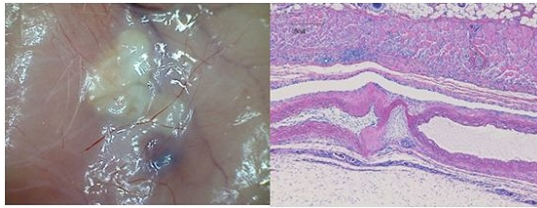


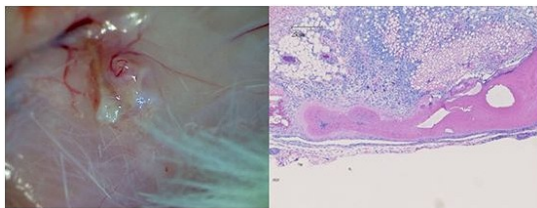
図5 ハンドピース型組織接合装置



a) 接合を行わない大動脈血管

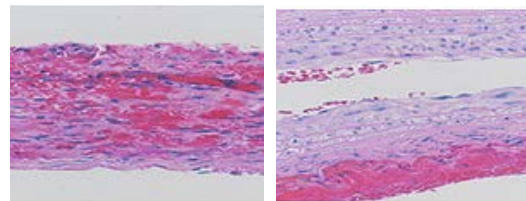


b) ハンドピース型組織接合装置



c) 超音波メス

図6 生体組織表面(左図), HE染色(右図)



a) 接合維持 b) 接合部開通

図7 治癒過程観察結果(接合後4週間目)

が可能なようにヒータ接触部に複数の温度センサを配置し, 専用の温度センサ判別プログラムを組み込むことで小径血管も対応可能にした. 動物実験の結果から, ヒータ脇に設置した血流遮断部はかえって血管内血液凝固を惹起することが判明したため, 最終的に血流遮断部を廃止して加熱部以外での組織損傷の少ない構造にした.

(3) 安全性の確認

①炎症反応評価実験: 図6に埋植から7日後の光学写真及びHE染色結果を示す. 本接合法では接合を行わない大動脈血管と比べて大きな違いは見られず, 炎症は見られなかった. 超音波メスを用いて接合を行った血管は肉眼観察でわかるほど血が広がり炎症を起こしていることから, 本接合法の生体への安全性を確認した.

②接合部治癒過程評価実験: 接合3日目で確認した接合頸動脈血管には他組織との癒

着, 炎症は見られなかった. 接合後1週間目では, 軽度の癒着は見られるものの, 炎症は見られなかった. また接合後4週間目でも血管接合が維持されていることを確かめた. 一方, 4週間後に開存してしまった例も確認したが, 接着時加熱に細胞が死滅した接合部位にも再度細胞の存在を認め, 本法で接合部の生体組織構造の良好な温存が可能であることを確認した. 以上の結果より接合デバイスの十分な安全性を確認した.

以上の研究を通じて, 新しい生体組織接合技術の確立が行えた. 本技術は生体由来物質を使わないために安全で, 接合後も良好な治癒過程をたどることが動物実験で確かめられた. 金属と生体組織を接合する技術は国内外でも例がなく, 我が国独自の新規な技術開発が行えた. 今後は補助人工心臓脱血管の心室への接合, エネルギー伝送ケーブルの皮膚貫通部封止による感染防止, 留置ステントや胃瘻の接合, 止血装置への応用など幅広い応用が期待される.

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9件)

- ① Ozeki K, Sekiba D, Suzuki T, Kanda K, Niibe M, Hirakuri K K, and Masuzawa T, Influence of the source gas ratio on the hydrogen and deuterium content of a-C:H and a-C:D films: Plasma-enhanced CVD with CH₄/H₂, CH₄/D₂, CD₄/H₂ and CD₄/D₂, Applied Surface Science, 査読有, 265巻, 2013年, 750-757.
- ② Aodai T, Masuzawa T, Ozeki K, Kishida A, and Higami T, Effect of metal surface characteristics on the adhesion performance of the integrated low-level energies method of adhesion, Journal of Artificial Organs, 査読有, 15巻 2012年, 386-394.
- ③ Kwangwoo Nam, Sakai Y, Hashimoto Y, Kimura T, Kishida A, Fabrication of a heterostructural fibrillated collagen matrix for the regeneration of soft tissue function, Soft Matter, 査読有, 8巻, 2012年, 472-480.
- ④ Ito Y, Kimura T, Kwangwoo Nam, Katoh A, Masuzawa T, Kishida A, Effects of vibration on differentiation of cultured PC12 cells, Biotechnology and Bioengineering, 査読有, 108(3)巻, 2011年, 592-599
- ⑤ Yamamoto K, Kimura T, Kwangwoo Nam, Funamoto S, Ito Y, Shiba K, Ayako Katoh, Shimizu S, Kurita K, Higami T, Masuzawa

- T, Kishida A, Synthetic polymer-tissue adhesion using an ultrasonic scalpel, Surgical Endoscopy, 査読有, 25 巻, 2011, 1270-1275
- ⑥ Negishi J, Funamoto S, Kimura T, Kwangwoo Nam, Higami T, Kishida A, Effect of treatment temperature on collagen structures of the decellularized carotid artery using high hydrostatic pressure, Journal of Artificial Organs, 査読有, 14(3), 2011, 223-231
- ⑦ Kwangwoo Nam, Sakai Y, Funamoto S, Kimura T, Kishida A, Engineering a Collagen Matrix that Replicates the Biological Properties of Native Extracellular Matrix, Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition, 査読有, 22 巻, 2011, 1963-1982
- ⑧ Ito Y, Kimura T, Ago Y, Kwangwoo Nam, Hiraku K, Miyazaki K, Masuzawa T, Kishida A, Nano-vibration effect on cell adhesion and its shape, Bio-Medical Materials and Engineering, 査読有, 21(3)巻, 2011, 149-158
- ⑨ Katoh A, Masuzawa T, Ozeki K, Kishida A, Kimura T, and Higami T, Development of tissue adhesion method using integrated low-level energies, Medical Engineering & Physics, 査読有, 32 巻, 2010 年, 304-311
- [学会発表] (計 57 件)
- ① 岩田拓也, 岸田晶夫, 表面グラフト改質高分子を用いた生体組織接着に関する研究, 第 22 回ライフサポート学会フロンティア講演会, 2013 年 3 月 2 日, 東京
- ② 丸岡寛明, 増澤徹, 複合低エネルギーを用いた組織接合法の in vivo 評価, 第 50 回人工臓器学会大会, 2012 年 11 月 22~24 日, 福岡
- ③ 尾関和秀, 増澤徹, メタン及びアルゴンガスによる高分子上への DLC 成膜と物性評価, 第 26 回ダイヤモンドシンポジウム, 2012 年 11 月 20 日東京
- ④ Matsushima R, Kishida A, Preparation of biological tissue-polymer complex for percutaneous device, TERMIS World Congress 2012, Vienna, Sep 5-8, 2012.
- ⑤ Kwangwoo Nam, Kishida A, Investigation of interaction between the polymer surface and collagen molecules during fibrillogenesis, 9th World Biomaterials Congress, Chengdu, Jun 1-5, 2012.
- ⑥ 原田亮, 樋上哲哉, 生体組織接着のための組織融着装置の開発と基礎的検討, 第 51 回日本生体医工学学会大会, 2012 年 5 月 11 日, 福岡
- ⑦ 丸岡寛明, 増澤徹, 複合低エネルギーを用いた鉗子型組織接合装置の開発, 第 51 回日本生体医工学学会大会, 2012 年 5 月 10 日, 福岡
- ⑧ 木村剛, 岸田晶夫, 微小振動下における細胞接着過程の検討, 生活生命支援医療福祉工学系学会連合大会 2011, 2011 年 11 月 3 日~11 月 5 日, 東京
- ⑨ 松嶋理恵, 岸田晶夫, 生体組織/高分子複合化による経皮デバイスの作製, 生活生命支援医療福祉工学系学会連合大会 2011, 2011 年 11 月 3 日~11 月 5 日, 東京
- ⑩ 丸岡寛明, 増澤徹, 複合低エネルギーによる鉗子型融着デバイスの温度制御技術, 生活生命支援医療福祉工学系学会連合大会 2011, 2011 年 11 月 3 日~11 月 5 日, 東京
- ⑪ Kwangwoo Nam, Kishida A, Development of percutaneous device based on nature tissue-polymer complex, The 3rd Asian Biomaterials Congress, 15-17 Sep., 2011, Busan Korea
- ⑫ 中村奈緒子, 岸田晶夫, 医療用高分子材料の表面特性と接着, 第 50 回日本生体医工学学会大会, 2011 年 4 月 29 日~5 月 1 日, 東京
- ⑬ 青代敏行, 増澤徹, 複合低エネルギーによる鉗子型組織接合装置の開発, 第 50 回日本生体医工学学会大会, 2011 年 4 月 29 日~5 月 1 日, 東京
- ⑭ 笠原康佑, 岸田晶夫, 微小振動を用いた小型組織融着装置の開発, 第 20 回ライフサポート学会フロンティア講演会, 2011 年 3 月 5 日, 東京電機大学 (東京)
- ⑮ 丸岡寛明, 増澤徹, 複合低エネルギーを用いた金属と生体組織の接合技術, 第 20 回ライフサポート学会フロンティア講演会, 2011 年 3 月 5 日, 東京電機大学 (東京)
- ⑯ 青代敏行, 増澤徹, 複合低エネルギーによる心筋組織接合技術の開発, 電気学会リニアドライブ研究会, 2010 年 11 月 20 日, 仙台国際センター (仙台)
- ⑰ 青代敏行, 増澤徹, 複合低エネルギーによる金属と生体組織接合技術の開発, 第 48 回日本人工臓器学会大会, 2010 年 11 月 18 日, 仙台国際センター (宮城)
- ⑱ 猪野学, 増澤徹, 低エネルギー生体融着デバイスの発熱機構の開発, 生活生命支援医療福祉工学系連合大会, 2010 年 9 月 18 日, 大阪大学 (大阪)
- ⑲ 笠原康佑, 岸田晶夫, 微小振動融着法を用いた高分子コーゲン間の接着, 生活生命支援医療福祉工学系連合大会, 2010 年 9 月 18 日, 大阪大学 (大阪)
- ⑳ 加藤綾子, 増澤徹, Adhesion technology

using integrated low level energies,
第 49 回日本生体医工学会大会, 2010 年 6
月 25 日, 大阪国際交流センター (大阪)

[図書] (計 2 件)

- ① 尾関和秀, はる書房, 人工臓器は, いま-暮らしのなかにある最先端医療の姿 (第 15 章人工歯根), 2012 年 447-465
- ② 田畑泰彦, シーエムシー出版, ものづくり技術からみる再生医療-細胞研究・創薬・治療-(第 7 章バイオマテリアルの生体適合性の評価), 2011 年 152-160

[産業財産権]

○出願状況 (計 5 件)

名称: 生体組織接着用柔軟性金属箔テープ及びその接着方法

発明者: 尾関和秀, 増澤徹, 岸田晶夫, 加藤綾子

権利者: 国立大学法人 茨城大学

種類: 特許

番号: 特願 2010-229738

出願年月日: 2010.10.12

国内外の別: 国内

名称: 組織自己接合型体内挿入管及び該体内挿入管との接合方法

発明者: 増澤徹, 青代敏行

権利者: 国立大学法人 茨城大学

種類: 特許

番号: 特願 2012-111902

出願年月日: 2012.08.03

国内外の別: 国内

名称: 生体組織と人工物の接着装置, ステン
ト

発明者: 増澤徹, 尾関和秀, 岸田晶夫, 加藤綾子

権利者: 国立大学法人 茨城大学, 国立大学法人 東京医科歯科大学

種類: 特許

番号: 特願 2011-510193

出願年月日: 2010.4.20

国内外の別: 国内

名称: 生体組織と人工物の接着装置, ステン
ト

発明者: 増澤徹, 尾関和秀, 岸田晶夫, 加藤綾子

権利者: 国立大学法人 茨城大学, 国立大学法人 東京医科歯科大学

種類: 特許

番号: PCT/JP2010/002828

出願年月日: 2010.4.20

国内外の別: 国外

名称: 生体組織接着装置

発明者: 岸田晶夫, 増澤徹

権利者: 国立大学法人 東京医科歯科大学,
国立大学法人 茨城大学

種類: 特許

番号: PCT/JP2010/059375

取得年月日: 2010.06.02

国内外の別: 国外

○取得状況 (計 1 件)

名称: 生体組織接着装置

発明者: 岸田晶夫, 増澤徹

権利者: 国立大学法人 東京医科歯科大学,
国立大学法人 茨城大学

種類: 特許

番号: 特許 5028607 号

取得年月日: 2012.07.06

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.mech.ibaraki.ac.jp/masuzawa-lab/h22kaken/kaken01.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

増澤 徹 (MASUZAWA TORU)

茨城大学・工学部・教授

研究者番号: 40199691

(2) 研究分担者

樋上 哲哉 (HIGAMI TETSUYA)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号: 60335429

岸田 晶夫 (KISHIDA AKIO)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究
所・教授

研究者番号: 60224929

(3) 連携研究者

尾関 和秀 (OZEKI KAZUHIDE)

茨城大学・工学部・准教授

研究者番号: 20366404

木村 剛 (KIMURA TSUYOSHI)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究
所・助教

研究者番号: 10393216

加藤 綾子 (KATOH AYAKO)

埼玉医科大学・保健医療学部・講師

研究者番号: 30318159

青代 敏行 (TOSHIYUKI AODAI)

松江工業高等専門学校・電子制御工学
科・助教

研究者番号: 40571849