

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：14101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659627

研究課題名(和文) 生体吸収性ステントを支持基盤とした新たな血管吻合法の開発

研究課題名(英文) Development of novel vascular anastomosis device with biodegradable stent

研究代表者

武藤 紹士 (Muto, Akihito)

三重大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30600829

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：高度な動脈硬化症を伴う用手的直接縫合が困難な血管病にも対応可能な血管吻合法として、生体吸収性補強素材と生体瞬間接着剤シアノアクリレートを利用した新しい血管吻合法の開発を本研究で進めてきた。原理的には血管内に生体吸収性ステントを内挿する事で内側から支え、周囲を外側から接着時で固めることで吻合を行なうものである。

実験台で行なったブタ頸動脈による実験では牽引強度及び水圧負荷耐圧試験において、従来の直接吻合法と同等以上の強度が確認された。一方でビーグル犬を用いた動物実験では術後1週間以内の急性ステント内血栓閉塞を回避できなかった。この問題を解決することで今後の臨床応用が期待できると考える。

研究成果の概要(英文)：In this study, we developed the novel technique of vascular anastomosis for severe atherosclerosis patient that had difficulty in manual direct vascular suture technique. We examined to use bioabsorbable reinforcement material and cyanoacrylate.

In ex vivo study with porcine carotid artery, we confirmed better strength of biodegradable stent and glue method compare to conventional direct vascular suture method in both of the mechanical extension test and the water burst pressure test. On the other hand, we could not avoid acute thrombotic occlusion in vivo study with canine model. We think that we can expect for future clinical application by solving this thrombosis problem.

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：血管外科学 生体材料

1. 研究開始当初の背景

昨今の動脈硬化性疾患の人口増加に比例して、外科手術時における血管吻合の必要性も増加している。従来の血管吻合法は非吸収性縫合糸を用いた手技的直接縫合法が中心である。しかしこの方法は手技時間がある程度必要であり、また吻合部や針穴からの出血コントロール、縫合手技に対する十分な術野の確保、術者の技術に成績が左右されやすい事など、改善すべき問題点も多い。また、高度の石灰化を伴う血管吻合については、時に運針が困難であり吻合不能となる事もある。このような点を改善する為に、近年では血管吻合に用いる新たなデバイスが散見されるようになったが、未だ上記の問題点をクリアするには至っていない。

2. 研究の目的

本研究では上記背景における問題点を打開する為に、生体吸収性素材血管内ステントと生体瞬間接着剤であるシアノアクリレートを用いた新たな大口径動脈に対する吻合法の開発を目的とする。接着剤を応用した類似法の報告がこれまでに散見されるが、その多くは小口径血管で、かつ低圧環境下における動物実験でのデータであり、大動脈や主要分枝に対する臨床応用には依然としてクリアすべき課題を多く残している。今回我々が着想した吻合法は、連携研究者であるYale UniversityのDr. Shin'okaらが開発した生体吸収性素材による血管内ステントを応用した新しい血管吻合部位の接着法である。この吸収性ステントを吻合部位に挿入して血管の内膜側から吻合部位を支え、その後外膜側からシアノアクリレートで接着して吻合部位を補強する事で、大動脈や主要分枝等、大口径かつ高圧環境下での血管吻合手技において、臨床使用に十分な強度の確保が期待できる。

3. 研究の方法

まず *Ex vivo* による生力学的な吻合部位の強度評価を行なうこととした。具体的には牽引強度と耐圧強度を測定し、コントロール群との比較をおこない同等以上の強度を確認する事を当初の目標とした。

これらの検討で妥当性を評価したうえで、引き続き動物実験モデルを作成し、中～長期での吻合部位の経過観察を試みた。各種画像診断法による形態学的評価に加え、免疫染色法による吻合部位の細胞成分解析を行なう予定であった。

(1) *Ex vivo* での血管吻合部位の強度解析

動物実験への準備段階として、力学的な安全性の確認を行なう為にブタの大動脈や頸動脈、大腿動脈を採取し、*ex vivo* で吸収ステント内挿下に接着剤を用いた端々吻合を行い、以下に述べる生力学的な評価を行なった。コントロールとしてモノフィラメントナイロン糸を用いて連続縫合を行なった従来の直接縫合法、及びシアノアクリレート単体で行なった直接接着吻合の評価も併せて比較検討した。

1 牽引強度測定

あらかじめ血管の両端をクランプして、内部を生理食塩水で満たした状態にして血管径の測定を行った。生理食塩水を抜いた後に血管を全長 10cm に調整し、中心部でメスを用いて離断して加圧状態の血管径と同径のステントを挿入した。血管の吻合面を合わせた後に、吻合部位でステントを広げ、外膜面の水分を軽く除去した後にシアノアクリレート(アロンアルファ A/第一三共)を用いて接着した。接着吻合した血管の両側端を 0 号絹糸で 3 重結紮し、この糸を支持として両側方向に牽引し、吻合個所の牽引強度を測定した。測定は三重大学工学部機械工学科の稲葉忠司教授の協力の元で、AG-G 20kN M2 (Shimazu) を用いて行なった。

2 バースト圧試験

研究 1 と同様に吻合を行った血管の片側を 0 号絹糸で 3 重結紮、対側は 4mm パルーンのついたダブルルーメンカテーテルを挿入してから 0 号絹糸を用いて結紮して内腔を密閉した。この血管に生理食塩水を満たしながらゆっくりと加圧していき、吻合部位の耐圧性について評価を行った。

(2) *In vivo* での血管吻合法の確立と病理学的形態の評価

ex vivo での強度確認実験に基づいて、実際に実験動物モデルを作成して検討を行なった。ビーグル成犬を全身麻酔下に腹部正中切開し、腹部大動脈を剥離、腎動脈起始部と総腸骨動脈分岐部の中間で大動脈を離断した。吸収性ステントは離断部位より直接的に挿入した。金属ステントによるコントロール群は右大腿動脈をカットダウンし、デリバリーカテーテルを用いて吻合部位に留置した。直接縫合によるコントロール群は 4-0 モノフィラメント糸を用いた連続縫合を行なった。

4. 研究成果

(1) *Ex vivo* 強度解析

まず *Ex vivo* で作成した直接縫合では作成上大きな問題は生じなかったが、直接接着法による血管吻合においては血管内腔への接

着剤流入に基づく内腔閉塞が多発したことにより、研究の信頼性に耐え得る事が出来ないと判断し、コントロールから除外した。

牽引強度測定では直接縫合群(Hand sewn: 以下 HS 群)においては $6.1 \pm 0.7N$ であった事に対して生体吸収性ステント(Biodegradable stent)+シアノアクリレート群(以下 BDS+Cy 群)では $9.3 \pm 1.3N$ と有意に良好な強度が確認された。一方でバースト圧試験では HS 群では $130.6 \pm 10.1mmHg$ までの水圧に耐え得たが、BDS+Cy 群では $80.0 \pm 22.3mmHg$ までの耐圧力しか確保出来なかった。非常に主観的な評価ではあるが、これらの結果は接着剤そのものの硬さに起因するものと考えられた。直接縫合では牽引による離断も加圧に対する破裂も、共に針穴から次第に時間をかけて破綻していく、時間をかけた縫合線破綻のパターンを示した。一方で接着剤による縫合線はある一定の破綻強度までくると突然弾けるように広域に渡って裂開してしまう現象が観察された。

(2) Ex vivo 実験結果に対する工夫

上記実験系における破綻パターンはよく観察していくと縫合線における接着剤固着ムラが大きい部位に発生しやすい事が判明した。そこでこの問題を解決するために、一方の接着断端を evert し、evert されて外側に向いた血管内膜にもう一方の断端を被せるようにして接着した Evert & overlap 法により接着した群を検討した(E&O 群)。この接着吻合群は耐圧試験において $279.5 \pm 62.2mmHg$ と劇的な改善効果を認め、十分な in vivo 実験への応用に向けた強度を確立し得た。一方でこの群においては牽引強度が非常に低く($1.5 \pm 0.1N$)、引き離される力がかかるような環境下での in vivo 応用には慎重な判断が求められる結果となってしまった。これは evert した部分がキャタピラーの様に滑ってしまうことが原因として考えられ、今後の接着法確立に向けて更なる工夫が必要であると考えられた。

(3) In vivo 実験における諸問題-特にステント内血栓形成に対して

上記結果に基づいてオス成犬ビーグルの腹部大動脈への in vivo 応用を行なった。本実験での手術操作や出血コントロールは非常に良好であり、ex vivo 実験で検討した Evert & Overlap 法に加えて補強の外膜縫合を数針加える事により牽引力に対しても有効な接着縫合を行なう事が可能であった。しかしながら全ての動物において術後 2-7 日以内にステント内急性血栓形成を生じ、全ての動物を両下肢急性虚血で失った。この変化を病理学的に検討すると、ステント自体の吸収が生じる前段階での血管内の新鮮血栓形成と外膜側に集まる炎症系細胞が確認された。

残念ながら検討期間内に行なった抗凝固剤や抗血小板剤の併用群においても有効な抗血栓性を確保するに至らず、検討期間が終了してしまった。

これらの結果から、血管吻合に対する生体吸収性ステント補強接着吻合法は物理学的には十分な強度を確立する事が可能であり、今後の応用に期待ができるものと考えられた。一方で抗血栓性の問題は今後の最も重要な解決課題であり、抗凝固剤や抗血小板剤の使用法について再度の検討を要するのみならず、生体吸収性素材やステント形成法の再検討が必要と思われた。

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

武藤 紹士 (Muto Akihito)
三重大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：30600829

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：