

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462789

研究課題名(和文)ポリビニルアルコールを用いた新しい乳房インプラント開発

研究課題名(英文)Breast implant development using polyvinyl alcohol

研究代表者

矢野 健二 (Yano, Kenji)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座教授

研究者番号：40174560

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではポリビニルアルコールのインプラントとしての耐久性、細胞毒性、生体親和性を解析した。加速劣化試験では、シリコン群とPVA群では圧縮強度に変化は認めなかったが、PVA群の一部において試験前後での重量の増大を認めた。細胞毒性試験では、シリコン群とPVA群に、明らかな有意差は認めなかった。また、両群で明らかな形態変化、細胞骨格の変化の違いは認めなかった。ラット皮下埋植試験では、PVAに関して形状がやや膨張し、重量が増えた群も一部あり、PVA群はコントロール群のシリコンブロックに比較して、マクロファージや多核巨細胞などの炎症細胞の集積を認めた。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the durability as the implant of polyvinyl alcohol, cytotoxicity, biocompatibility in this study. In the acceleration deterioration examination, we did not recognize the change in compressive strength in silicon group and the PVA group, but recognized increase of the weight in before and after examination in a part of the PVA group. In the cytotoxic examination, we did not recognize the significant difference that was apparent to silicon group and the PVA group. In addition, the clear form change, the difference of the cytoskeletal change did not admit in both groups. In the rat subcutaneous implantation test, a shape expanded about PVA slightly, and there was the group where weight increased partly, and the PVA group recognized the accumulation of the inflammation cells such as a macrophage or the many nuclei giant cell in comparison with a silicon block of the control group.

研究分野：乳房再建

キーワード：ポリビニルアルコール インプラント

1. 研究開始当初の背景

わが国における乳癌の増加は現在もどまるところを知らず、すでに女性の癌の第一位となっており、厚生労働省人口動態統計によると、1950年から1995年までの45年間に乳癌による死亡数は5.47倍に増加している。しかし一方で、術前化学療法やセンチネルリンパ節生検の普及、手術法の縮小化が進み、これまでの非定型的乳房切除術から、皮下乳腺全摘術や乳房温存術が増加しつつある。これに伴い乳房再建術も変遷しつつあり、現在は自家組織移植やシリコンインプラントなどが用いられているが、乳房切除範囲が小さい症例では、シリコンインプラントでは整容的に満足のいく乳房再建は困難なことも多い。

シリコンインプラントは、1964年 Croninらがシリコンジェルインプラントを開発し、臨床応用したのが始まりである (Cronin et al. 1964)。以降、インプラントの破損、被膜拘縮の発生率を改善するべく多くの研究、工夫がなされ、現在は第五世代のものが使用されている (Maxwell et al. 2009)。しかし、わが国で現在用いられているシリコンインプラントは輸入品・既製品であるため、乳癌切除後の乳房再建として用いるとき、健側乳房が極端に小さいものや、日本人中年女性に多い“幅が広くて厚みがうすい”乳房形態に合致したものは見つかりにくい。また、乳癌の好発年齢から考えても乳房再建患者は中高年が多く、健側の乳房が下垂していることもしばしばであるが、シリコンインプラントで再建した乳房は丸みをおびており、加齢とともに変化しにくいいため、年齢と不均衡な乳房の形態、健側乳房との左右差が問題となり、整容性が損なわれることもしばしばである。申請者はこれまで、多くの乳癌術後の乳房再建症例を経験してきた。そして乳癌術後の乳房再建術を受けた患者の整容性やQOLの向上を目指して、乳房再建手技の標準化を目的とした研究を行ってきた。そうした中で、わが国の女性の乳房に合致するような新しい乳房インプラントの研究・開発の必要性を強く感じてきた。そこで、我々は安全性と生体親和性に優れたポリビニルアルコール(以下PVA)に注目した。PVAはシリコンと比較し、より軟らかく、分離分割が自由に行うことができ、形状を自在に作成できる利点がある。以上から、PVAを材料とした新規乳房インプラントの開発に向けての第一歩として、PVAのインプラントとしての耐久性、細胞毒性、生体親和性などを明らかにするための本研究を計画した。

2. 研究の目的

乳癌の増加に伴い、乳癌術後の乳房再建において、シリコンインプラントを用いる治療が増えてきている。しかし、乳癌における治療法・医療技術の発達により乳房切除範囲は縮小してきており、シリコンインプラントで

は整容的に満足のいく乳房再建は困難なことも多い。さらには、シリコンは輸入品、既製品であるため、わが国の女性の乳房形態に合うものは少ない。したがって、新しい基材の乳房インプラントの研究・開発が必要である。本研究は安全性と生体親和性に優れたポリビニルアルコールを基材とした新規の乳房インプラントを開発するための研究である。将来的に臨床試験・臨床応用に展開するために、ポリビニルアルコールのインプラントとしての耐久性、細胞毒性、生体親和性を解析することを目的とする。

3. 研究の方法

PVAのインプラントとしての耐久性、細胞毒性、生体親和性を三段階に分けて評価する。

(1) *in vitro* での加速劣化試験により圧縮強度・重量平均分子量を測定することで耐久性(劣化の程度)を確認する。

(2) ヒト由来線維芽細胞、ヒト由来脂肪細胞を用いて *in vitro* での細胞毒性試験を行う。これにより、PVAが周囲の細胞の増殖や形態に与える影響を解析する。

(3) ラット皮下埋植試験を行う。この埋植試験では、インプラントの耐久性、形状、表面の破損の評価を行うとともに、埋植したインプラント周囲組織を染色し、炎症細胞の集積・癒痕形成の程度を解析し、生体親和性を評価する。

加速劣化試験

劣化試験溶液は医療機器の生物学的安全性評価の国際基準であるISO 10993のpart13に規定された試験方法を参考にする。脂肪乳剤をヒト血漿脂質濃度となるように調製し浸漬温度 37 ± 1 の溶液に、浸漬させ、その後、検体を水で洗浄し、室温にて24時間以上放置した後、圧縮強度測定、重量平均分子量測定を行い、浸漬前後で比較する。これにより、PVAの劣化の程度を分析する。圧縮強度測定はインストロン社製エレクトロダイナミック試験システムを用いて測定する。負荷速度 1.0 mm/min として 1 kN まで圧縮荷重を加えて測定する。また、重量平均分子量測定は高速液体クロマトグラフィー(島津製作所製 LC-2010HT)を用いて重量平均分子量を測定する。

細胞毒性試験

ヒト由来線維芽細胞をdish上で培養し、PVAを中央部に留置する。生体内を模擬した溶液としてイーグルMEM細胞培養液、PBS(-)、子牛血清、0.9%NaCl、1%乳酸、システイン水溶液を用いる。その後、3、7日後に細胞数をコントロール(プラスチック)群と比較するとともに、細胞増殖試験(MTTアッセイ)を行う。また、細胞の形態変化を顕微鏡で観

察するとともに免疫組織化学染色（細胞骨格タンパク；アクチン）を行い、細胞骨格の変化を観察する。これにより、PVA が周囲細胞の増殖や形態に与える影響を解析する。

ラット皮下埋植試験

皮下埋植試験では、インプラントの耐久性、形状、表面の破損の評価を行うとともに、埋植したインプラント周囲組織を染色し、炎症細胞の集積・癒痕形成の程度を評価する。6W 齢ラット（日本チャールズリバー 系統 Crj:CD(SD)IGS）の背部皮下に PVA（コントロールはシリコンブロック）を埋入し、3、6、12 か月後に埋植した検体を取り出す。摘出した試料を 0.5 g/L のコラゲナーゼ/リン酸塩緩衝液 50ml で処理した後、RO 水（逆浸透水）を用いて攪拌洗浄（6 時間以上ごとに RO 水を交換し、計 3 回洗浄）室温で 1 日以上放置して以下を測定する。インプラント埋植前後で 1)～3)を比較することにより、破損、漏出、吸収の有無、耐久性を評価する。また、インプラント周囲組織の免疫組織化学的検査については、埋植したインプラント周囲の組織をホルマリン固定し、H.E.染色や免疫組織化学染色にてマクロファージや多核巨細胞などの炎症細胞の集積、癒痕形成の程度を評価する。

4. 研究成果

加速劣化試験

次の 3 つのグループに分けて実験を行った。

- 1 群：シリコン
- 2 群：ポリビニルアルコール
- 3 群：ポリビニルアルコールを封入したシリコン

脂肪乳剤をヒト血漿脂質濃度となるように調製し浸漬温度 37 ± 1 の溶液に、1～3 群を浸漬させ、その後、検体を水で洗浄し、室温にて 24 時間以上放置した後、圧縮強度測定、重量平均分子量測定を行い、浸漬前後で比較した。これにより、ポリビニルアルコールの劣化の程度を分析した。

圧縮強度測定についてであるが、1～3 群とも劣化試験前後での変化は認めなかった。

次に重量測定であるが、1 群では試験前後での重量の変化は認めなかったものの、2 群、3 群の一部において試験前後での重量の増大を認めた。

細胞毒性試験

ヒト由来線維芽細胞を dish 上で培養し、インプラントを中央部に留置する。生体内を模擬した溶液としてイーグル MEM 細胞培養液、PBS(-)、子牛血清、0.9%NaCl、1%乳酸、システイン水溶液を用いた。7 日後に細胞数をコントロール群と比較するとともに、細胞増殖試験（MTT アッセイ）を行った。

シリコン群と比較して、ポリビニルアルコール群では 7 日後の生存細胞数において減少する傾向がみられたが、明らかな有意差は認

めなかった。また、免疫組織学化学染色では両群で明らかな形態変化、細胞骨格の変化の違いは認めなかった。

ラット皮下埋植試験

ラットの背部皮下に PVA（コントロールはシリコンブロック）を埋入し、3 ヶ月後に埋植した検体を取り出した。摘出した試料を 0.5 g/L のコラゲナーゼ/リン酸塩緩衝液 50ml で処理した後、RO 水（逆浸透水）を用いて攪拌洗浄（6 時間以上ごとに RO 水を交換し、計 3 回洗浄）室温で 1 日以上放置して、インプラントの形状・重量を比較した。シリコンブロックに関しては埋植した前後において、形状、重量の変化は見られなかった。しかしながら、インプラント周囲に被膜形成が認められた。

一方、PVA に関して、埋植した前後において形状がやや膨張し、重量が増えた群もあれば、変化がほとんど認められなかった群も存在し、少しばらつきが認められた。さらには、コントロール群のシリコンブロックと同様に、インプラント周囲に被膜形成が認められた。

次に埋植したインプラント周囲の組織をホルマリン固定し、H.E.染色や免疫組織化学染色（コラーゲン 型）を行った。PVA 群はコントロール群のシリコンブロックと比較して、マクロファージや多核巨細胞などの炎症細胞の集積を認めた。また、コラーゲンの集積、被膜形成に関しては PVA 群においてコントロール群と比して、軽度であった。

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〕なし
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢野 健二 (KENJI YANO)
大阪大学医学系研究科・寄付講座教授
研究者番号：40174560

(2) 研究分担者

金澤 成行 (SHIGEYUKI KANAZAWA)
大阪大学医学系研究科・形成外科・招聘教員
研究者番号：50506243
富田 興一 (KOICHI TOMITA)
大阪大学医学系研究科・形成外科・助教
研究者番号：90423178

(3) 連携研究者 なし
()

研究者番号：

(4) 研究協力者 なし
()