

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670619

研究課題名(和文) 生体分解性径カテーテル的ASD閉鎖デバイスの開発

研究課題名(英文) Fundamental research for Biodegradable ASD closure system

研究代表者

黒部 裕嗣 (KUROBE, Hirotsugu)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・助教

研究者番号：30380083

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：生体分解性素材を使用して次世代のASD閉鎖孔デバイスを実用開発ができないか、基礎的な検討を行った。

生体分解性ポリマー(PLA、PGA)を用いて、デバイスの試作と分解速度測定をin vitro環境下にて行った。2ヶ月時に最大酸性化を認めたと、人体に影響を及ぼすものではなかった。次に、豚を用いたデバイスの機能性評価として、右房壁にデバイスを移植し、2と4ヶ月後に犠牲死させた。術後急性期合併症は認めず、2ヶ月後では骨格となるポリマーは遺残するものの、デバイス内への良好な細胞浸潤と表層内皮化を観察した。4ヶ月後には、さらに密な組織再生を観察することが出来た。また分解物による塞栓所見も認めなかった。

研究成果の概要(英文)：Biodegradable device for ASD closure was made by using the biodegradable materials (PLA and PGA). After then, we assessed these devices in vitro and in vivo environments to clarify the it's safety of devices and materials after implantation.

In results, we clarified these devices are safe. More experiments will be done more for assessment in future.

研究分野：医歯薬学

キーワード：組織工学 生体分解性素材 加水分解 心臓手術 先天性心疾患

1. 研究開始当初の背景

心房中隔欠損症は現在最も頻度の多い小児先天性心疾患の一つである。我が国では報告されている 2011 年に施行された先天性心疾患手術症例 9,858 例中 1,363 例が ASD 関連とされている (Gen Thorac Cardiovasc Surg, 2013)。

近年、低侵襲手術かつ美容的観点から、経カテーテル的心房中隔欠損孔閉鎖術用のデバイスが複数の医療機器メーカーより供給され、施行されるようになった。米国では年間 6,000-10,000 例近くが実際に施行されているとされ、我が国でも現在、様々な Limitations が設けられているため、施行できる施設数は限られているものの、今後本治療を用いた施行件数は、その治療メリットから確実に増加すると考えられる。

本デバイスは骨格が金属、その中に両房室間シャントを遮断する PTFE が詰め込まれた非分解性の素材から構成されており、生涯にわたり体内(房室間孔)に残存する。また本手術対象の多くは、小児や若年成人であり、これらデバイスが生涯にわたり体内に残存し続けることで引き起こす可能性のある予後や安全性、心臓形態に与える影響に関しては、今なお未知な点が多い。

他方、報告されている成人手術数の内、年間 9,000-10,000 例の僧帽弁関連手術が我が国で施行されており、多くが右側左房アプローチと経中隔アプローチによる手術方法が選択されているものと思われる。前述の ASD デバイス埋め込み患者における僧帽弁関連手術及びそれを必要とする患者数は、現時点では数が少ないものの、今後の施行患者数の増加と施行後患者の高齢化に連れ、増加するものと思われる。

しかし、非吸収性の素材からなる本デバイス移植患者では、デバイスによる Dimension の変化や解剖学的な変化、また中隔壁切開の困難性が指摘されており (J Card Surg. 2009 Nov-Dec;24(6):672-4、J Card Surg. 2009 Nov-Dec;24(6):672-4。)、まさに”外科医泣かせ”の患者になる可能性が高く、強いては手術手技の困難性により手術リスク増加し患者デメリットにもつながる可能性がある。

我々は生体吸収性素材を用いた人工血管の臨床応用・実用化に向けた研究を進めており、すでに 2013 年 8 月まで留学していたオハイオ州立大学 (新岡俊治教授) で、小児先天性心疾患に対する低圧系グラフト (Fontan 手術時の TCPC グラフト) において、生体吸収性の PGA+PCLA ポリマーに骨髓単核球細胞を seeding した人工血管で臨床試験を開始している。

今回、我々がすでに実用化している生体吸収性素材とグラフトの技術を応用することで、

ASD 孔を生体分解性素材デバイスを用いてカテーテル的に閉鎖できる

将来的には自己組織で置換されるため、将来的に心臓手術時にも影響を与えない

上記 2 点の要件を満たす理想的なデバイスを、短期間で開発・臨床応用できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

2 年間で生体内分解性径カテーテル的 ASD 孔閉鎖デバイスの効率的かつ安全性の高い開発を目指し、主に動物実験に主眼を置いた実験を行う。

まずデバイス自体の開発に関しては、これまでオハイオ州立大学新岡教授と養ってきた生体分解性素材の一長一短に関して再度検討した。

まずデバイス骨格を設計作成する。

その後、実際に両房間の血流の行き来を遮断する充填物素材と形状の検討を行う。

ついで大動物実験を実際に行い、経過観察後に犠牲死させ、組織評価・脳梗塞やその他合併症評価を行い、その安全性と機能性、細胞置換性を観察する。

加えて、並行して現在手技の安全性を追求するうえで、求められる個々の患者に最適なデバイスを提供するために 3D プリンターを用いたオーダーメイドデバイスの可能性についても基礎的な検討を行った。

3. 研究の方法

生体分解性ポリマーとしては、PLA と PGA を用いた。

これら生体分解性素材を用いて、デバイスの試作を行い、まず In Vitro での実験を行った。具体的には、分解速度測定や、強度実験、またガス滅菌を施行した際の残留濃度について検査し、体内に埋め込んでも問題の無いことを、in vitro 環境下で確認実験を施行した。

また小頭数での大動物実験を施行し、術後 sacrifice を施行し、組織浸潤の程度、生体分解性素材溶解度、脳梗塞や肺梗塞など有害合併症の有無等について、in vivo 環境下での Preliminary な評価を行った。

4. 研究成果

In vitro 実験と in vivo 実験結果を下記に示した

(1) In vitro 実験

(デバイスの検討)

デバイスの検討として、医療実績等を勘案し、ポリ乳酸-ε-カプロラクトン共重合体からなる縫合糸 (P(LA/CL)糸) と、ポリグリコール酸不織布 (PGA 不織布) 及びニッケル-チタン合金バネ (Ni-Ti バネ) からなるデバイスで試作を行うこととした。

これらは、すべて医療実績のある素材である。

P(LA/CL)糸と PGA 不織布については、カ

テーテルへの収納が容易に行える線径、厚み等を考慮し、仕様を決定し試作した。



(加水分解試験)

デバイスの安全性評価の1つとして、加水分解試験によるpH測定、強度試験、分子量測定、重量測定試験

を48週まで行った。

その結果、分解に伴うpHの変動を調べた結果、PGAの分解に伴い6週でpHの低下が見られたが、それ以降は48週(約1年)まで顕著な低下は見られなかった。

次に、分解に伴う重量減少を調べた結果、48週で50%程度まで重量減少が確認された。In vitroの実験のため、分解はされるが、マクロファージの貪食等が無いと、重量が0%となることは無いと考えられ、48週で測定を終了とした。

次に、P(LA/CL)系の強力保持率を調べた結果、16週で強力が0となった。2ヶ月以内に内膜が形成されることより、強力が16週で0となっても問題ないとする。

最後に、P(LA/CL)の分解に伴う分子量低下について調べた結果、36週で測定不可能となった。

これらの結果より、本デバイスの吸収分解期間は約1年程度であり、その間にpHの低下等による患者様への影響はないとする。

(残留EOガス、エンドトキシン試験)

本デバイスは、体内埋入デバイスであるため、滅菌が必要不可欠である。

滅菌方法として、エチレンオキシドガスを用いた滅菌、線を用いた滅菌等各種方法があるが、線を用いた滅菌では、デバイスを構成する生体分解性素材の強度を弱めてしまう可能性が懸念されるため、EOガスによる滅菌の条件検討を行った。

EOガスで滅菌を行った後、EOガスを除去する行程が必要なため、EOGガスを用いた滅菌・脱ガス後の、残留ガス濃度、及びエンドトキシン濃度の測定を各6ロット行った。

結果の一部を右に示す。結果として、エチレンオキシドガス、エンドトキシンともに検出限界以下であった。

これより、今回検討した滅菌・脱ガス方法は、本デバイスの滅菌に有効であると考えら

れる。

(製品化に向けた操作性の確認)

カテーテル操作性等に関しては、動物愛護の観点から、人体血管・ASD欠損孔モデルを作製し、まず本モデルを用いてデリバリー方法の検討とサイズ確認を行った。

その結果を用いてまず、問題点を把握して、デバイスの改良を行った。その後、大動物を使った実験をする方針とした。

その結果、2種類のモデルを用いて操作性の確認、及びサイズ確認を行ったが、現在開発中のデバイスのサイズ、及び構造でも、問題なく操作できることが確認された。

(3Dプリンターを活用したオーダーメイドデバイスの開発)

患者個人に合わせたデバイスの開発が必要であるため、オーダーメイド可能なデバイスの試作方法の検討を行い、オーダーメイドデバイスの作製を目標に、3Dプリンターでマスターモデルを作製し、最適形状の検討を行った。

最適形状を確定した後、3Dプリンターを用い、最適形状の型の作製を行った。

次に、3Dプリンターで作製した鋳型を用い、デバイス作製のシリコン型の作製を行った。作製したシリコン型を用い、デバイスの試作に成功した。

これより、3Dプリンターを用いることで、最適形状の検討、及び型の作製が自在に行え、簡便にオーダーメイドデバイスを作製できるところに至った。

(2) In vivo 実験

(予備的大動物実験)

大動物(豚)を用いて、デバイスの機能性評価を施行した。

今回、予算的に人工心肺を使用した心房中隔壁への移植は困難と考え断念し、開胸下に右房壁に穴をあけ、開発デバイスを心房壁内側と外側にまたがるように移植した。



実際経カテーテルでは透視環境下での操作を行うために、透視下での視認性に優れたニッケル-チタン合金を長軸方向のマーカーに軸として使用し、また傘周辺部にも不透視マーカーを接着し、傘展開が行われているかどうか透視環境で確認出来るようにさせた。その視認性に関しても、本動物実験時に、移動型透視装置(Cアーム)を用いて確認を行

い、十分に実用に耐えられるかどうか評価した。

本豚実験では、2週間ごとに血液検査を施行し血液検査的な異常所見の有無の評価と、移動型透視装置（Cアーム）を用いた透視下でのデバイス状況確認（デバイスの遊走等ないか、など）を行った。

結果として移植後デバイスの遊走などの合併症は確認されなかった。

移植された豚は、埋植後1ヶ月後と3ヶ月後に犠牲死させて、組織的な評価を施行した。

デバイス埋植後1ヶ月目には、P(LA/CL)ファイバーの残存を肉眼的に見られるものの、PGA不織布はほぼ消失しており順調に分解されていることが裏付けられた。また、P(LA/CL)ファイバー間には良好な自己組織浸潤が起きていることが、肉眼的に確認できた。

また本デバイスで最も懸念される分解物による塞栓に関しても評価を行った。今回右心系を用いた実験だったため、血栓による肺梗塞所見がないか組織学的評価を行ったが、それを疑う所見は認めなかった。

一方で、ポリマーだけのデバイスでは圧着力に脆弱性が残ることが、今回の実験で明らかになった。

以上の点から、PLA/PCL

今後、この点に関して解決を目指し、生体分解性 ASD 閉鎖孔デバイスの実用化に目処を付けたい。

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）

Kawatani Y, Nakamura Y, Hayashi Y, Taneichi T, Ito Y, Kurobe H, Suda Y, Hori T, A Case Report on the Successful Treatment of Streptococcus pneumoniae-Induced Infectious Abdominal Aortic Aneurysm Initially Presenting with Meningitis, Case Rep Surg, 査読有、2015:825069. doi: 10.1155/2015/825069.

Kinoshita H, Fujimoto E, Arase H, Kurobe H, Chikugo F, Sogabe H, Kitaichi T, Kitagawa T, Efficacy and Optimal Timing of Endovascular Treatment for Type B Aortic Dissection, Ann Vasc Dis, 査読有、2015、8(4)、307-313. doi: 10.3400/avd.oa.15-00069.

Motoki T, Kurobe H, Hirata Y, Nakayama T, Kinoshita H, Rocco KA, Sogabe H, Hori T, Sata M, Kitagawa T, PPAR-agonist attenuates inflammation in aortic aneurysm patients, Gen Thorac Cardiovasc Surg, 査読有、2015 Oct、

63(10)、565-571. doi:

10.1007/s11748-015-0576-1.

Tara S, Kurobe H, de Dios Ruiz Rosado J, Best CA, Shoji T, Mahler N, Yi T, Lee YU, Sugiura T, Hibino N, Partida-Sanchez S, Breuer CK, Shinoka T, Cilostazol, Not Aspirin, Prevents Stenosis of Bioresorbable Vascular Grafts in a Venous Model, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 査読有、2015 Sep、35(9)、2003-2010. doi:

10.1161/ATVBAHA.115.306027. Epub 2015 Jul 16.

Kurobe H, Maxfield MW, Tara S, Rocco KA, Bagi PS, Yi T, Udelman B, Zhuang ZW, Cleary M, Iwakiri Y, Breuer CK, Shinoka T, Development of small diameter nanofiber tissue engineered arterial grafts, PLoS One, 査読有、2015 Apr 1、10(4)、e0120328. doi: 10.1371/journal.pone.0120328. eCollection 2015.

Yohei Kawatani, Yujiro Hayashi, Yujiro Ito, Hirotsugu Kurobe, Yoshitsugu Nakamura, Yuji Suda, and Takaki Hori, Case Report; A Case of Ruptured Aortic Arch Aneurysm Successfully Treated by Thoracic Endovascular Aneurysm Repair with Chimney Graft, Case Reports in Surgery, 査読有、2015:780147. doi:

10.1155/2015/780147. Epub 2015 Feb 28
Duncan DR, Chen PY, Patterson JT, Lee YU, Hibino N, Cleary M, Naito Y, Yi T, Gilliland T, Kurobe H, Church SN, Shinoka T, Fahmy TM, Simons M, Breuer CK, TGF R1 inhibition blocks the formation of stenosis in tissue-engineered vascular grafts, J Am Coll Cardiol, 査読有、2015 Feb 10、65(5)、512-514. doi: 10.1016/j.jacc.2014.08.057.

〔学会発表〕（計13件）

黒部裕嗣、杉浦唯久、宮地秀樹、坂元悠紀、佐藤秀樹、木下 肇、西雄千佳、島本偉志、北川哲也、鈴木昌和、新岡俊治、生体分解性素材を用いたデバイスの開発の可能性、第46日本心臓血管外科学会学術総会、2016年2月16日、名古屋国際会議場（愛知県・名古屋市）
藤本鋭貴、筑後文雄、荒瀬裕己、木下 肇、黒部裕嗣、割石精一郎、加納正志、北市隆、北川哲也、腹部大動脈瘤破裂症例に対するステンドグラフト治療の成績、第15回血管外科アカデミー、2015年9月5日、にぎたつ会館（愛媛県・松山市）
木下 肇、荒瀬裕己、黒部裕嗣、藤本鋭貴、北市隆、北川哲也、広範囲胸部大動脈瘤・解離性大動脈瘤に対するステン

トグラフトを用いた2期的Hybrid治療の有効性、日本血管外科学会中国四国地方会 第46回総会、2015年8月1日、コンフォートホテル高知駅前(高知県・高知市)

北市 隆, 木下 肇, 黒部裕嗣, 神原 保, 藤本鋭貴, 川人伸次, 阪田美穂, 早淵康信, 北川哲也、小児開心術後反回神経麻痺における発生因子の検討、第51回日本小児循環器学会総会、2015年7月16日 - 18日、ホテル日航東京(東京都・港区)

木下 肇, 黒部裕嗣, 神原 保, 藤本鋭貴, 北市 隆, 北川哲也、当科における一次性下肢静脈瘤に対する下肢静脈瘤血管内レーザー治療の経験、第35回日本静脈学会総会、2015年7月10日 - 11日、奈良春日野国際フォーラム(奈良県・奈良市)

木下 肇, 黒部裕嗣, 神原 保, 藤本鋭貴, 北市 隆, 北川哲也、左室自由壁破裂修復術後に生じた左室仮性心室瘤に対する1手術例、第58回関西胸部外科学会学術集会、2015年6月12日 - 13日、岡山コンベンションセンター(岡山県・岡山市)

木下 肇, 藤本鋭貴, 菅野幹雄, 黒部裕嗣, 神原 保, 割石精一郎, 加納正志, 筑後文雄, 北市 隆, 北川哲也、Stanford B型大動脈解離に対するステントグラフト内挿術の有効性、第43回日本血管外科学会学術総会、2015年6月3日 - 5日、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

藤本鋭貴, 木下 肇, 菅野幹雄, 黒部裕嗣, 神原 保, 割石精一郎, 加納正志, 北市 隆, 筑後文雄, 北川哲也、EVAR術後の中枢側ネック径の変化は瘤縮小の規定因子であるか?、第43回日本血管外科学会学術総会、2015年6月3日 - 5日、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

木下 肇, 藤本鋭貴, 菅野幹雄, 黒部裕嗣, 神原 保, 割石精一郎, 加納正志, 筑後文雄, 北市 隆, 北川哲也、破裂性腹部大動脈瘤に対する緊急ステントグラフト内挿術の検討、第43回日本血管外科学会学術総会、2015年6月3日 - 5日、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

Hirotsugu Kurobe, Mikio Sugano, Hajime Kinoshita, Mark W. Maxfield, Yohei Kawatani, Takashi Kitaichi, Tetsuya Kitagawa、Partial AVSD in an adult with angina symptom; case report、ASCVTs '15、2015年5月11日 - 14日(香港・中国)

(2) 研究分担者

平田 陽一郎 (HIRATA, Yoichirou)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 40447397

北川 哲也 (KITAGAWA, Tetsuya)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授
研究者番号: 80240886

木下 肇 (KINOSHITA, Hajime)
徳島大学・病院・特任助教
研究者番号: 80611227

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒部 裕嗣 (KUROBE, Hirotsugu)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・助教
研究者番号: 30380083