

課題番号 65

生体内環境におけるアルミナ薄膜の血液適合性と 生体融合性に関する研究

[1] 組織

代表者：大越 康晴

(東京電機大学理工学部)

対応者：山家 智之

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

白石 泰之 (東北大学加齢医学研究所)

三浦 英和 (東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 12 万 5 千円，旅費 2 万 5 千円

[2] 研究経過

セラミックス材料は、安定した生体内不活性を有することから、これまでも骨格系人工臓器（人工関節，人工骨，人工歯根）や骨接合用材料などの生体内埋入材料として利用されている。中でもアルミナ（ Al_2O_3 ）は、関節や骨，歯といった硬組織を置換する生体材料として発展を遂げてきた。更に，セラミックスのコーティング技術も進み，スパッタリング法により形成されたアルミナ薄膜は，良好な抗血栓性が見込まれることが報告されている。しかし，従来のコーティング技術では，複雑な立体構造物や低融点高分子素材への成膜は不可能である。本研究では，被膜対象物の材質や形状を選ばない成膜技術として原子層堆積（ALD: Atomic Layer Deposition）法により作製したアルミナ薄膜について，生体内環境における血液適合性と生体融合性について検討した。

以下に，研究活動状況の概要を記す。本共同研究は，加齢医学研究所および東京電機大学施設にて実施された。生体内環境におけるアルミナ薄膜の血液適合性と生体融合性に関する検討を行うに当たり，アルミナ被膜対象を，細胞足場材となる繊維状のセグメント化ポリウレタン（SPU: Segmented Polyurethane）シート（以下，Scaffold と記す。）とした。東京電機大学施設では，Scaffold シートの作製および，アルミナ被膜の物性評価を中心に検討し，東北大学では動物実験の実施と管理，病理組織

評価を担当した。なお，本研究で使用したアルミナ被膜は，株式会社アルバックより提供を受けた。

研究を推進するに当たり，Cloud サービスを活用しながらデータを共有し，実験結果を基に，打ち合わせを実施した。特に動物実験に関しては，実施前の打ち合わせの中で，埋め込み試験用のサンプル形状や，埋め込み部位などを決定した。平成 27 年 4 月に，成ヤギ（日本ザーネン種，雌）を用い，1 ヶ月間の慢性動物実験を実施した。留置した試料を摘出した後，各種試料表面について，病理組織評価を行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

ALD 法を用いてアルミナ被膜を施した Scaffold シート（厚み：300~500 μm ）について，*in-vivo* 試験による生体防御性の検討を行った。山羊の下行大動脈部に約 1 ヶ月間留置し，慢性動物実験を実施した。試料摘出後，アルミナ被膜を施した血液接触面について，生体融合性の指標として，血栓形成の様子，内膜化の様子，および試料と生体組織の接合部の炎症反応を，病理組織評価（染色法：HE 染色，Elastica-Masson 染色，CD31，Vimentin，SMA 免疫染色）の観点から検討した。

まず，アルミナ被膜の有無について，Scaffold シート表面に対する内膜化の進行状況について述べる。これまでの検討から，Scaffold シートが留置された部位では，(a) 血栓が付着，(b) 血栓の表面を内皮細胞が被覆する（内皮化），(c) 内皮細胞と Scaffold シート表面の間で，内膜細胞或いは筋内膜細胞と膠原線維が増殖し内膜が肥厚する（内膜硬化），(d) 内膜と外膜側（大動脈外側）から間葉系細胞が Scaffold シート内部に進入する，という一連の過程が進むことが明らかになっている。これは，内皮細胞および内膜細胞も，血液中から供給されるものではなく，Scaffold シートに接した周囲の大動脈組織の内皮細胞と内膜細胞が，Scaffold シート表面に連続的に進展するものと考えられる。今回の実験において，Scaffold シート表面に形成された内膜は，血管壁そ

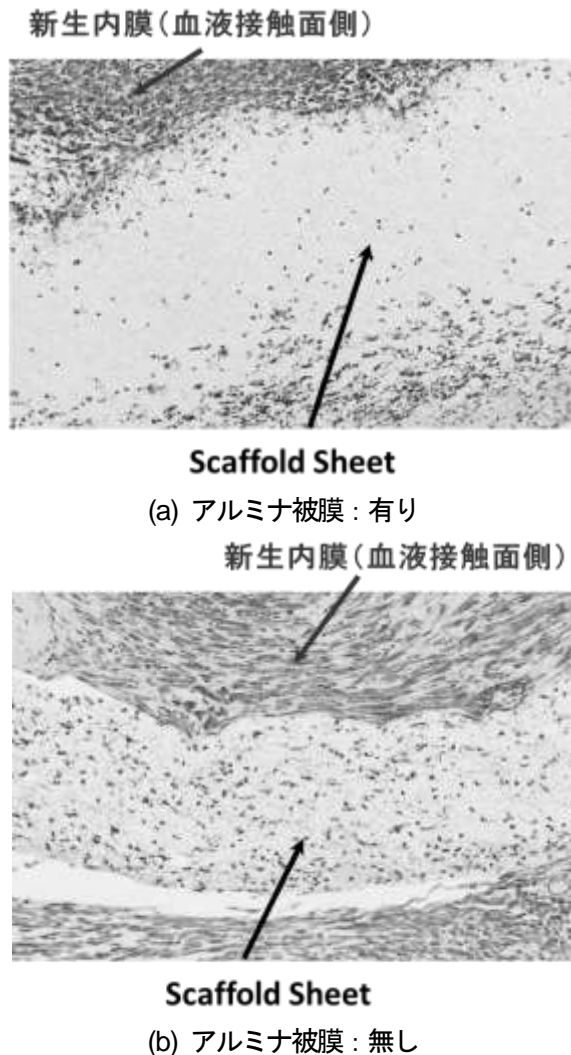


図1 Scaffoldシート内部への内膜細胞の浸潤の様子

のものではなく、その一部の大動脈内膜（内皮と内皮化組織）であり、アルミナ被膜の有無に関わらず、Scaffoldシート表面には内膜が良好に形成された。また、形成された内膜はかなり肥厚していたが、これは、留置部が中膜を欠いており、膜壁の圧負荷に対する代償作用として内膜細胞が増殖したためと考えられる。

次に、血管形成と異物反応について述べる。アルミナ被膜の有無に関わらず、Scaffoldシート表面に形成された血栓は、既に吸収・器質化（内膜組織に置換）されていた。また、試料の内表面において、異物反応は認められなかった。Scaffoldシートの外表面（大動脈外側）には、シートに接した血管壁側に異物型多核巨細胞からなる肉芽腫が生じていたことから、生体にとって異物と認識されたと考えられる。これらの結果から、血管内腔側やScaffoldシートの留置部の内膜側からは、組織球が供給されていないものと考えられる。

更に、試料表面付近（大動脈内側）の間葉系細胞

の試料内浸潤について述べる。Scaffoldシート内部に浸潤するのは内皮細胞（血管形成細胞）ではなく、内膜細胞（内皮化の間葉細胞＝筋内膜細胞）と考えられる。今回の実験では、間葉系細胞の浸潤は、主として、血管外表面側から生じていた。その中で、図1に示すように、アルミナ被膜を施していないScaffoldシートは、アルミナ被膜有と比較して、有意に多く浸潤している状態が確認された。このことから、Scaffoldシートに被膜したアルミナは、細胞浸潤を阻止する働きを有することが示された。また、繊維芽細胞や筋線維芽細胞、マクロファージなど、有層性、増殖性に富む細胞が、Scaffoldシート外表面下に多く存在していたことから、Scaffold内への細胞浸潤は、大動脈外表面側からの方が明らかに優勢であると考えられる。

以上の評価より、本研究成果では、アルミナ被膜を施したScaffoldは、良好な生体適合性が見込まれると同時に、アルミナ被膜は、間葉系細胞の浸潤を阻止する特性を有することが示唆された。

（3-2）波及効果と発展性など

本共同研究では、ファイバー状のScaffoldシートをアルミナで被覆し、新規の医用材料の創製を目的として、生体内環境における血液適合性と生体融合性について検討した。今回の評価では、生体内環境における血液適合性および生体融合性という観点では、アルミナ被膜の有無による差異は得られなかったものの、良好な特性を有することが示唆された。これらの成果は、生体との調和を目的とした血液接触デバイスの表面処理技術として大きな意義があると考えられる。今後は、国際会議やシンポジウム等を通じて、本共同研究による効果を基に、組織工学や再生医療の観点から、本表面処理技術の実用化に向けた発展が期待される。

〔4〕 成果資料

1. 大越康晴, 櫻井肇, 釜島黎, 座間秀昭, 白石泰之, 三浦英和, 山家智之, 本間章彦, “生体内環境における原子層堆積アルミナ薄膜の血液適合性評価” 第37回日本バイオマテリアル学会大会, 講演予稿集 p.127, 2015年11月9~10日(京都テルサ)
2. その他, 国内外のジャーナルへの投稿の準備を進めている。