ハイドロキシアパタイト人工血管の開発に関する実験的研究

辻 隆之・青木秀希・宗岡克樹・秦 美治・戸川達男

(東京医科歯科大学 医用器材研究所)

Development of a Vascular Access Tube Made of Sintered Hydroxyapatite Tubing

Takayuki TSUJI, Hideki AOKI, Katsuki MUNEOKA, Yoshiharu SHIN and Tatsuo TOGAWA

(Institute for Medical and Dental Engineering, Tokyo Medical and Dental University)
3-10, Kanda Surugadai 2-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 101

A vascular access tube made of sintered hydroxyapatite tubing was developed by animal experimentation. Anticoagulability of a tube, 3.8 mm in internal diameter and 2.0 cm long and made of sintered hydroxyapatite, was tested by insertion in the jugular vein of nonheparinized dogs under anesthesia. If patency lasted over 2 h, the test was ended by venous occlusion. The patent time was longer for the tubes (106 ± 35 min) pretreated by 24 h incubation in autologous heparinized plasma at 37°C and for those (102 ± 36 min) implanted subcutaneously one week earlier in the abdominal wall of the recipient dog than for those (46 ± 30 min) treated by dipping in autologous heparinized blood for 5 min. The mean shear rate and activated coagulating time were not significantly different among the three groups. No rupture or pseudoaneurysm was observed in 15 dogs in which 26 tubes of 2.6–2.8 mm internal diameter were implanted in the carotid arteries and jugular veins when they were examined at an average of 2 months after implantation. In one dog, the tube 2.5 mm in internal diameter in a carotid artery was revealed angiographically to be patent on the 85th day after implantation. It is concluded that appropriate pretreatment can make sintered hydroxyapatite more biologically compatible and the use of its tubes an excellent blood means of access.

[Received February 18, 1987; Accepted April 21, 1987]

Key-words: Bioceramics, Hydroxyapatite, Vascular access, Anticoagulability, Aortic aneurysm

1. 緒 言

現状の人工血管はすべて高分子材料である。血管が柔軟であるので人工血管もそのようにあらねばならないという考えからである。それに対して著者らが今回人工血管に用いようとする材料はハイドロキシアパタイトである。バイオイナートなセラミックスが抗血栓性に優れていることはすでに臨床でバイロライトカーボンが人工弁として用いられていることでもよく知られている¹⁾。

それに対してバイオアクティブなセラミックスであるハイドロキシアパタイトは、特に生体親和性のよいことで知られ、骨充填材、人工歯根として現在ヒトに用いられている²⁾。著者ら³⁾はその緻密体中空管を用いそれを人工血管とするため動物実験を行ってきた。本論文ではハイドロキシアパタイト中空管に前処置を加え、その抗血栓性を急性実験でテストして検討した結果について述べ、さらに臨床応用への可能性について言及したい。

2. 実 験

相対密度がほぼ95%の緻密体ハイドロキシアパタイトで、長さ20 mm、外径5.0 mm、内径3.8 mmの中空管を36本作製した。断端は鋭い鋭角を避けただけで特別に加工しなかった。雑犬18頭を対象とした。ケタラールおよびバントバルビタール併用麻酔で気管挿管して調節呼吸下においたイヌの頸静脈を露出し、血管遮断鉗子

で血管の上下を遮断し1個所に切開を加えた。血管内腔の血液を生理食塩水で洗い流した後、アパタイト中空管を頸静脈に挿入し、両端を結紮して血流を再開した。イヌには抗凝固剤(ヘパリン)を投与しなかった。アパタイト管が血栓で閉塞するまでの時間を超音波流量計(Transonic Systems Inc. 製, T 101)で血流量を計測し、ペン型記録計(理化電気製, R-104/102)で記録して、血流量がゼロとなった時を閉塞した時点とした。また2時間たっても開通しているものについてはその時点で頸静脈を遮断し、テストを終了した(図1)。さらに大腿動脈からテスト中に採血し、凝固能(ACT: Ac-

Fig. 1. Representative recordings of the flow measurements.

tive Coagulating Time or Activated Clotting Time) をヘモクロン 400 (テクニダイン製) で計測した。1 頭のイヌで左右頸静脈について順次行った。

イヌを 6 頭ずつ 3 群に分けた。I 群 12 本ではヘパリン化自家血 (ヘパリン 2 単位/自家血 1 ml) に 5 分間浸した (プレクロッティング) 後、テストした。II 群 12 本では植え込み 1 週間前に自己の腹壁皮下に前もって植え込み、テスト時に取り出して、同一犬でテストした。III 群 12 本ではヘパリン化自家血漿 (ヘパリン 2 単位/自家血漿 1 ml) で 37°C でドライパス (サーモニクス製, D 37-12 B) で 24 時間インキュベートし、それを同一犬でテストした。ずり速度と開存時間の関係を各群について検討した。

さらに処理前、インキュベーション後および皮下埋没後のアパタイト中空管の内面を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した。

3. 結 果

プレクロッティング群 (I 群), 腹壁皮下埋没群 (II 群)

およびインキュベーション群 (III 群) についてのイヌ体重, 凝固能, 開存時間, 最大および平均流量, 最大および平均ずり速度の結果は表 1, 2, 3 のようであった。開存時間は I 群が II, III 群に比べ短かった。イヌの体重, ACT, 血流量, ずり速度に 3 群間で有意の差がなかった。3 群について平均ずり速度と開存時間との関係を図 2, 3, 4 に示した。すなわち, プレクロッティング群 (□) が腹壁皮下埋没群 (△) とインキュベーション群 (○) に比べて有意に短時間に閉塞し, 2 時間以上開存した例は 1 例 (■) のみであり, 最高, 平均ずり速度は開存時間には無関係であった。II 群と III 群に 2 時間以上開存した例 (▲, ●) が多くみられたが, 平均値で比較すると図 5 のように両群間に有意差はなかった。

2 時間以上開存したものは I 群で 8% (1/12 本), II 群で 50% (6/12 本) および III 群で 58% (7/12 本) であった。2 時間以上開存した例とそれより短時間で閉塞した例を II, III 群で分けて, ずり速度を検討すると表 4 のようであった。すなわち, 開存時間が 2 時間以上の群について最大, 平均ずり速度が大きい傾向がみられるが, 皮

Table 1. Parameters for 12 tubes in group I.

Exp No	Dog No	B W (kg)	A C T (min)	P A T (min)	F L max (ml/min)	F L mean (ml/min)	S R max (1/s)	S R mean (1/s)
1	1		7	84	26	68	35	210
2				153	54	21	12	65
3	2		8	134	78	28	14	87
4				69	27	58	35	179
5	3		12	85	41	78	54	240
6				39	22	27	18	84
7	4		9	28	43	50	21	155
8				41	26	44	18	136
9	5		11.5	91	54	104	38	322
10				30	126	56	20	173
11	6		10.5	89	21	92	54	285
12				69	31	21	77	637
mean		9.7	76	46	54	33	214	102
SD		2.0	39	30	28	20	155	62
max		12.0	153	126	104	77	637	239
min		7.0	28	21	21	12	65	37

Abbreviations :

SD : standard deviation ; max : maximal ; min : minimal ; BW : body weight ; ACT : activated clotting time ; PAT : patent time ;

FL_{max} : maximal flow rate ; FL_{mean} : mean flow rate ; SR_{max} : maximal shear rate ; SR_{mean} : mean shear rate

Table 2. Parameters for 12 tubes in group II.

Exp No	Dog No	B W (kg)	A C T (min)	P A T (min)	F L max (ml/min)	F L mean (ml/min)	S R max (1/s)	S R mean (1/s)
1	1		10	67	130	58	44	179
2				85	127	88	79	272
3	2		10	31	130	75	50	232
4				126	121	40	28	124
5	3		12	39	108	57	34	176
6				45	105	43	12	133
7	4		12	34	97	17	8	53
8				33	52	93	52	288
9	5		9.5	86	123	128	50	396
10				42	120	140	64	433
11	6		11.5	38	96	127	58	393
12				95	10	42	11	130
mean		10.8	60	102	76	41	234	126
SD		1.1	31	36	40	23	123	70
max		12.0	126	130	140	79	433	244
min		9.5	31	10	17	8	53	25

For abbreviations, see the footnote to Table 1.

Table 3. Parameters for 12 tubes in group III.

Exp No	Dog No	B W (kg)	A C T (min)	P A T (min)	F L max (ml/min)	F L mean (ml/min)	S R max (1/s)	S R mean (1/s)
1	1	11.5	97	58	56	34	173	105
2			95	116	50	32	155	99
3	2	10	89	126	244	38	755	118
4			108	125	80	47	246	145
5	3	8	94	97	82	43	254	133
6			32	121	75	50	232	155
7	4	12	94	122	30	18	93	56
8			20	130	52	32	161	99
9	5	12	24	42	38	24	118	74
10			129	132	72	44	223	136
11	6	16	91	52	42	22	130	68
12			67	145	100	57	309	176
mean		11.6	78	106	77	37	238	114
SD		2.7	35	35	57	12	175	37
max		16.0	129	145	244	57	755	176
min		8.0	20	42	30	18	93	56

For abbreviations, see the footnote to Table 1.

Fig. 2. The relationship between mean shear rate and patency in group I in which the tube was dipped for 5 min in heparinized blood before the test.

Fig. 4. The relationship between mean shear rate and patency in group III in which the tube was incubated for 24 h in heparinized autologous plasma preceding the test.

Fig. 3. The relationship between mean shear rate and patency in group II in which the tube was implanted subcutaneously into the abdominal wall of the recipient dog one week before the test.

Fig. 5. The relationship between the mean values of the mean shear rate and the mean patent time in groups I, II and III.

下埋没群 (II 群) で開存時間が長い場合には平均ずり速度が有意に大きい関係が認められた。

処理前, インキュベーション後, 腹壁皮下埋没後のおのおのの内面の SEM 像は図 6, 7, 8 のようであった。

Table 4. The comparison of the parameters in the tubes with patency less and more than 2 h in groups II and III.

Group II				
Patent time	(min)	120>	>=120	
n		6	6	
patency	(min)	78 ± 39	125 ± 4	p<0.01
SRmax	(1/s)	196 ± 124	273 ± 121	ns
SRmean	(1/s)	90 ± 68	163 ± 54	p<0.05
ACT	(min)	47 ± 24	73 ± 34	ns

Group III				
Patent time	(min)	120>	>=120	
n		5	7	
patency	(min)	73 ± 32	129 ± 8	p<0.01
SRmax	(1/s)	166 ± 54	288 ± 216	ns
SRmean	(1/s)	96 ± 26	126 ± 40	ns
ACT	(min)	80 ± 30	77 ± 40	ns

For abbreviations, n, number of tubes, ns, not significant; for others, see the footnote to Table 1.

Fig. 6. Scanning electron micrograph of the inner surface of a sintered hydroxyapatite tube without any pretreatment.

Fig. 7. Scanning electron micrograph of the inner surface of the tube incubated at 37°C for 24 h in autologous heparinized plasma. The surface seemed to be almost the same as that of an untreated tube.

4. 考 察

セラミックスのみならず生体材料の抗血栓性のテスト法にはいまだ標準的な方法がない。生体材料を人工血管

Fig. 8. Scanning electron micrograph of the inner surface of a tube implanted for one week subcutaneously in the abdominal wall of the recipient dog. Many blood components are observed adhering to the surface of the tube.

に用いようとする場合には、動物の血管に植え込み、長期に飼育して開存を観察する方法が現状では一般的である。セラミックスの抗血栓性に関しては本邦では三田村ら⁴⁾の報告がある。それは下大静脈にテスト材料を一定形状の中空管にして留置し、一定期間後に取り出して血栓形成を調べる方法である。三田村らの検討ではアパタイトより単結晶アルミナセラミックスのほうが抗血栓性に優れているとされている。

著者ら³⁾はすでに何らかの前処置をしていないハイドロキシアパタイト中空管についてイヌを用いて慢性実験で抗血栓性を検討した。すなわち平均内径 2.3~2.5 mm, 平均長さ 15.6~30.8 mm の中空管 26 本をイヌ 15 頭の頸部血管(頸動脈 15 本, 頸静脈 11 本)に留置して平均 2 ヶ月観察した後摘出した。その間、1 例も死亡せず血管破裂や仮性動脈瘤など血管損傷を来した例はなく、本

中空管は生体のみならず血管に対しても安全であることを確認した。うち1例に内径2.5 mmの中空管が頸動脈で(図9)、内径2.4 mmの中空管が頸静脈で85日にもなお開存しているのを血管造影で確認した。

しかしそれらの方法(慢性実験)では開存率が材料の性質以外の植え込み手術手技や感染などの影響を免れないし、どのように血栓が形成されつつあるかも正確には観察できず、ある一定期間後の結果しか分からない。それに対して今井らの方法⁵⁾ではもっと簡便に抗血栓性を短時間でテストできる。本法によればテスト材料でできた小口径の中空管を、イヌになんら抗凝固剤を投与しないで流速が遅く血圧の低い頸静脈内に留置する。したがって、血液は管内で凝固しやすく、血栓は管腔を閉塞しやすいのでテスト材料の抗血栓性を短時間に検出できる。

血栓は血流の速度、血管壁の状態、血液の性状できまるといわれている。すなわち血流速度が遅く、血管壁の性状が血小板が付着しやすく、また血液自身が凝固しやすいければ、血栓ができやすい。人工血管にしようとする材料の抗血栓性は血液に接する部分の抗血栓性であるから、材料に接する部分の血流速度と血液の凝固性とが制御されていないと、各材料の抗血栓性を相互で比較することはできない。しかしそれを実際の生体で制御することは困難であるので、今回われわれは今井の方法⁵⁾でテストを行い、新しく開発された原理(トランジットタイム法)に基づく超音波流量計⁶⁾で、内圧によっては圧平する静脈の血流を正確に計測してテストチューブ内でのずり速度を算定し、同時に血液の凝固性を反映するパラメーターも計測して実験結果の解析を試みた。

その結果、血液の凝固能をACT(凝固能が高まるとその値が短縮し、ヘパリンを投与すると延長する)で評価すると、いずれの群間でも値に有意差がなかった。すなわち血液の凝固能には3群間で差がなかった。血管壁

Fig. 9. A tube, 2.5 mm in internal diameter, implanted into the canine carotid artery. The tube was patent angiographically on the 85 th day after implantation.

からみた血液の速度はずり速度として表現されるので本研究ではそれを求めたところ、3群間に有意差がなかった。すなわち、3群間で血液の性状と流速には有意の差がなかった。しかし、プレクロッティング群は他の2群より明らかに開存時間が短かった。したがって、人工血管壁の性状がプレクロッティング群と他の2群とでは異なるといえる。ずり速度と開存時間との関係で比較するとプレクロッティング群ではずり速度が大きくても開存時間は短い例もあり、両者は無関係ではあるが、皮下埋没群では開存時間が長い例ではずり速度も大きい傾向を示した。

以上の結果からハイドロキシアパタイトは適切な前処置をすることによってより抗血栓性を獲得したと考えられる。アパタイトは蛋白成分を吸着する^{7),8)}。ブラズミノゲンアクチペータ(線溶系活性酵素)を吸着するという報告もある⁹⁾。自己組織や自己血液成分に前もって接触させると抗血栓性の向上を示すのは合理的な結果であろう。

腹壁皮下埋没群ではSEM像で内腔表面に血球成分などが多数沈着しているのが観察された。しかし、インキュベーション群のそれは処置前の内腔表面のSEM像とほとんど差がなかった。したがって、開存性は両群間に差がないので処理操作の簡単さや管内血栓を誘導するような血球成分の壁沈着がないことからヘパリン化血漿によるインキュベーション法がそれを実際にヒトに用いる場合には適切であろうと考えている。

アパタイトは高齢者で大動脈壁にしばしば見られる石灰沈着と成分は同じものである。本人工血管は剛管であることが実際の血管と著しく異なっているが、血管材料としては異常なものではない。大動脈瘤は欧米で、また高齢者に多い疾患である。したがって、食生活の変化や高齢者の増加で大動脈瘤患者は本邦でも増加しつつある。大動脈瘤を切除してその間に人工血管を縫着する手術は侵襲が大きい。また手術時間も長く十数時間を要する場合もある。そのために、従来の高分子材料の人工血管の両端に金属を布で覆ったリングを付けたリング付きグラフト¹⁰⁾が最近本邦でも用いられ始めている¹¹⁾。リングを動脈瘤切除後の大動脈断端に挿入固定するだけでよいので、手術時間が短縮できる。しかし、リングが金属であるため血管との接合部で血管壁の損傷が起こって、出血や仮性動脈瘤などを合併する症例のあることが知られている。

アパタイトは金属を覆った布よりも血管に対して適合性がよいと考えられるので、アパタイトがそのリングに用いられる可能性は高い。現在のリング付きグラフトは長さがきまった既製品なので、グラフトの途中を切断し吻合して長さを調節する。それに対して本法によれば大動脈瘤切除後の両断端にアパタイトリングを挿入し結紮

Fig. 10. A schematic drawing of the use of the tube for an intraluminal graft (A) and the ring of a ringed graft (B).

固定する。その間を従来の人工血管を適当に切って挿入し、それをリングと結紮固定するので血管吻合操作を全く必要としない (図 10 (B))。さらには著者らは内挿型の人工血管を目指している (図 10 (A))。

以上のように著者らは高齢者や合併症を有する大動脈瘤症例に対する姑息的手術に用いるために本人工血管を開発している¹²⁾。それを用いれば大動脈瘤の切除も血管吻合も不要となる。大動脈は身体のもっとも深い部分(胸腔、腹腔)にあるので、通常の外力によって大動脈内のセラミックス管は破壊されることはない。本材料は新しい vascular access として有用であろう。

カーボン系のセラミックスは抗血栓性に優れているが全く生体と反応しない。現在著者らはカーボン系セラミックスの外面をアパタイトコーティングした中空管も同様の方法でイヌに植え込んで検討している。セラミックスの複合材料化である。前処置しなくても抗血栓性がよく、さらに血管に対してはアパタイトの優れた生体適合性を発揮させようとするものである。いずれが人工血管として有用かは性能のほかにコストの問題も重要であろう。

5. 総 括

今回著者らは 36 本のハイドロキシアパタイト緻密焼

結体中空管に対し、雑犬 18 頭を用い、プレクロッティング、ヘパリン化自己血漿インキュベーションおよび自己腹壁皮下埋没処理を各 12 本、6 頭ずつについて行って、それらをイヌ頸静脈に挿入留置し、ずり速度と血液の凝固能を同時に計測してその開存性を 2 時間以内でテストした。その結果、ずり速度と凝固能に 3 群間で差がないにもかかわらず、プレクロッティング群より、ヘパリン化自己血漿インキュベーション群および自己腹壁皮下埋没群のほうが明らかに開存時間が長く、皮下埋没群ではずり速度が大きくなるにつれて開存時間が延長する傾向を認めた。すなわち、前処置によって本材料が抗血栓性を獲得することを明らかにした。さらに 15 頭のイヌの頸動静脈に何ら前処置しない中空管 26 本を植え込み飼育したところ、1 例も死亡せず、血管の破裂、出血なども観察されなかった³⁾。

したがって本材料は血管に対して安全であり、大動脈瘤の治療に用いる人工血管として応用できると考えられた。

(本研究の一部は第 2 回アパタイト研究会 (1987 年) で発表した。)

文 献

- 1) F. J. Schoen, J. L. Titus and G. M. Lawrie, *J. Biomed. Mater. Res.*, **16**, 559-70 (1982).
- 2) 牧島亮男, 青木秀希, “バイオセラミックス”, 技報堂出版 (1984).
- 3) 辻 隆之, 青木秀希, 秦 美治, 宗岡克樹, 東方正章, 大内成美, 請川 洋, 戸川達男, *人工臓器*, **14**, 671-74 (1985).
- 4) 三田村好矩, 立木利一, 牧野秀夫, 三上智久, 北村安弘, *生体材料*, **2**, 151-56 (1984).
- 5) 今井庸二, 渡辺昭彦, 増原英一, *人工臓器*, **2**, 95-101 (1973).
- 6) R. G. Burton and R. C. Gorewit, *Medical Electronics*, **68-73** (1984).
- 7) 青木秀希, 秦 美治, *臨整外*, **21**, 1225-32 (1986).
- 8) C. P. A. T. Klein and K. de Groot, *J. Biomed. Mater. Res.*, **14**, 705-12 (1980).
- 9) 真田 進, 梶江 勇, 丹羽滋郎, 早坂孝則, 竹内啓泰, *Transactions of the Second Symposium on Apatite*, 第 2 回アパタイト研究会 (1987) pp. 85-86.
- 10) S. G. G. Ablaza, S. C. Ghosh and V. P. Grana, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **76**, 390-96 (1978).
- 11) 東館雅文, 高梨吉則, 今井康晴, *日胸外会誌*, **35**, 13-25 (1987).
- 12) 辻 隆之, *材料フォーラム*, **5**, 21-24 (1986).