イオンビーム照射した ePTFE の医療応用

鈴木 嘉昭¹・氏家 弘²¹理化学研究所 生体反応制御材料研究チーム ☎ 351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1²東京労災病院 脳神経外科 ☎ 143-0013 東京都大田区大森南 4-13-21

(2011 年 5 月 12 日受付；2011 年 7 月 19 日掲載決定)

Ion Beam Modification of ePTFE for Medical Applications

Yoshiaki SUZUKI¹ and Hiroshi UJIE²¹Riken, Wako, Saitama 351-0198²Tokyo Rosai Hospital, Ohta-ku, Tokyo 143-0013

(Received May 12, 2011 ; Accepted July 19, 2011)

Expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) as an artificial dura mater is often associated with cerebrospinal fluid (CSF) leakage after skull base surgeries, because ePTFE is not able to adhere to both fibrin glue and tissue. To improve these critical properties, the surface of ePTFE was modified with ion beam irradiation and the effects of its biocompatibility were investigated. ePTFE sheets were irradiated with Ar⁺ ions with a fluence of 5×10^{14} ions/cm² and an energy of 150 keV. CSF leakage was observed for pristine ePTFE, while CSF leakage did not occur for ion beam irradiated ePTFE that adhered to surrounding tissues. Brain artery aneurysms are frequently treated using microsurgical clipping of the aneurysm neck, endovascular coiling of the aneurysm sac, or balloon occlusion of the parent vessel. For some broad-based aneurysms not suitable for these options, ion implantation was utilized to ePTFE wrapping material for treatment of brain aneurysms. We also studied applications for small diameter vessel anastomosis.

KEYWORDS : duramater, aneurysm, anastomosis, ion implantation, biocompatibility

1. は じ め に

表面改質法を用いた医療用材料の開発は材料の力学特性を活かして表面あるいは表層のみを改質して目的とする機能を付与させる方法である。医用材料の生体適合性(抗血栓性, 細胞接着性)の付与を目的に現在まで様々な表面改質が行われている。これらの方法はバルクの性質を活かし, かつ血液あるいは細胞と接触する表面または局所の機能化が可能である。本報では特にイオンビーム照射による医用材料を目的とした表層の改質とそれらの応用例を中心に紹介する。

イオンビーム照射技術¹⁾とは, 添加を目的とする粒子を高真空 (10^{-4} Pa.) 中で, イオン化し数十 kV から数 MV に加速して固体基板に添加する方法である。イオン源で作られ, 加速されたイオンビームは質量分離される

ため, イオンの純度が極めて良い。また加速エネルギー, 照射量など制御性が高く, 再現性, 均一性がよい加工が可能である。さらに照射材料の構造変化に対するイオンビーム照射効果が解析しやすい利点を有する。この方法は添加効果を目的にした例ではすでにシリコンへの不純物添加法として確立された技術である。また表面改質法の中で最も高いエネルギーのイオンを用いることを特徴とする。

2. 細胞接着性表面の形成

セグメント化ポリウレタンやポリスチレンといった高分子材料に Ne⁺, Ar⁺ などの希ガスイオンや, N⁺, N₂⁺ や O⁺, O₂⁺ イオンを照射すると, 細胞接着性表面ができる。セグメント化ポリウレタンは人工心臓の内面に使われる材料で通常は細胞がまったく接着しないが, イオンビームを照射して血管内皮細胞などを培養すると照射したところだけ細胞が接着する。円形に照射すれば

Fig. 1. (color online). Fibroblast cell attachment to Ar^+ ion implanted ePTFE with a diameter of 120 μm . (a) : Phase contrast microscopy, (b) : Scanning electron microscopy.

円形状の細胞コロニーが、線状に照射すれば線状の細胞コロニーができる²⁾。ほとんどの合成高分子材料は、イオンビーム照射すると細胞接着性が増加する。なぜ細胞が接着するのか、官能基ができるということもあるが、アモルファスカーボンの生成が大きな要因と考えられる。イオンビームを照射すると、高分子の炭素がばらばらになり、炭素同士が集まってアモルファスカーボンを形成する。これを細胞が認識して接着する。高分子材料には豊富に炭素が含まれイオンビーム照射によって炭素は一時期自由の身となり、その後仲のよい炭素同士が結合して特有の炭素構造を形成し、細胞接着を生じる。

炭素材には実際、細胞が非常によく接着する。たとえば延伸ポリテトラフルオロエチレン (ePTFE) は医療現場で多用されている材料³⁾であるが、この材料はC (炭素) とF (フッ素) の結合でできている。この材料にイオンビームを照射するとCF結合は分解され炭素同士が結合してアモルファスカーボンを生成して細胞の接着性が付与される。**Fig. 1 (a)** に位相差型顕微鏡により観察したePTFEに Ar^+ イオンを加速エネルギー150 keVで 5×10^{14} ions/ cm^2 照射した部分 (円形約120 μm) への線維芽細胞の接着状態を示す。細胞は照射面を認識して接着した。**Fig. 1 (b)** に走査型電子顕微鏡により観察した接着状態を示す。

イオンビーム照射によってePTFE表層は凸凹となるが、アモルファスカーボンが生成し、この構造を細胞が認識するものと考えられた^{4,5)}。

3. イオンビーム照射したePTFEのフィブリン糊生体外接着性

怪我などによって血管が損傷し、出血すると血栓が形成される。また、血管内に異物が侵入するとその表面で

も血栓が生じる。血液凝固反応は血液凝固因子と呼ばれる物質が次々と活性化して、最終的にはフィブリンノーゲンというタンパクがフィブリンに転換することで血栓生成が起こる。この血液凝固作用を利用した生体接着剤がフィブリン糊である。

フィブリンノーゲンはトロンビンの作用により可溶性フィブリンとなる。さらに、カルシウムイオンの存在下で、血液凝固第XIII因子はトロンビンにより活性化され、フィブリンを尿素不溶性の安定化フィブリン塊とし、組織の接着・閉鎖が行われる。この安定化フィブリン塊内で、線維芽細胞が増殖し、膠原線維や肉芽基質成分が産生され、組織修復を経て、治癒に至る。

Fig. 2 に示すような、内径18 mmの亚克力製円筒にマノメーターと加圧用シリンジを接続した装置で耐圧試験を行い、未照射およびイオンビーム照射ePTFEのフィブリン糊接着による密閉能力を評価した。十分な大きさの未照射およびイオンビーム照射試料に直径8 mm円形の穴をあけ (**Fig. 2C**)、別に用意した直径13 mmの円形の未照射およびイオンビーム照射試料 (**Fig. 2B**) を、その穴をふさぐようにフィブリン糊で未照射およびイオンビーム照射面同士を貼り合わせ30分間放置した。その後、亚克力製円筒 (**Fig. 2D**) を墨で着色した水で満たし、その上に貼り合わせた試料をのせた。さらにその上に直径18 mmの穴をあけた亚克力板 (**Fig. 2A**) をのせ、試料を亚克力製円筒との間に挟んで押さえた。この状態で、1 ml/minの割合で水を注入し、試料にかかる圧力を上昇させた。マノメーターで円筒内の水圧を測定し、接着面が耐えうる圧力の最大値を記録した。接着実験は5回行った。フィブリン糊の塗布が不完全である場合があるため、5回のうちの最大値を採用した。結果を**Fig. 3** に示す。イオン種によらず、イオンビ

Fig. 2. (color online). Schematic of burst test. Water was constantly injected into the water cell with whose top was covered water-tightly a watertight cover with of a couple of ePTFE test specimens which were glued together. The internal pressure was measured.

Fig. 3. Burst pressure. Error bars indicate minimum and maximum values.

ーム照射試料は高い耐圧・密閉能力を示した。また、 $\text{Ar}^+ 5 \times 10^{14}$ ions/cm², $\text{Kr}^+ 1 \times 10^{14}$ ions/cm² 照射試料は顕著な耐圧・密閉能力を示した。

4. 人工硬膜への応用

頭蓋骨内にあって脳実質を保護する三層の膜（軟膜、クモ膜、硬膜）のうち、硬膜は最も硬く、三層の中で最外層に存在し、頭蓋骨の内側骨膜でもある。脳神経外科手術に際し、硬膜を切除せざるを得ないことがしばしばあり、硬膜欠損部が生じる。また、硬膜自体の自然収縮のために一次的な縫合が困難になることもある。硬膜を

開放したまま閉創することは、髄液の漏出を招いて頭蓋内感染症を生じたり、脳実質と骨ないし皮下組織との癒着を生じて、局所神経症状を呈したり、てんかん発作の原因となるなど、重篤な合併症を来す原因となる。従って閉創時には硬膜に隙間が生じないよう厳密な縫合が要求される。このため硬膜に欠損が生じたり、一次縫合が困難となった場合には何らかの補填材料を用いて隙間が生じないように完全に縫合する必要がある。

いかなる補填材料を用いて硬膜欠損の補填を行うかは長期に渡り脳神経外科医を悩ませ続けた問題である。当初人工物が使用された時期もあるが、生体適合性、使いやすさ等に問題があり、何れも長続きしなかった。当初より今日に到るまで最も広く用いられているのは自家筋膜であるが、摘出部位に筋膜の欠損を生じること、脳に対して癒着しやすいことなど問題点も少なくない。ヒト乾燥硬膜は屍体から採取された硬膜に放射線処理等を行った硬膜補填材料であり、これまでの中では最も優れたものであった。しかし、クロイツフェルト・ヤコブ病の原因とされるプリオンが硬膜内に存在する可能性があり、ヒト乾燥硬膜を介してクロイツフェルト・ヤコブ病の感染が生じたという事例が報告されるに到り、使用は全面的に禁止された。

現在、自己筋膜以外に硬膜補填材料として使用可能な素材は、厚生労働省が認可している ePTFE が主に用いられている。高分子材料である ePTFE は生体に対して接着性が乏しい。この性質は脳と癒着を生じないという面では優れている。しかし収縮性に乏しいため針穴から髄液が漏出してしまい特殊な縫合糸を使用して縫合を行う必要がある。さらに生体接着性がないため縫合面の隙間からも髄液漏が生じる可能性が高い。これと共に周辺組織とも接着性を有さないため、単なる骨格素材となってしまう可能性も高い。これまでに ePTFE をいかにうまく使用するかについての多くの試みがなされてきたが、何れも ePTFE を骨格素材として使用し、周囲に線維性組織の被膜が形成されるのを待つものであった。

未照射およびイオンビーム照射 ePTFE を動物実験によって硬膜補修材として評価した。日本白色家兎（オス 3.0–3.5 kg）を使用し、全身麻酔下にて埋め込み手術を行った。頭皮を切開して頭骨を露出し、ついで頭骨の左右に 10 mm × 15 mm 程度の穴をあけ、硬膜を露出した。さらに、片側の硬膜は、頭骨にあけた穴の中央に当たる位置を 4 mm × 5 mm 程度切除し、脳を露出した。露出した硬膜にフィブリノーゲン溶液を塗布し、頭骨の穴よりもやや大きめに切っておいた試料を、イオンビーム照射面を頭蓋骨側に向けて載せ、周囲約 1 mm を硬膜と頭骨の間に挟み込んだ。さらにその上からフィブリノーゲ

ン溶液を塗布した後、トロンビン溶液を加えて凝固させた。試料は縫合せず、このまま頭皮を縫合し埋め込み手術を終えた。埋め込み手術直後、未照射試料はしっかり

Fig. 4. (color online). Histology of ion implanted ePTFE two week after surgery (Hematoxylin and eosin).

固定されず不安定であったが、イオンビーム照射試料、特に $\text{Ar}^+ 5 \times 10^{14} \text{ ions/cm}^2$ 照射試料はフィブリン糊と接触した直後から確実に接着し、多少力を加えても動かないほどであった。数週間から数か月後、試料を摘出した。未照射試料では髄液漏があったが、イオンビーム照射試料ではいずれも髄液漏は認められなかった。埋め込み2週間の摘出した試料 (Ar^+ イオンビーム片面照射試料: 加速エネルギー 150 keV, 照射量 $5 \times 10^{14} \text{ ions/cm}^2$) の組織写真 (HE 染色) を **Fig. 4** に示す。イオンビーム照射面には組織およびフィブリン糊が接着していたが、未照射面 (脳表側) には組織の接着は生じなかった。新生した組織はフィブリン糊との隙間を沿うように侵入し、硬膜再生が見られた。

動物実験にて行ったイオンビーム照射で最適な条件 (Ar^+ イオン, 加速エネルギー 150 keV, 照射量 $5 \times 10^{14} \text{ ions/cm}^2$) にて作成した試料を東京女子医科大学脳神経外科にて同大学の医学倫理委員会の承認を得た後、経鼻的下垂体腫瘍摘出手術中 (**Fig. 5**) に髄液漏を伴った症例に対して使用したところ、ほぼ完全に術後髄液漏を防ぐことができた。下垂体は脳幹付近の脳が位置する非常

Fig. 5. (color online). Surgery of enucleation of pituitary adenoma by transsphenoidal approach.

に深部にある (Fig. 5a)。下垂体腫瘍へのアプローチは鼻の穴から行われ、蝶形骨洞、トルコ鞍の骨を除去して行われる (Fig. 5b)。Fig. 5b 中の円形部を拡大し、腫瘍除去の手順を Fig. 5c, d, e に示す。腫瘍摘出手術は顕微鏡を用いて行われるマイクロサージェリーである。下垂体腫瘍に到達した後はキュレットと呼ばれるスプーン状の器具で腫瘍を除去する (Fig. 5c)。脳外科における腫瘍摘出手術では通常腫瘍の取り残しによる再発を防止するため、腫瘍部位のまわりの若干の正常部位の摘出も行われる。この際下垂体を保護している鞍隔膜を損傷した場合、脳髄液の漏れが生じる (Fig. 5d)。この髄液漏れの封鎖を行うため両面をイオンビーム照射した ePTFE を用いて封鎖した (Fig. 5e)。尚、下垂体腫瘍を除去したスペースを埋めるため、あらかじめ患者から採取した脂肪を詰め込んだ後に封鎖は行われる。

5. 動脈瘤治療用材料への応用

破裂脳動脈瘤による、くも膜下出血は毎年人口 10 万人に対して約 12 人発生する。日本の人口 1 億 2 千 6 百万人の内、約 1 万 5 千人発生している。約 50% が初回くも膜下出血により死亡し、治療しなければ 25-30% は再出血で死亡する。脳動脈瘤の治療法は開頭手術による動脈瘤ネック部分のクリッピング、または脱着型コイルを用いた血管内治療による動脈瘤部の血栓形成による方法が取られている。これらの方法はドーム型の動脈瘤には効果を発揮するが、ワイドネックと呼ばれる破裂の危険性を有する脳動脈瘤の治療では、クリッピングは不可能であり、またコイルによる治療も血流で末梢にコイルが流されるため行えない。このワイドネック型の動脈瘤の破裂防止には ePTFE ファイバー、ePTFE シート、絹組織維などにより動脈瘤全体をラッピング後、フィブリン糊と呼ばれる生体組織接着剤により固定して行われるが

生体との接着性が不十分である。これらの欠点を克服すべくイオンビーム照射した ePTFE シートのワイドネック型動脈瘤治療材料への応用を鑑み、生体外および生体内での細胞接着性実験を行った。

イオンビーム照射 ePTFE と血管外壁との接着を評価するため、ウサギ内頸動脈へのラッピング実験を行った。日本白色家兎 (オス 3-4.5 kg) を使用し、ソムノベンチル (20 mg/kg) による静脈麻酔後、速やかに気管内挿管し、手術台に固定した。頸部を消毒後、正中切開を行い、内径動脈を露出した。イオンビーム照射面が血管外周壁に接するように巻きつけ、フィブリン糊にて接着し塗り込み、端をクリップで留めた。留置試料は 1 週間、1 か月、3 か月後、再び全身麻酔下において手術部位を露出し、血管壁および周辺組織との接着状態を目視にて確認した。

頸動脈ラッピング後、フィブリン糊で固定する際、未照射 ePTFE はフィブリン糊との親和性が不完全で不安定であったが、イオンビーム照射試料はフィブリン糊を塗布した直後から確実に接着した。Fig. 6 に未照射およびイオンビーム照射 (150 keV , $5 \times 10^{14} \text{ ions/cm}^2$) 試料の 3 か月間留置後の組織学写真を示す。留置後 1 か月では残存していたフィブリン糊は吸収されるが、未処理 ePTFE の表面には血管外壁が全く接着しておらず、空隙が存在した。それに対してイオンビーム照射表面には、試料と血管外壁との間は細胞を介して良好に接着しているのが観察された。

ePTFE にイオンビーム照射することでフィブリン糊接着性、組織適合性が劇的に改善された。東京女子医科大学脳神経外科にて同大学の医学倫理委員会の承認を得た後、本材料をクリッピングが不可能な場合や部分的なクリッピングしかできない未破裂動脈瘤、破裂動脈瘤の治療に使用した臨床例ではきわめて高い破裂防止効果が

Fig. 6. (color online). *In vivo* animal study. Non-implanted ePTFE and ion-implanted ePTFE were used for the test specimens. These specimens were wrapped around the rabbit's carotid arteries (a) and histology of non-implanted ePTFE (b) and ion implanted ePTFE (c) after three months.

Fig. 7. (color online). Experimental procedure of anastomosis (a), (b), anatomical finding (c) and histology (d) after 1 month.

確認できた⁶⁾。これは外科医にとって術後管理が軽減されるばかりではなく、患者にとっても治癒が促進し、極めて重要な要素技術と考えられる。

6. 微小血管吻合への応用

脳神経外科における内径 1-2 mm の微小血管の縫合、神経縫合術などマイクロサージェリーは術者の経験、熟練度により術後成績が大きく左右される手術である。イオンビーム照射した ePTFE は生体由来接着剤であるフィブリングルー、組織接着性が極めて良い。この材料を微小血管吻合術への応用を行った。

Fig. 7 (a) に示すようにウサギ頸動脈を露出して端側吻合（血管の側面と他の血管の端を吻合）を 4 か所のみ行い、非常に薄い (40 μm) イオンビーム照射した ePTFE で数周ラッピングし、フィブリングルーにて接着させた (**Fig. 7 (b)**)。Fig. 7 (c) (d) に 1 か月後の血管吻合部位 (c) と組織写真 (d) を示す。組織切片の作成は Fig. 7 (c) で破線で示された切片を作成し、HE 染色した。血管内面の吻合された部分は新生内膜で修復されていた。ePTFE は数巻きラッピングされたが、非常に薄いものを使用したため一部は組織再生とともに分解

していた。通常は血液も漏出が生じないように極めて密にかつ均一に吻合を行うが、この材料を使用することによって熟練した技術を必要とせずに血管吻合ができ、また手術時間の短縮も可能となる。東京女子医科大学脳神経外科にて同大学の医学倫理委員会の承認を得た後、脳神経外科手術においてバイパス術で使用し、良好な術後成績を得ている。

7. ま と め

ePTFE はフッ素原子が炭素原子鎖を均一に覆って保護する形になっているため、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン等と違い、生体内で化学的に非常に安定であり、また組織との反応性がきわめて低い。そのため、人工血管、人工心膜、人工腹膜、歯周組織再生誘導法における遮蔽膜等、生体材料として広く使用されている。しかし、人工硬膜として使用した場合、生体反応性の低さは、その長所である反面、生体内で常に生体防御反応の温床となる場合がある。イオンビーム照射によって体内で長期間組織接着性を ePTFE に付与することにより上述の硬膜、動脈瘤治療材料、血管吻合補助材料以外にも広く医療分野での応用も現在研究されており、今後の展開に期待できるものと考えられた。

本研究の一部は財団法人日本心臓血管研究振興会公募研究として同施設で行った。

文 献

- 1) 難波 進: “イオン注入技術”, エレクトロニクス技術全書 8 (工業調査会, 1975).
- 2) Y. Suzuki, M. Kusakabe, J.-S. Lee, M. Kaibara, M. Iwaki and H. Sasabe: Nucl. Instrum. Methods **B65**, 142 (1992).
- 3) S. Yamagata, K. Goto, Y. Oda and H. Kikuchi: Neurol. Med. Chir. **33**, 582 (1993).
- 4) 鈴木嘉昭, 岩木正哉, 貝原 真, 谷 諭, 大橋元一郎, 神尾正巳: イオンの科学と技術 **309**, 3 (2001).
- 5) 高橋範吉, 氏家 弘, 鈴木嘉昭, 岩木正哉, 堀 智勝: 脳神経外科 **31**, 1081 (2003).
- 6) 氏家 弘, 比嘉 隆, 加藤宏一, 山口浩司, 篠原千恵, 糟谷英俊, 堀 智勝, 高橋範吉, 鈴木嘉昭: 脳卒中の外科 **35**, 24 (2007).