次世代生体分解性冠動脈ステントの開発*

(第1報, ポリグリコール酸を用いたステントの検討)

伊 垣 敬 二^{*1}, 岩 本 正 治^{*2}
山 根 秀 樹^{*3}, 斎 藤 憲 司^{*4}

Development of The Novel Biodegradable Coronary Stent [1st Report, Poly (glycolic acid) as the Stent Material]

Keiji IGAKI^{*5}, Masaharu IWAMOTO,
Hideki YAMANE and Kenji SAITO

^{*5} IGAKI MEDICAL PLANNING Co. Ltd.,
4, Kandacho, Shinomiya, Yamashina-ku, Kyoto-shi, Kyoto, 607-8035 Japan

Novel biodegradable coronary stents were implanted into left anterior descending arteries of 25 dogs and 7 pigs by using 8 Fr Guiding catheters. These stents 3 mm in diameter and 15 mm in length are knitted pattern made of poly (glycolic acid) monofilament of 0.120 mm in diameter. Follow-up coronary angiography was performed and the standard optical microscope observations of the cross sections of the stented segments were carried out 2 and 4 weeks after implantation. All of the stents were successfully implanted. Patency of stented arteries were wide enough and no acute closure was observed immediately after implantation. Percentage stenosis drastically increased to nearly 80% and then leveled off after 2 weeks in the case of pigs, while it increased rather gradually to 25% and then leveled off after 4 weeks in the case of dogs. It is considered that the foreign body reaction is more significant in pigs resulted in the remarkable neo-intimal hyperplasia. PGA stent has already lost its mechanical properties to hold the arteries from the inside due to the rapid degradation by this time and crushed into the lumen of the arteries. This crushed stent brings high percentage stenosis. These results suggest that it is necessary to choose polymer for the stent with a suitable degradation rate in order to achieve a low percentage stenosis.

Key Words: Stent, Biodegradable Polymer, Coronary Artery, Neo-Intima, Acute Closure, % Stenosis

1. 緒 言

バルーンカテーテルを用いた経皮的冠動脈形成術 (Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty; PTCA) は A.Grunzig⁽¹⁾により1977年スイスで、虚血性心疾患の治療として世界で最初におこなわれた。バイパス手術に比べて侵襲の程度が低く、患者に対する負担が少ないこの治療法は多枝疾患、バイパス術後再狭窄病変、高度石灰化病変、びまん性病変等の

適応拡大に伴い、わが国でも1997年には1年間で91800症例おこなわれた。このようにPTCAは虚血性心疾患の有効な治療法として確立されている。しかし急性冠閉塞、遠隔期再狭窄、不适当病変等の問題がある。特に急性冠閉塞は、PTCA後に2~11%の頻度で発生する重大な合併症⁽²⁾である。この問題を解決するため冠動脈壁を内部から支え、解離を修復し、エラスティックリコイルを減少させることにより、より大きな内腔を得る目的のためデザインされた円筒状構造体、すなわちステントが開発された。ステントは遠隔期再狭窄予防効果、PTCA不适当病変についても極めて期待できるデバイスとして、今では世界におけるインターベンション心臓手技の52%に使用されている。わが国でも1997年には1年間で45000個のステントが植え込まれた。D.Fishman⁽³⁾は比較臨床試験をおこない、

* 原稿受付 1999年1月12日.

^{*1} 正員, (株)伊垣医療設計 (☎607-8035 京都市山科区四ノ宮神田町4).

^{*2} 正員, 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科 (☎606-8585 京都市左京区松ヶ崎御所海道町).

^{*3} 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科.

^{*4} 正員, 京都工芸繊維大学工芸学部.

E-mail: i-m-plan@mbbox.kyoto-inet.or.jp

バルーンのみによる血管形成術にステントを併用することにより症例によっては再狭窄を減らし、合併症の発生する頻度も低率であると報告している。このように、ステントの短期成績は信頼に足るものであるが、長期成績に関しては4～6年間の臨床試験について報告されているにすぎない⁽⁴⁾。このため体内に永久的に残留する金属製ステントの過大評価を危惧する声もある。

必要な期間のみステントの機能を有し、その後分解し体内に吸収されるステントの開発は、1990年米国デューク大学が世界で初めて犬の大腿動脈に植え込んだ実験に始まる⁽⁵⁾。その後生体分解性ステントの有用性や可能性は報告されているが⁽⁶⁾いまだ臨床応用に至っていない。本研究の総合目的は臨床使用可能な生体分解性冠動脈ステントの開発である。

本論文では、ポリグリコール酸 (Poly(glicolic acid); 以後PGAと呼ぶ) を用いて冠動脈ステントを作製する。PGAは生体適合性に優れていることから、すでに外科用生体分解性縫合糸として広く臨床に用いられている。PGAステントをイヌおよびブタの冠動脈に植え込み、ステントの材質、形状およびステント挿入装置を評価する。ステントを植え込んだ結果は、目的部位植え込み成功率、急性期の血栓性ステント内狭窄発生率、狭窄度の計測、および新生内膜の増殖の観察等について評価し、PGAステントが臨床に使用できる可能性を検討する。

2. 実験

2.1 PGA糸の作製装置および作製方法 PGA糸を作製するための熔融紡糸機は、図1に示す縦型の小型スクリュウ押出機で、ホッパー(A)、シリンダー(B)および内径1mmのモノホールノズルを有する口金(C)から

Fig. 1 Melt spinning machine

構成される。

原料はPGA(日本ベーリンガーインゲルハイムケミカルズ製)を用い、これを熔融紡糸直前に120℃で8時間減圧乾燥する。作製手順は、PGAペレットをホッパー(A)より投入し、シリンダー(B)内で240℃に加熱圧縮した後、205℃に設定された口金(C)より押し出す。押し出された熔融物を巻き取るによりモノフィラメントを得る。このモノフィラメントをさらに60℃で4～5倍に延伸し、延伸モノフィラメントを得る。本PGA延伸モノフィラメントの直径は、市販の金属ステントのワイヤー直径100μm前後とほぼ同等の120μmである。

2.2 PGAステントの作製装置および作製方法 作製装置は、図2に模式的に示す従来の円型リリアン編み機の改良型である。その主要部を図3に示す。この編み機は所定の外径を有するテフロンチューブの外周を覆うように円筒形の平編みを構成することが可能であり、そのままヒートセットを行うことにより平編み円筒構造を固定することが可能である。

Fig. 2 Knitting machine

Fig. 3 Mainpart of knitting machine

作製手順は、外径3mmのテフロンチューブを主要部の中心の穴に通し、その回りを覆うようにPGAモノフィラメントを編み上げた後、ステントとインナーチューブを固定、単位長さ当たりのコース(段)の数を設定してヒートセットを行う。この作製方法は、所定の内空を確保し、かつ均一な平編み円筒構造体を作製することができる。これを切断および断面処理を行い、PGAステントを得る。本PGAステントの内径および長さは、市販の金属ステントとほぼ同等の内径3mmおよび長さ15mmである。

2.3 ステント挿入装置および挿入方法 ステント挿入装置は、市販の金属ステントと同様にPTCAバルーンカテーテルにステントをかぶせて作製する。図4は本ステント挿入装置の構造である。本ステント挿入装置は、PGAステント(A:Stent)を外径2mmまで縮径し、PTCAバルーンカテーテル(B:Catheter)のバルーン部にかぶせ、ステント脱落防止のため、両端をシリコンチューブ(C:Holding member)で固定して作製する。本ステント挿入装置の保存は、PGAステントの加水分解を防ぐため、エチレンオキシドガスで7時間滅菌し、15時間ガス抜きをした後、植え込み手術直前までデシケータ内で保管する。

ステントの挿入方法は市販の金属ステントに準じて以下の手順で行う。大腿動脈もしくは上腕動脈を経皮的に穿刺し、血管にシースイントロドューサーを入れる。シースの中にガイドワイヤーを入れて、さらにその中にガイドワイヤーを通して、冠動脈に挿入する。ガイドワイヤーにかぶせてステント挿入装置を目的部位まで運ぶ。図5で示すように、ステント挿入装置のバルーン部分を拡張させて、ステントとバルーン部分を分離し、ステントを血管の太さに適するまで拡張後、バルーンを収縮させ、ステント挿入装置を血管内より回収する。本ステント挿入装置は市販のPTCAバルーンカテーテルにステントをかぶせるため、市販の金属ステントと同様に、ステントを確実に血管の太さに適するまで拡張させることができる。

Fig. 4 Stent delivery system

Fig. 5 Stenting process

2.4 動物実験 適切な動物実験を行うため、本実験は動物の保護及び管理に関する法律(昭和49年、法律第105号)、動物実験の飼養及び保管等に関する基準(昭和55年、総理府告示第6号)、並びに動物実験ガイドライン草案(昭和55年、総学庶第1513号)に基づいて注意深く行っている⁽⁷⁾。

2.4.1 対象動物 対象動物としてイヌおよびブタを用いる。イヌを用いた理由は、イヌは麻酔管理および頸動脈剥離が簡単であり、体重に比し太い冠動脈が得られるためである。ブタを用いた理由は、国際的には、開発された金属ステントはまずブタに植え込まれているので、金属ステントに準じたためである。イヌは25頭、ブタは7頭使用する。

動物実験の前処理は、金属ステントに準じて、薬剤管理や消毒などを慎重に行う。全対象動物に、実験期間中は血液が凝固しないように抗凝固剤を投与し続け、ステント植え込み時は、血栓性血管閉塞を予防するため、抗血栓剤を投与する。なお動物では動脈を穿刺する際、動脈を剥離して穿刺するほうが容易であるため、経皮的には穿刺せず、剥離した頸動脈を穿刺して、血管にシースイントロドューサーを入れる。

2.4.2 狭窄の観察方法および狭窄度の測定方法 狭窄度を病変血管径の正常血管径に対する減少割合と定義する。狭窄度の測定は、X線撮影装置(VPX-20R-F、東芝医療用品製)を用い、数週おきに24週間後まで、定量的冠動脈造影法(QCA法)⁽⁸⁾で行う。なお、狭窄度の測定は、血圧を観血的に連続測定し、さらに、心電図用の電極を動物の四肢につなぎIV誘導で連続的に観察して、血圧および心電図が安定している時に行う。

2.4.3 ステント植え込み後の状態の観察方法 剖検した心臓を10%中性緩衝ホルマリン液で灌流固定する。なお、灌流圧は、実験動物の平均血圧を測定し

た結果が 12kPa (90mmHg)であったため、平均血圧に準じて 12kPa とした。ステント植え込み部位を包埋および薄切し、ヘマトキシリン・エオジン(H・E)染色およびエラストック・ワン・ギーソン(e・v・G)染色した標本(以後、病理標本とよぶ)を作製し、光学顕微鏡(BHS-323、オリンパス製)を用いて観察する。剖検は数週おきに24週間後まで行う。

3. 実験結果および考察

3.1 PGAモノフィラメントとPGAステントの力学的特性 PGAモノフィラメントを引張試験機(CATY-500BH、米倉製作所製)にて引張強度および弾性率を評価した結果、前者は 620MPa、後者は 7.3GPa であった。なお、加水分解によるPGAの力学的特性の変化は、北尾ら⁽⁹⁾がすでに報告している。

PGAステントの力学的特性については、ステントの力学的特性の測定方法が発表されているが⁽¹⁰⁾、临床上、ステントに必要な力学的特性の明確な基準値が存在しないため、測定は行わなかった。本論文では金属ステントに準じて、ステント植え込み直後の血管に十分な開存が得られれば、ステントが必要な力学的特性を有していると考えた。本供試ステントの植え込み直後の血管には、十分な開存が得られた。ゆえに強度 620MPa および弾性率 7.3GPa のPGAモノフィラメントにて平編み円筒構造を構成したステントは、必要な強度を有しているものと断定した。

3.2 ステント挿入装置の評価 ステント植え込みは、イヌ25頭およびブタ7頭の全例で成功した。全てのステントをカテーテルからの脱落、血管内での移動、折れ曲がり、ねじれ、および破損等なく、目標とする冠動脈に植え込むことに成功した。また、ステント植え込み後30分間の観察から血栓性ステント内狭窄は、全例認められなかった。ゆえに目的部位植え込み成功率は100%であり、急性期の血栓性ステント内狭窄発生率は0%である。したがって、本ステント挿入装置は、市販の金属ステントの挿入装置と同等の機能を備えていると考えられる。

3.3 狭窄の観察および測定 図6(a)および(b)は、QCA法による植え込み直後および4週間後のブタの狭窄度の測定である。図中のS、A、およびVは、ステント植え込み部位、狭窄部の最小血管径、および予測される正常血管径である。図より、ステント植え込み部位(S)に狭窄が認められる。狭窄度は、予測される正常血管径(V)と狭窄部の最小血管径(A)から算出する。一方、イヌの場合でも狭窄が認められ、冠動脈の反応に差はあるものの、同様の傾向を示した。

Fig. 6 Photographs of porcine coronary angiography at QCA method at (a) post and (b) 4 weeks after stenting

Fig. 7 Changes in %stenosis after canine coronary stenting

Fig. 8 Changes in %stenosis after porcine coronary stenting

図7および図8は、QCA法で測定したイヌおよびブタの狭窄度の推移である。前章の2.4.2節で述べたように、ブタの冠動脈の造影は、イヌと同様に24週間後まで行う予定であったが、ステント植え込み前、直後に冠動脈を造影し、追跡冠動脈造影は4週間後までとした。これは4週間後のブタの体重が40kgを越えてしまい、使用したX線撮影装置では皮下脂肪の増大によりこれ以後の血管造影が不可能であったためである。さらにブタは4週間後の狭窄度が高く、狭窄度の推移から5週目

以降も4週目までと有意差が認められないと考え、4週間後の血管造影後、全例剖検を行った。図7および図8より、狭窄度は植え込み直後に急激に増加し、2週間後から4週間後で最高値を示し、その後は変化が認められないことがわかる。ここで狭窄度50%を再狭窄と定義づけると、ブタの再狭窄発生率は100%である。同一ステントを植え込んでも動物種間で狭窄度が異なることがわかる。

狭窄の発生原因は、冠動脈の造影では探ることができないため、植え込み部位を光学顕微鏡にて観察した。図9(a)および(b)は、植え込み4週間後および24週間後のイヌの病理標本である。図中のS、N、M、およびLはそれぞれステントの切断面、新生内膜、ステントを植え込む前の血管壁、および血液が通っていた所である。図(a)より、4週間後のステントは新生内膜により完全に覆われていることがわかる。図(b)より24週間後にステントが完全に消滅していることがわかる。図10(a)および(b)は植え込み2週間後および4週間後のブタの病理標本である。図9と同様に、図中のS、N、M、およびLはそれぞれステントの切断面、新生内膜、ステントを植え込む前の血管壁、および血液が通っていた所である。図より、新生内膜(N)の部分が非常に大きいことがわかる。すなわち図は新生内膜が過度に増殖したことを示している。さらに図より、血管の中心部に向けてステントが不規則に移動していることもわかる。同一ステントを植え込んでも動物種間で冠動脈の応答が極めて異なることがわかる。

狭窄度が高い原因を病理標本の観察より検討した結果、新生内膜の過増殖であることがわかった。さらに拡張したステントによる損傷した痕が血管壁に数箇所認められた。一般に血管壁に与えられた損傷はその性質にかかわらず組織反応として新生内膜増殖をおこし、それが過剰となった場合には再狭窄に至ることがわかっている⁽¹¹⁾。しかし、本研究では損傷した血管の修復が過度の新生内膜増殖の原因ではないと思われた。それは血管修復過程では、損傷した箇所は、他の箇所に比べて著しい内膜増殖を生じるが、ブタの病理標本では均一に内膜が増殖しているからである。図10(a)で注目すべきは、血管壁を内側から支えていたステントが、植え込みから2週間後に血管の中心部に向かって不規則に移動している点である。ブタの冠動脈はステントに対し強い異物反応を起こし、それに伴い新生内膜が増殖している。そのときすでに分解によって力学的強度が低下したステントは、増殖する新生内膜に押され血管の内側に移動したと考えられた。この異物反応とステントの移動が再狭窄の原因であると結論づけた。

Fig. 9 Microphotographs of cross section of canine coronary segment ($\times 5$ e.v.G)
L=lumen, M=media, N=neointima, S=stent strut

Fig. 10 Microphotographs of cross section of porcine coronary segment ($\times 5$ e.v.G)
L=lumen, M=media, N=neointima, S=stent strut

4. 結 論

生体分解性PGAステントを、イヌおよびブタの冠動脈に植え込み、目的部位植え込み成功率、急性期の血栓性ステント内狭窄発生率、狭窄の観察等から以下の結果を得た。

1. すべてのステントを目標とする冠動脈に植え込むことに成功し、ステント植え込み直後の血管には十分な開存が得られた。また急性期の血栓性ステント内狭窄は、全例認められなかった。
2. 同一ステントを植え込んでも動物種間(イヌとブタ)では異物反応に大きな差があった。
3. ブタの再狭窄発生率は100%であった。
4. PGAの分解速度が高いために、ステントの力学的強度が短期間で低下し、ステントは血管中央部に移動する。

上記の結果から、ステントの材質、形状、およびステント挿入装置について、以下の知見を得た。

1. 平編み円筒構造は、ステント植え込み直後の血管には十分な開存が得られたため、ステントに必要な構造体としての力学的特性を備えている。
2. 本供試ステントの挿入装置は、すべてのステントを目標とする冠動脈に植え込むことに成功したため、ステント挿入装置に必要な機能を備えている。
3. 本供試ステントの材質であるPGAは、ブタに対しては強い異物反応を惹起し分解速度が高いため、ステントの材料としては不相当である。

上述の知見は、新たにPGAに比べ分解速度の低い生体分解性ポリマーを材料としたステントを作製し、新生内膜の増殖の観点から比較検討することが必要であることを示唆している。

謝 辞

本実験にあたりご協力を賜った滋賀成人病センターの玉井秀男博士に心から謝意を表します。

文 献

- (1) Grunzig A et al., Nonoperative dilation of coronary artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty, *New England J. of Medicine*, 301 (1979), 61-68.
- (2) Ellis S et al., Angiographic and clinical predictor of acute closure after native vessel coronary angioplasty, *Circulation* 77(1988), 372-379.

- (3) Fishman D et al., A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease, *New England J. of Medicine*, 331(1994), 496-501.
- (4) Laham R et al., Long-term (4 to 6 Year) outcome of Palmaz-Schatz Stenting: Paucity of late clinical Stent-related problems, *J. of American College of Cardiology*, 28(1996), 820-826.
- (5) Chapman G et al., A Bioabsorbable Stent Initial Experimental result (abstract), *Circulation* 82 (1990), III-72.
- (6) Labinaz M et al., Biodegradable Stent: The Future of Interventional Cardiology?, *J. of Interventional Cardiology*, 8, No.4(1995), 395-405.
- (7) 厚生省薬務局審査課, 医薬品G L P解説, 1995, 297-309, 薬事日報社.
- (8) David K et al., Comparative Validation of Quantitative Coronary Angiography Systems, *Circulation* 91 (1995), 2174-2183.
- (9) 北尾・木村・小西・荒木・杉山・相宅, ポリグリコール酸の溶融紡糸及び加水分解, 高分子論文集, Vol.41 No.12 (1984), 717-725.
- (10) David K et al., Comparative quantitative mechanical, radiographic, and angiographic analysis of eight coronary stent designs, *Coronary stenting*, Chapter 17 (1995), 243-271.
- (11) Giessen W et al., Coronary stenting with a new, radiopaque, balloon-expandable endoprosthesis in pigs, *Circulation* 83(1991), 1788-1798.