

繊維性スキャフォールドの配向制御技術を用いた小口径人工血管の開発

Development of the Small-Caliber Artificial Vascular Graft with Structural Design of Fibrous Scaffold

○ 和田知明(電機大院・理工) 野口展士(電機大院・先科技) 野中一洋(McGowan Inst. Univ. Pittsburgh)

幡多徳彦(電機大・フロンティア共研セ) 舟久保昭夫(電機大院・理工)

Tomoaki WADA, Grad. Sch. Sci. Eng. Tokyo Denki Univ. Hiroo NOGUCHI, Grad. Sch. Adv. Sci. Tech. Tokyo Denki Univ.  
 Kazuhiro NONAKA, McGowan Inst. Univ. Pittsburgh Norihiko HATA, FRDC. Tokyo Denki Univ.  
 Akio FUNAKUBO, Grad. Sch. Sci. Eng. Tokyo Denki Univ.

**Abstract:** Recently, it commands attention to the development of the small-caliber artificial vascular grafts for coronary-artery bypass surgery, revascularization surgery and so on. But it is difficult to develop the small-caliber artificial vascular grafts because it will make a thrombus after implant into patient. Therefore, the new apparatus was developed to fabricate the small-caliber artificial vascular grafts with electrospinning in this study. First, the multi electrode electrospinning was developed that enables to control orientation of the scaffolds. The four kinds of cell culture surface are random, oriented angle 0°, 60° and 90°. In orientation angle 0°, the endothelial cells were covered most quickly. Next, we tried to orient the fibrous scaffolds in the direction of long axis of artificial vascular grafts. Last, the trilaminar structural artificial vascular grafts were fabricated as shown in Fig. 14.

**Key Words:** Small-caliber artificial vascular grafts, Electrospinning, Segmented polyurethane, Endothelial cells

1. 研究背景

現在、膝部以下の閉塞性動脈硬化症の血行再建手術や、適切な自己グラフトを持たない患者の冠動脈バイパス手術のグラフトとして、長期開存性に優れた小口径人工血管の開発が切望されている。しかしながら、内径6mm未満の小口径人工血管では、血栓閉塞や新生内膜肥厚による閉塞が起こり、現在まで優れたものは開発されていない。近年は自身の内皮細胞を人工血管の内面に速やかに覆うことで閉塞を防ぐ方法や、移植後に人工血管を自己の組織にリモデリングさせる方法などが考えられている。

2. 目的

人工血管が内皮化、更にはリモデリングするには生体親和性の良好な足場(スキャフォールド)が求められる。足場のデザインには構造・材料・表面修飾などの因子が重要である。本研究では生体血管の持つ構造が三層構造という点に着目し、細胞の移動・増殖に適した構造を明らかにし、生体親和性の良好な構造を有する人工血管を作製するための新たなエレクトロスピニング装置の検討を目的とした。

3. 実験

3-1 繊維性スキャフォールドの配向制御

細胞の移動・増殖に適した構造を定量的に評価するため、はじめにセグメント化ポリウレタンを材料に幾何学的構造を有する繊維性スキャフォールドの作製を試みた。本実験において用いた多陰極エレクトロスピニング法の概要を Fig. 1 に示す。

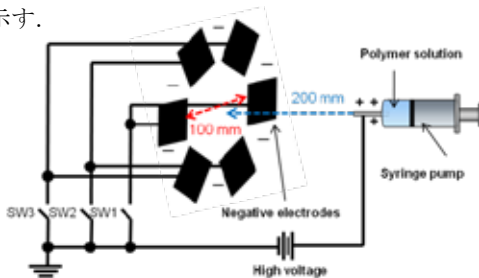


Fig. 1 Apparatus of electrospinning with multi electrodes

多陰極エレクトロスピニング法の特徴は、コレクタの代わりに同サイズの陰極板を6枚使用し、中心角60°おきに配置した。また、対となる陰極板(計3対)を其々スイッチSW1, SW2, SW3によって任意にアース接続可能とした。これにより、コレクタ上に繊維を堆積するのではなく、陰極間に繊維を配向させること、更には配向角60°からなる幾何学的構造が作製可能か検討した。また、陰極板の形状を四角形と円形の2種類、更にはSWを全てONとして15分間エレクトロスピニングした場合と、各SWを順次切り替えて15分間エレクトロスピニングした場合(SW1...5分, SW2...5分, SW3...5分)において、得られた繊維の配向角度を算出し、その結果から、スキャフォールドの構造制御に適した条件を導いた。Fig.2 に作製したスキャフォールドの光学顕微鏡画像を、Fig.3 に繊維配向角度頻度分布図を示す。

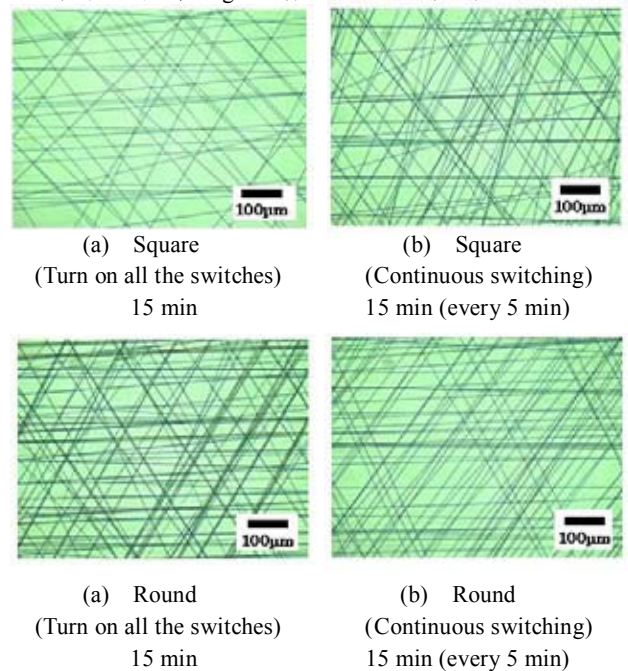
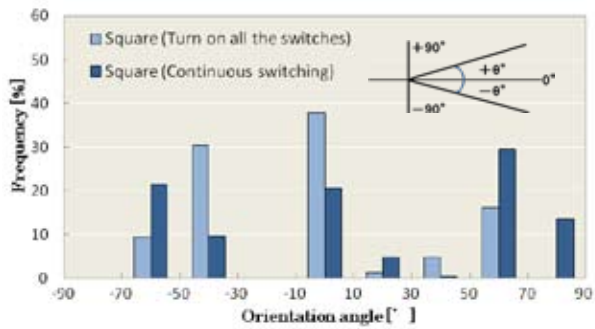
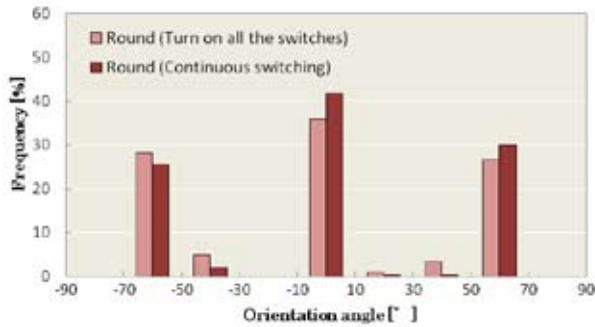


Fig. 2 Fibrous scaffolds of orientation angle 60°



(a) Squar negative electrodes



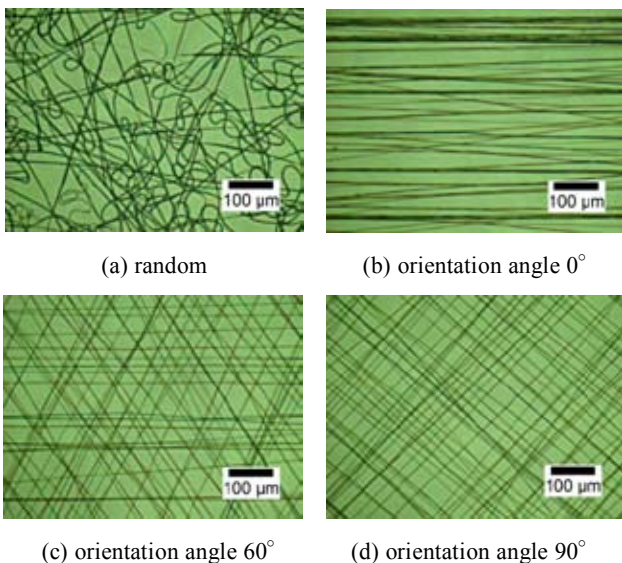
(b) Round negative electrodes

Fig. 3 Frequency distribution of fibers orientation angle

Fig.3 より, 陰極板を中心角  $60^\circ$  おきに配置したため, 各条件において繊維配向角度の頻度は  $-70^\circ$   $-50^\circ$ ,  $-10^\circ$   $-10^\circ$ ,  $50^\circ$   $-70^\circ$  の範囲において高いことが読み取れる. また, これら 3 つの領域の全体に占める割合を算出したところ, 円形の陰極板を用いてアース接続を順次切り替えた場合に 95% と最も高い値を示した. したがって, この条件が繊維性スキャフォールドの構造制御に最も適した条件とした.

### 3-2 細胞の移動・増殖に適した構造の検討

以上の結果をもとに Fig.4 に示すような配向角  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $60^\circ$  のスキャフォールド, 更にランダムなスキャフォールドを作製し, ガラス基材に固定して, 細胞培養面を作製した.



(c) orientation angle  $60^\circ$  (d) orientation angle  $90^\circ$

Fig. 4 Images of cell culture surface with scaffolds

そして, 細胞培養によるスキャフォールドの構造評価を行うために各培養面をシャーレに固定し, シリコンの筒を培養面の上に乗せ, その中に細胞懸濁液 (マウス血管内皮腫様細胞: RCB1994:UV♀2) を播種し, 細胞が培養面に定着したのを確認後, 筒を外して集団細胞の島を作製した. 更に, 培養プロセス観察システムを用いて 10 分間隔のタイムラプス撮影を 7 日間行い, 集団細胞の一軸方向への移動の様子を観察した (Fig. 5). その結果を Fig.6 に示す.

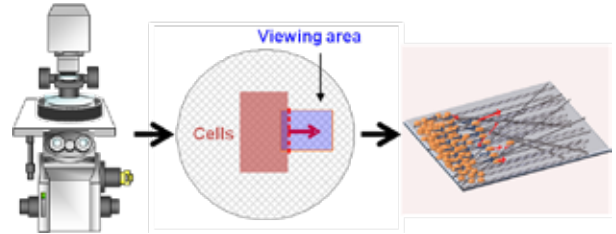


Fig. 5 Observation of cell behaviors

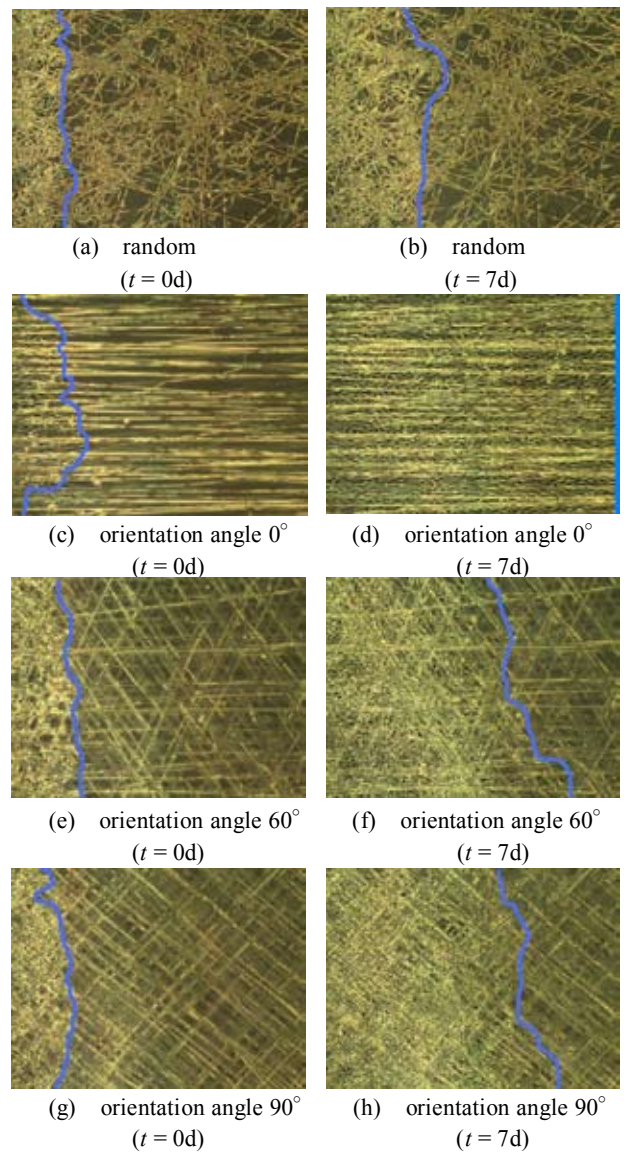


Fig. 6 Covering process of endothelial cell

また, この結果を定量的に評価するため, 細胞被覆率の変化を Fig.7 に, 細胞被覆面積増加速度の変化を Fig.8 に示した.