

4章 総合考察

ステントなどの血管内に使用するデバイスには様々なものがあるが、デバイスを異物として生体が認識することで異物反応が起こり、血栓形成や炎症反応が起こることが問題となっている。今回ターゲットとした血管内留置型デバイスである冠動脈ステントでも留置後に血栓症や再狭窄を予防することが課題としてある。金属ステント BMS では炎症反応が続き細胞の過剰増殖により再狭窄が起こることが多かった。これを解決するために登場した薬剤溶出ステント DES は細胞増殖を抑える薬剤が塗布されており、再狭窄を劇的に減少させた。しかしながら、ステントが細胞で被覆されないことで遅発性血栓症が起こるようになった。遅発性血栓症を防ぐためには長期的な抗血小板 2 剤併用療法が必要となったが、出血性合併症を引き起こすことが問題である。近年、留置後数年でステントが生体に吸収される生体吸収性ステントが開発され使用され始めたが、金属と異なりスキュフォールドが厚いため血栓症が増加したとの報告もある(13)。

本研究では、バイオマテリアルとしてよく使われる SUS316L に F-DLC 膜をコーティングすることで、F-DLC 膜のバイオマテリアルとしての医学的な評価を行なった。評価方法としては血小板だけでなく、白血球や HUVEC も用いることで、抗血栓性、炎症性、細胞増殖性について多面的な評価を行なった。

F-DLC 膜の特性

DLC 膜は sp^2 結合と sp^3 結合が混在したアモルファス構造の膜である。DLC 膜の生成には、subplantation によるプロセスと化学的なプロセスがある(29)。プラズマにより生成されたイオンが膜内部へ侵入することを subplantation といい、これにより局所的にイオンの密度が高くなり sp^3 結合を形成する。その後リラクゼーション効果により sp^2 結合に移行するというのが subplantation モデルである。subplantation の他に表面に存在するダングリングボンドが関係するプロセスがある。ダングリングボンドとは原子の未結合手のことであり、炭素ネットワークの終端や膜表面にはダングリングボンドが存在する (Fig.20)。また CH 結合の H に対してラジカルが攻撃し H を引き抜くことでダングリングボンドを形成する。このダングリングボンドに C または H が結合することで膜が成長していく。F-DLC 膜ではフッ素を添加することで、フッ素イオンが侵入したり F がダングリングボンドに結合したりしながら、CH 結合だけでなく CF 結合、 CF_2 結合を形成し成長すると考えられる (Fig.20)。

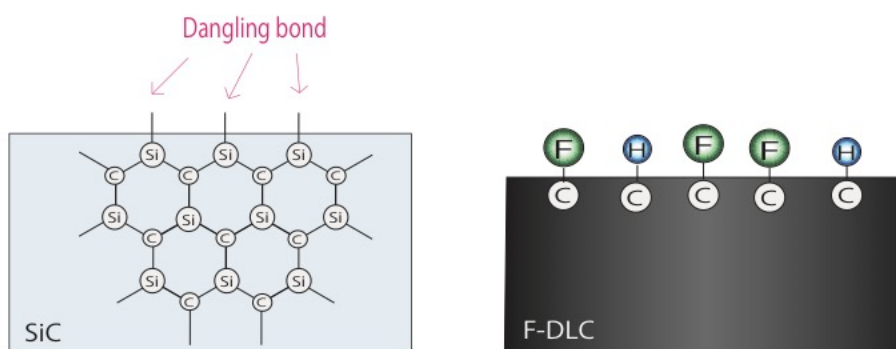


Fig. 20 Diagram of SiC and F-DLC. The surface atoms of a covalent solid have dangling bond like the SiC surface. The surfaces of F-DLC reduce the dangling bonds by created C-F and C-H bonds.

一般的に a-C:H 膜（水素含有 DLC 膜）は CH 結合により膜表面にダングリングボンドはほとんどなく、安定している。F-DLC 膜でも CH 結合の他に CF 結合も存在し、ダングリングボンドはなく安定していると考えられる。また、CF 結合は CH 結合に比べ、結合エネルギーが高く、より安定していると考えられる。

DLC 膜にフッ素を添加すると表面エネルギーが低くなり疎水性になる(84)。また、F-DLC 膜は最表面にフッ素が多く含まれており、深くなるにつれフッ素の量が減少することが XPS による分析からわかっている(85)。F-DLC 膜表面には CF 結合が存在しており、電気陰性度の高いフッ素を持つ CF 結合は強く分極していると考えられる。極性を持つものは一般的に親水性であることが多く、CF 結合の強い極性だけを見ると親水性になると予想される。しかしながら、テフロン加工などに代表されるフッ素コーティングは一般的に疎水性を示すことが知られている。これは C-F のフッ素原子同士の立体障害と静電反発によりらせん構造をとるなどして双極子を打ち消すように配向するためであり、それにより極性が低くなり疎水性表面になると長谷川らは考察した(86)。また、フッ素を含むポリイミドは物質全体では疎水性を示すが、表面に電子に富んだフッ素が配向するため負電荷に覆われており、アルブミンとフィブリノゲンの吸着を抑制するとの報告がある(45, 46)。F-DLC 膜表面もフッ素の影響で負電荷に覆われているが、接触角が大きく全体としては疎水性となっていると予想される。F-DLC 膜はアモルファスであり、膜表面の CF 基もランダムに配向していると考えられるが、フッ素原子の極性を打ち消すように CF 基が配向することで疎水性となっているのかもしれない。また、強い CF 結合により表面エネルギーが低下することは疎水性表面になる一因であろう。しかしながら、極性の高いフッ素がありつつも、なぜ全体として疎水性になるのかについては、詳細な膜表面の構造を解明することが必要である。

F-DLC 膜表面は高い電気陰性度を持つフッ素の存在により負電荷に覆われていると考えられる。一般的に生体の細胞膜表面は陰性電荷に覆われていると言われており、フッ素の陰性荷電は血小板や白血球などの様々な細胞の接着を抑制する可能性がある。また、血漿タンパクであるフィブリノゲンは血小板の接着を促進する。フィブリノゲンは生体内において陰性に荷電しており、F-DLC 膜はフィブリノゲンの吸着を抑制することで血小板の接着を抑制したと考えられる (Fig.21)。

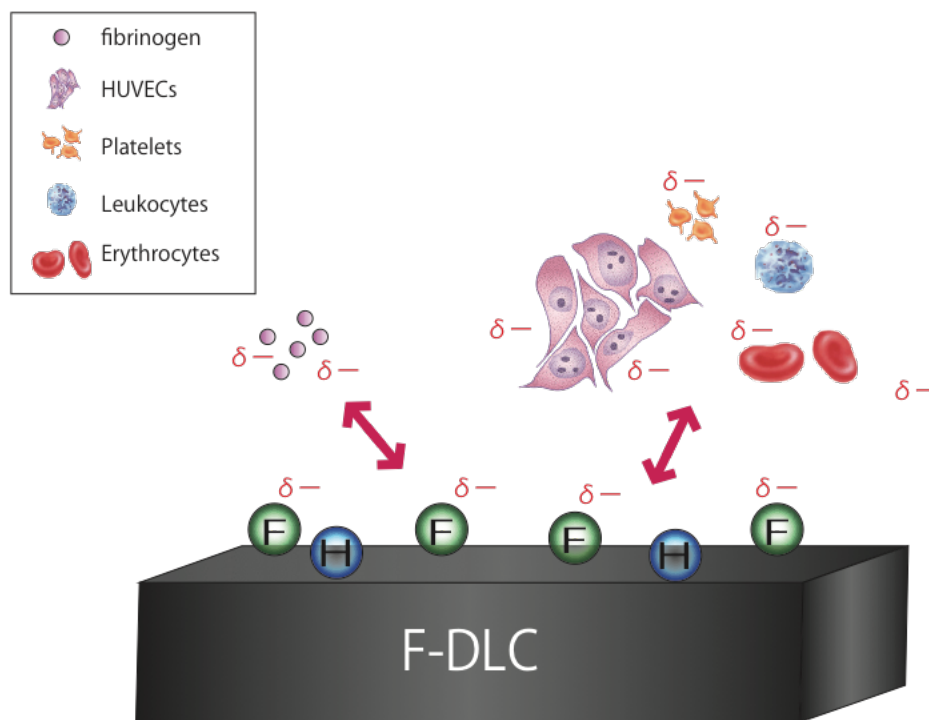


Fig.21 Diagram of charge on F-DLC membrane. Negative charges on the F-DLC membrane surface repulsion with fibrinogen and cell surfaces.

F-DLC 膜の抗血栓性

F-DLC 膜は血小板接着数を減少させ、血小板表面抗原である CD62P の発現を抑制した。血管内に留置したステント上に血小板が付着すると、その後血栓となり血栓症が起こる可能性がある。また、CD62P の発現は血小板の活性化を表しており、血栓形成を促進する。BMS 留置後に CD62P 陽性細胞が存在すると、炎症細胞の存在も認められている(87)。CD62P の活性が高い患者では再狭窄しやすいという臨床研究も報告されている(88, 89)。これは CD62P 活性化による白血球の活性化が炎症を惹起し、細胞が過剰増殖したため再狭窄が起こったと考えられる。F-DLC コーティングステントは血小板接着抑制により血栓症を予防し、CD62P 発現を抑制することでステント留置後の炎症反応を抑制し再狭窄を防ぐことが期待できる。

F-DLC 膜の抗炎症性

F-DLC 膜は好中球の接着を抑制した。白血球の接着は炎症反応の始まりであり、接着を抑制することでその後続く白血球の遊走・浸潤を抑えることができる。白血球の膜表面は負電荷を帯びており、電気陰性度の高い F が存在する F-DLC 膜表面と反発し、接着しにくくなっていると思われる (Fig.21)。

DLC 膜を SUS 表面にコーティングすると、SUS からの金属イオンの溶出を抑制することがわかっている(66)。SUS はニッケルを含み、ニッケルなどの金属イオンは白血球や血管内皮細胞の ICAM-1、VCAM-1、E-selectin を活性化する(83)。ニッケルイオンの存在は白血球と血管内皮細胞の接着を促進し、炎症反応のカスケードとなる(90)。F-DLC 膜は表面のフッ素含有量が深く、深くなるにつれフッ素の含有量が減る(85)。つま

り、DLC 膜と F-DLC 膜では最表面の構造は異なるが深部では似た構造をしており、F-DLC 膜も DLC 膜と同様にイオン溶出を防止できると考えられる (Fig.22)。イオン溶出を抑えることで抗炎症作用が期待でき、炎症によるステント留置後の再狭窄を予防しうる。

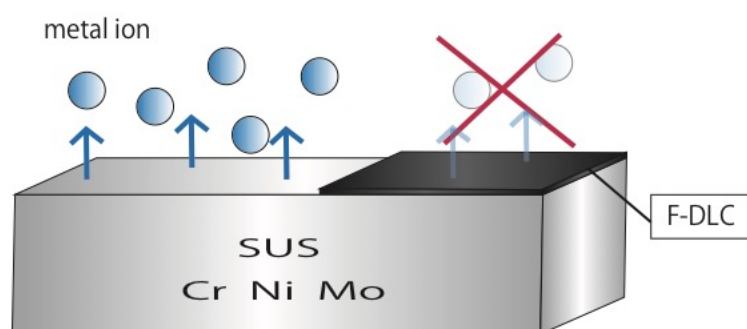


Fig.22 Diagram of corrosion from SUS and F-DLC. SUS release high concentrations of metal ions while metal ions released from F-DLC reduce.

ステントとしての評価

本研究では vitro で実験を行っており、実際に生体内でどのようになるかはわかっていない。しかしながら、ミニブタを用いた実験において、F-DLC ステントと BMS を外腸骨動脈、内腸骨動脈に留置した場合の比較は行われており、外腸骨動脈、内腸骨動脈ともに BMS に比べて F-DLC ステントは狭窄率が減少していた (補足資料 P.15) (78)。また、ミニブタの冠動脈と腸骨動脈に F-DLC ステントと DES を留置する長期比較試験 (6 ヶ月) も行っており、DES の狭窄率は慢性的に上昇するが F-DLC ステン

トでは狭窄率が徐々に低下していくことを確認しており(78)、F-DLC ステントの BMS だけでなく DES に対する有用性も期待されている。

ステントとして生体内に留置した場合、長期にわたり膜が安定であることが必要となる。F-DLC 膜の加速試験では、問題となるような劣化は認められなかった(28)。

なお、DLC ステントと BMS (SUS) を比較した臨床試験では、心血管イベント発生率や狭窄率に特に有意差は認められず、DLC ステントの BMS に対する優越性は証明できなかった(91)。in vitro 実験において DLC 膜と F-DLC 膜の抗血栓性を比較した報告は多数あり、F-DLC 膜は DLC 膜よりも血小板の接着を抑制し抗血栓性を有すると考えられている(22)。また、ミニブタの実験においても BMS よりも F-DLC ステントの方が狭窄率を減少させたことより(78)、F-DLC ステントが BMS よりも優越性を持つ可能性がある。

以上の結果より、F-DLC コーティングしたステントは血栓形成を抑制する抗血栓性を有し、炎症反応を抑制することで再狭窄を抑制できることが示唆された。F-DLC コーティングが血小板の接着を抑制し抗血栓性を発揮することは知られていたが、本研究により血小板の接着だけでなく表面抗原 CD62P の発現も抑制していることが明らかとなった。また、炎症に関与する好中球の接着に対する F-DLC コーティングの影響については今まで知られていなかったが、本研究により好中球の接着を抑制することが明らかとなり、F-DLC コーティングが抗炎症性を発揮することが示唆された。F-DLC コーティングが抗血栓性だけでなく抗炎症性も発揮することは、F-DLC コーティングが高い生体適合性を有することを示しており、血液と接触するバイオマテリアルへの応

用が期待できる。しかしながら細胞の接着をも抑制してしまうことが明らかとなり、細胞によるマテリアルの被覆が遅れ、組織とバイオマテリアルとの一体化を遅らせる一因となってしまうことが示唆された。また、F-DLC 膜は低摩擦性の膜であることが知られており抗血栓性も併せ持つことより、体内に留置する血管内ステントや留置カテーテルなどのデバイスだけでなくガイドワイヤーやカテーテル表面にも応用する。

第二世代 DES の登場で最狭窄の問題はなくなり、抗血小板薬の投与を行うことで遅発性血栓症の問題も少なくなった。薬剤をコーティングしていない金属ステント (Bare metal stent; BMS) よりも再狭窄率の低い DES は広く使用されているが (補足資料 P.17)、DES にコーティングされている薬剤の影響で血管組織の変性が起こっている危険性や長期にわたる 2 剤抗血小板薬による出血リスクがある。F-DLC コーティングステントは抗炎症性を発揮するため、DES のように薬剤を使用することなく再狭窄率を低下することが期待できる。また、抗血栓性を有すため抗血小板薬の長期服用を必要としない理想的なステントになると考えている。F-DLC コーティングステントが登場することで、BMS を使用している症例だけでなく DES を使用している症例をも F-DLC コーティングステントへと移行できると考えている。しかしながら本研究では基盤として SUS を使用したが、現在ステントの金属素材としては Co-Cr が主流となっている。Co-Cr は SUS に比べて厚みを薄くしても強度が保てるため、より薄いステントを作ることができる。ステントの支柱であるストラットの厚みが大きいと血管壁の損傷の増大を引き起こし再狭窄につながる。今後市場で F-DLC コーティングステントが受け入れられるためには Co-Cr へのコーティングが必要である。それに伴い、Co-Cr へのコーティング条件の検討および F-DLC コーティングと Co-Cr との比較が必要である

う。本研究により、F-DLC コーティングが血管内皮細胞の被覆を遅らせてしまう可能性が示唆された。これを解決するために、表面に VEGF などの細胞増殖因子などを塗布することで細胞による被覆を促進することも視野にいれた方がよいだろう。しかし、虚血性心疾患の患者は血管が炎症を起こした状態であり細胞増殖が亢進しており、F-DLC コーティングによる細胞接着抑制は過剰な細胞増殖を抑制できるかもしれない。

バイオマテリアルが血液と接触する際にはタンパクの吸着が強く関与する。本研究では血漿タンパクの評価を行っていないが、血漿タンパク存在下での比較も必要になると思われる。どちらがより生体内を模しているのかは、in vivo 実験の結果と比較することが必要である。また、F-DLC 膜表面の分析は疎水性（接触角、表面自由エネルギー）や XPS、ラマンなどが行われているが、分子の状態などをより調査し、膜の構造や性質を知る必要があると考える。なお、本研究では医療機器として使用される SUS と F-DLC との比較を行なったが、金属にコーティングした DLC と F-DLC との比較をし、フッ素を添加することの優位を確認する必要がある。

本研究では DLC 膜にフッ素を添加した F-DLC 膜が抗血栓性だけでなく、高い血液適合性・生体適合性を持つことを明らかにした。今後の医療機器における応用が期待される。

引用文献

1. P. W. Serruys *et al.*, A Comparison of Balloon-Expandable-Stent Implantation with Balloon Angioplasty in Patients with Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* **331**, 489-495 (1994).
2. D. L. Fischman *et al.*, A Randomized Comparison of Coronary-Stent Placement and Balloon Angioplasty in the Treatment of Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* **331**, 496-501 (1994).
3. M. Nobuyoshi *et al.*, Restenosis after successful percutaneous transluminal coronary angioplasty: serial angiographic follow-up of 229 patients. *J Am Coll Cardiol* **12**, 616-623 (1988).
4. D. S. Baim *et al.*, Final results of a randomized trial comparing the MULTI-LINK stent with the Palmaz-Schatz stent for narrowings in native coronary arteries. *Am J Cardiol* **87**, 157-162 (2001).
5. R. A. Byrne, M. Joner, A. Kastrati, Stent thrombosis and restenosis: what have we learned and where are we going? The Andreas Grüntzig Lecture ESC 2014. *Eur Heart J* **36**, 3320-3331 (2015).
6. M. Valgimigli *et al.*, Two-Year Outcomes After First- or Second-Generation Drug-Eluting or Bare-Metal Stent Implantation in All-Coroner Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention: A Pre-Specified Analysis From the PRODIGY Study (PROlonging Dual Antiplatelet Treatment After Grading

- stent-induced Intimal hyperplasia study). *JACC: Cardiovasc Intervent* **7**, 20-28 (2014).
7. M. Taniwaki *et al.*, Mechanisms of Very Late Drug-Eluting Stent Thrombosis Assessed by Optical Coherence Tomography. *Circulation* **133**, 650-660 (2016).
 8. E. P. McFadden *et al.*, Late thrombosis in drug-eluting coronary stents after discontinuation of antiplatelet therapy. *Lancet* **364**, 1519-1521 (2004).
 9. J. Daemen *et al.*, Early and late coronary stent thrombosis of sirolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents in routine clinical practice: data from a large two-institutional cohort study. *Lancet* **369**, 667-678 (2007).
 10. G. N. Levine *et al.*, 2016 ACC/AHA Guideline Focused Update on Duration of Dual Antiplatelet Therapy in Patients With Coronary Artery Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation* **134**, 123-155 (2016).
 11. S. Fuke *et al.*, Impaired endothelial vasomotor function after sirolimus-eluting stent implantation. *Circ J* **71**, 220-225 (2007).
 12. M. Hamilos *et al.*, Interference of Drug-Eluting Stents With Endothelium-Dependent Coronary Vasomotion. *CLINICAL PERSPECTIVE. Circ: Cardiovasc Intervent* **1**, 193-200 (2008).
 13. 田邊健吾, 生体吸収性スキャフォールドへの期待と問題点. *日本冠疾患学会雑誌* **22**, 60-63 (2016).
 14. D. F. Williams, On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials* **29**, 2941-2953 (2008).

15. R. Hauert, A review of modified DLC coatings for biological applications. *Diam Relat Mater* **12**, 583-589 (2003).
16. R. K. Roy, K. R. Lee, Biomedical applications of diamond-like carbon coatings: a review. *J Biomed Mater Res B App Biomater* **83**, 72-84 (2007).
17. P. A. Nistor, P. W. May, Diamond thin films: giving biomedical applications a new shine. *J R Soc Interface* **14**, (2017).
18. 大平晃也, DLC 膜の特性とその応用 (特集 環境対応)--(環境対応商品/技術). *NTN technical review*, 87-93 (2009).
19. T. Saito *et al.*, Antithrombogenicity of fluorinated diamond-like carbon films. *Diam Relat Mater* **14**, 1116-1119 (2005).
20. T. Hasebe *et al.*, Fluorine doping into diamond-like carbon coatings inhibits protein adsorption and platelet activation. *J Biomed Mater Res Part A* **83A**, 1192-1199 (2007).
21. Y. Yoshimoto *et al.*, Human Umbilical Vein Endothelial Cell Interaction with Fluorine-Incorporated Amorphous Carbon Films. *Jpn J Appl Phys* **51**, 090129 (2012).
22. T. Hasebe *et al.*, Fluorinated diamond-like carbon as antithrombogenic coating for blood-contacting devices. *J Biomed Mater Res Part A* **76A**, 86-94 (2006).
23. 伴雅人, ナノ構造化による DLC 膜の耐久性向上. *表面技術* **58**, 23-23 (2007).

24. P. D. Maguire *et al.*, Mechanical stability, corrosion performance and bioresponse of amorphous diamond-like carbon for medical stents and guidewires. *Diam Relat Mater* **14**, 1277-1288 (2005).
25. C. Schwarz, J. Heeg, M. Rosenberg, M. Wienecke, Investigation on wear and adhesion of graded Si/SiC/DLC coatings deposited by plasma-enhanced-CVD. *Diam Relat Mater* **17**, 1685-1688 (2008).
26. T. Hasebe *et al.*, Design for improved adhesion of fluorine-incorporated hydrogenated amorphous carbon on metallic stent: Three-layered structure with controlled surface free energy. *Diam Relat Mater* **20**, 902-906 (2011).
27. D. Tsubone, T. Hasebe, A. Kamijo, A. Hotta, Fracture mechanics of diamond-like carbon (DLC) films coated on flexible polymer substrates. *Surf Coat Tech* **201**, 6423-6430 (2007).
28. S. Maegawa *et al.*, Time course analysis of antithrombogenic properties of fluorinated diamond-like carbon coating determined via accelerated aging tests: Quality control for medical device commercialization. *Diam Relat Mater* **70**, 33-38 (2016).
29. J. Robertson, Diamond-like amorphous carbon. *Mater Sci Eng R* **37**, 129-281 (2002).
30. R. d'Agostino, R. Lamendola, P. Favia, A. Giquel, Fluorinated diamondlike carbon films deposited from radio-frequency glow discharge in a triode reactor. *J Vac Sci Tech A: Vac Surf Films* **12**, 308-313 (1994).

31. M. Butler, R. Buss, A. Galuska, Properties of micrometer-thick plasma-polymerized tetrafluoroethylene films. *J appl phys* **70**, 2326-2332 (1991).
32. K. Endo, T. Tatsumi, Fluorinated amorphous carbon thin films grown by plasma enhanced chemical vapor deposition for low dielectric constant interlayer dielectrics. *J Appl Phys* **78**, 1370-1372 (1995).
33. S. Agraharam, D. W. Hess, P. A. Kohl, S. A. Bidstrup Allen, Plasma chemistry in fluorocarbon film deposition from pentafluoroethane/argon mixtures. *J Vac Sci Tech A: Vac Surf Films* **17**, 3265-3271 (1999).
34. K. P. Huang, P. Lin, H. C. Shih, Structures and properties of fluorinated amorphous carbon films. *J Appl Phys* **96**, 354-360 (2004).
35. T. Hoshida *et al.*, Controlling the adhesion between diamond-like carbon (DLC) film and high-density polyethylene (HDPE) substrate. *Surf Coat Tech* **202**, 1089-1093 (2007).
36. S. Tanuma, Graphite Intercalation Compounds. Variety of Species and Peculiar Behavior of Intercalants. *TANSO* **145**, 311-326 (1990).
37. T. Nakajima, Fluorine- Graphite Intercalation Compounds. The Synthesis, Structures, and Physical and Chemical Properties. *TANSO* **145**, 295-310 (1990).
38. Y. Sato, K. Itoh, R. Hagiwara, T. Fukunaga, Y. Ito, On the so-called “semi-ionic” C–F bond character in fluorine–GIC. *Carbon* **42**, 3243-3249 (2004).
39. T. Isshiki, F. Okino, Y. Hattori, S. Kawasaki, H. Touhara, Structural Studies of Graphite Intercalation Compounds of Fluorine by Transmission Electron Microscopy. *TANSO* **175**, 279-285 (1996).

40. B. Savage, E. Saldívar, Z. M. Ruggeri, Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor. *Cell* **84**, 289-297 (1996).
41. K. B. Neeves *et al.*, Flow-dependent thrombin and fibrin generation in vitro: opportunities for standardization: communication from SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* **12**, 418-420 (2014).
42. P. Sundd *et al.*, 'Slings' enable neutrophil rolling at high shear. *Nature* **488**, 399 (2012).
43. J. Y. Park, C. H. Gemmell, J. E. Davies, Platelet interactions with titanium: modulation of platelet activity by surface topography. *Biomaterials* **22**, 2671-2682 (2001).
44. L. B. Koh, I. Rodriguez, S. S. Venkatraman, The effect of topography of polymer surfaces on platelet adhesion. *Biomaterials* **31**, 1533-1545 (2010).
45. 川上浩良, 長岡昭二, 窪田倭, 化学構造が異なる新規含フッ素ポリイミド膜のガス交換能と血液適合性に関する基礎研究. *人工臓器* **25**, 427-431 (1996).
46. 神宮啓介, 川上浩良, 長岡昭二, 含フッ素ポリイミド膜が有するタンパク質の吸着抑制効果について. *人工臓器* **27**, 250-253 (1998).
47. L. Vroman, A. L. Adams, Findings with the recording ellipsometer suggesting rapid exchange of specific plasma proteins at liquid/solid interfaces. *Surf Sci* **16**, 438-446 (1969).
48. L. Vroman, A. L. Adams, Identification of rapid changes at plasma-solid interfaces. *J Biomed Mater Res* **3**, 43-67 (1969).

49. L. Vroman, A. Adams, G. Fischer, P. Munoz, Interaction of high molecular weight kininogen, factor XII, and fibrinogen in plasma at interfaces. *Blood* **55**, 156-159 (1980).
50. 石原一彦, ナノバイオエンジニアリングマテリアル. (Frontier Publishing, Japan, 2004).
51. S. Guha Thakurta, R. Miller, A. Subramanian, Investigation of platelet responses and clotting characteristics of in situ albumin binding surfaces. *J Biomater Appl* **26**, 529-547 (2012).
52. J. Yang, B. C. Furie, B. Furie, The biology of P-selectin glycoprotein ligand-1: its role as a selectin counterreceptor in leukocyte-endothelial and leukocyte-platelet interaction. *Thromb Haemost* **81**, 1-7 (1999).
53. V. Evangelista *et al.*, Platelet/Polymorphonuclear Leukocyte Interaction: P-Selectin Triggers Protein-Tyrosine Phosphorylation-Dependent CD11b/CD18 Adhesion: Role of PSGL-1 as a Signaling Molecule. *Blood* **93**, 876 (1999).
54. K. Ley, G. S. Kansas, Selectins in T-cell recruitment to non-lymphoid tissues and sites of inflammation. *Nat Rev Immunol* **4**, 1-11 (2004).
55. D. D. Wagner, P. C. Burger, Platelets in inflammation and thrombosis. *Arterioscl Throm Vasc Biol* **23**, 2131-2137 (2003).
56. S. Hamburger, R. McEver, GMP-140 mediates adhesion of stimulated platelets to neutrophils. *Blood* **75**, 550-554 (1990).
57. E. Larsen *et al.*, PADGEM protein: A receptor that mediates the interaction of activated platelets with neutrophils and monocytes. *Cell* **59**, 305-312 (1989).

58. R. P. McEver, R. D. Cummings, Perspectives series: cell adhesion in vascular biology. Role of PSGL-1 binding to selectins in leukocyte recruitment. *J Clin Invest* **100**, 485-491 (1997).
59. T. G. Diacovo, S. J. Roth, J. M. Buccola, D. F. Bainton, T. A. Springer, Neutrophil rolling, arrest, and transmigration across activated, surface-adherent platelets via sequential action of P-selectin and the beta 2-integrin CD11b/CD18. *Blood* **88**, 146-157 (1996).
60. S. Yokoyama *et al.*, Platelet P-selectin plays an important role in arterial thrombogenesis by forming large stable platelet-leukocyte aggregates. *J Am Coll Cardiol* **45**, 1280-1286 (2005).
61. D. I. Simon, Inflammation and vascular injury: basic discovery to drug development. *Circ J* **76**, 1811-1818 (2012).
62. H. Tanaka *et al.*, Sustained activation of vascular cells and leukocytes in the rabbit aorta after balloon injury. *Circulation* **88**, 1788 (1993).
63. F. G. P. Welt, C. Rogers, Inflammation and Restenosis in the Stent Era. *Arterioscl Throm Vas Biol* **22**, 1769 (2002).
64. 辻勉, 血小板と白血球の相互作用: セレクチンと糖鎖を介した接着による白血球活性化. *星薬科大学紀要*, 1-9 (1997).
65. A. Celi *et al.*, P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* **91**, 8767-8771 (1994).

66. K. Gutensohn *et al.*, In Vitro Analyses of Diamond-like Carbon Coated Stents: Reduction of Metal Ion Release, Platelet Activation, and Thrombogenicity. *Thromb Res* **99**, 577-585 (2000).
67. Y. Ren, K. Yang, B. Zhang, In vitro study of platelet adhesion on medical nickel-free stainless steel surface. *Mater Lett* **59**, 1785-1789 (2005).
68. J. I. Gallin, Degranulating Stimuli Decrease the Negative Surface Charge and Increase the Adhesiveness of Human Neutrophils. *J Clin Invest* **65**, 298-306 (1980).
69. R. J. Korthuis, D. C. Anderson, D. Neil Granger, Role of neutrophil-endothelial cell adhesion in inflammatory disorders. *J Crit Care* **9**, 47-71 (1994).
70. A. Remes, D. F. Williams, Chemotaxis and the inhibition of chemotaxis of human neutrophils in response to metal ions. *J Mater Sci Mater Med* **1**, 26-32 (1990).
71. J. A. Hunt, A. Remes, D. F. Williams, Stimulation of neutrophil movement by metal ions. *J Biomed Mater Res* **26**, 819-828 (1992).
72. A. W. Neumann, D. R. Absolom, C. J. van Oss, W. Zingg, Surface thermodynamics of leukocyte and platelet adhesion to polymer surfaces. *Cell Biophys* **1**, 79-92 (1979).
73. Y. Zhou, C. M. Doerschuk, J. M. Anderson, R. E. Marchant, Biomaterial surface-dependent neutrophil mobility. *J Biomed Mater Res Part A* **69**, 611-620 (2004).

74. L. Tang, J. W. Eaton, Inflammatory responses to biomaterials. *Am J Clin Pathol* **103**, 466-471 (1995).
75. M. B. Gorbet, E. L. Yeo, M. V. Sefton, Flow cytometric study of in vitro neutrophil activation by biomaterials. *J Biomed Mater Res* **44**, 289-297 (1999).
76. M. Werthén, A. Sellborn, M. Källtorp, H. Elwing, P. Thomsen, In vitro study of monocyte viability during the initial adhesion to albumin- and fibrinogen-coated surfaces. *Biomaterials* **22**, 827-832 (2001).
77. G. Nimeri, L. Öhman, H. Elwing, J. Wetterö, T. Bengtsson, The influence of plasma proteins and platelets on oxygen radical production and F-actin distribution in neutrophils adhering to polymer surfaces. *Biomaterials* **23**, 1785-1795 (2002).
78. 石川治, ミニブタを用いたステント評価モデルの確立とその応用 : ステント内狭窄の経時的な解析. 博士学位論文, 東京大学, (2012).
79. A. J. Campillo-Fernández *et al.*, Analysis of the Biological Response of Endothelial and Fibroblast Cells Cultured on Synthetic Scaffolds with Various Hydrophilic/Hydrophobic Ratios: Influence of Fibronectin Adsorption and Conformation. *Tissue Eng Part A* **15**, 1331-1341 (2008).
80. P. B. van Wachem *et al.*, Interaction of cultured human endothelial cells with polymeric surfaces of different wettabilities. *Biomaterials* **6**, 403-408 (1985).
81. Y. Arima, H. Iwata, Effect of wettability and surface functional groups on protein adsorption and cell adhesion using well-defined mixed self-assembled monolayers. *Biomaterials* **28**, 3074-3082 (2007).

82. R. Müller, K.-A. Hiller, G. Schmalz, S. Ruhl, Chemiluminescence-based detection and comparison of protein amounts adsorbed on differently modified silica surfaces. *Anal Biochem* **359**, 194-202 (2006).
83. C. L. Klein *et al.*, The role of metal corrosion in inflammatory processes: induction of adhesion molecules by heavy metal ions. *J Mater Sci Mater Med* **5**, 798-807 (1994).
84. M. Grischke, A. Hieke, F. Morgenweck, H. Dimigen, Variation of the wettability of DLC-coatings by network modification using silicon and oxygen. *Diam Relat Mater* **7**, 454-458 (1998).
85. T. Hasebe *et al.*, Depth profiling of fluorine-doped diamond-like carbon (F-DLC) film: Localized fluorine in the top-most thin layer can enhance the non-thrombogenic properties of F-DLC. *Thin Solid Films* **516**, 299-303 (2007).
86. T. Hasegawa *et al.*, Stratified Dipole-Arrays Model Accounting for Bulk Properties Specific to Perfluoroalkyl Compounds. *ChemPlusChem* **79**, 1421-1425 (2014).
87. M. Nakagawa *et al.*, A decline in platelet activation and inflammatory cell infiltration is associated with the phenotypic redifferentiation of neointimal smooth muscle cells after bare-metal stent implantation in acute coronary syndrome. *J Atherosclero Thromb* **17**, 675-687 (2010).
88. K. Murasaki *et al.*, High P-selectin expression and low CD36 occupancy on circulating platelets are strong predictors of restenosis after coronary stenting in patients with coronary artery disease. *Heart Vessel* **22**, 229-236 (2007).

89. D. Tschoepe *et al.*, Platelet membrane activation markers are predictive for increased risk of acute ischemic events after PTCA. *Circulation* **88**, 37-42 (1993).
90. S. M. Albelda, C. W. Smith, P. A. Ward, Adhesion molecules and inflammatory injury. *FASEB J* **8**, 504-512 (1994).
91. F. Airolidi *et al.*, Comparison of diamond-like carbon-coated stents versus uncoated stainless steel stents in coronary artery disease. *Am J Cardiol* **93**, 474-477 (2004).

謝辞

本研究をまとめるにあたり、お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科 理学専攻 教授 小川温子先生には長きに渡り丁寧にご指導いただきました。博士課程から快く受け入れてくださり、また非常に長くかかってしまいましたがいつも励ましてくださいました。研究をまとめる際には、学術的な考え方、進め方をご教授いただき、心から感謝しております。また、ご助言いただきました同専攻 教授 相川京子先生に深く感謝しております。

多大なるご支援をいただきました東京大学医学部附属病院輸血部 教授 高橋孝喜先生（現日本赤十字社 血液事業本部長）、慶應義塾大学大学院 理工学研究科 開放環境科学専攻 環境エネルギー科学専修 教授 鈴木哲也先生に心より感謝申し上げます。東京大学医学部附属病院輸血部 講師 津野寛和先生（現客員研究員）、助教 田中実先生（現東京大学医科学研究所附属病院 脳腫瘍外科 特任准教授）には研究の進め方やまとめ方などご丁寧にご教授いただき、深く感謝しております。また、研究を進めるにあたり、多大なるご助言をいただきました東海大学医学部医学科 専門診療学系 教授 長谷部光泉先生には終始ご指導いただき心よりお礼申し上げます。本研究を遂行するにあたり、多大なるご支援をいただきました川澄化学工業株式会社 研究開発部部长 吉川吉治氏に深く感謝いたします。この成果は、国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）の委託業務の結果得られたものです。

最後に、研究生生活を支え暖かく見守ってくれた両親、友人、家族に心から感謝いたします。