

平成 30 年 5 月 26 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09953

研究課題名(和文) ボツリヌス毒素を用いた四肢末梢動脈硬化病変血流量改善の試み

研究課題名(英文) An experimental rabbit study to evaluate the effect of botulinum toxin type A injection into the perirenal arterial space to treat ischemic limb.

研究代表者

園田 明永 (Sonoda, Akinaga)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：00571051

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：四肢末梢の血流改善はならなかったがその過程で高血圧の治療につながる成果を見た。具体的には6羽の日本白色ウサギ(JW)と6羽のワタナベ遺伝性高脂血症ウサギ(WHHL)を2グループに分け、グループ1には生食を、グループ2にはボツリヌス毒素Aをエコーガイド下にて腎動脈周囲に注入した。術前、術直後、注入一週間後、1ヶ月後、2ヶ月後、3ヶ月後、4ヶ月後に収縮期血圧を測定した。注入後1ヶ月でボツリヌス毒素治療群(JWおよびWHHL)では、全体平均で23.66+14.77 mmHgの収縮期血圧低下が有意差を持って得られた。ボツリヌス毒素を腎動脈周囲に注入する方法は収縮期血圧を効果的に下げる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：To develop effective renal sympathetic denervation for antihypertensive therapy with botulinum toxin A (BTA). Japanese white rabbits (JW) and Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits (WHHL) were divided into two groups. Group 1 (JW, WHHL; n=3 each) was injected with saline and group 2 with BTA under ultrasound guidance. Immediately before and after injection, as well as at 1 week, 1 month, 2, 3, and 4 months subsequently, their systolic blood pressure (SBP) and heart rate (HR) were measured in the right femoral artery. At one month post-injection, the SBP of botox-treated animals fell by 23.66+14.77 mmHg (p<0.05). While the percutaneous injection of BTA into the perivascular space around the bilateral renal arteries of rabbits may elicit an SBP decrease, its effectiveness duration, dose, and injection site require further study. Additional in vivo studies are needed to determine the antihypertensive effect of BTA percutaneously injected around the perirenal arterial space.

研究分野：Radiology

キーワード：BTA ボツリヌス毒素 高血圧 腎周囲神経叢

1. 研究開始当初の背景
糖尿病患者や動脈硬化の進行により、下肢の虚血やこれがもたらす血行不全や感染により下肢を切断せざるおえなくなりその QOL を著しく低下させる。これら糖尿病壊疽に対し、治療法の選択肢を増やす目的で、安価で新しい IVR(Interventinal Radiology) 治療法の開発を目指す。
2. 研究の目的
IVR 治療で下肢の虚血状態を改善できれば、QOL の改善に貢献できるため、その方法を開発する。
3. 研究の方法
実験開始当初は、動脈硬化ウサギ(WHHLウサギ)の大腿四頭筋にボツリヌス毒素を用いて麻痺させ、大腿筋肉へ必要血流を低下させることにより末梢血管への血流を相対的に増加させることを試みた。動脈硬化ウサギにて実験を開始するも大腿の筋肉を麻痺させるとたとえ一部の筋肉の麻痺でもウサギは極端に活動性が低下し、多くの個体が食事を食べなくなり1ヶ月を待たずに死亡した。よって次に鼠径部の大腿動脈の周囲にある神経に薬剤を注入して神経を麻痺させることにより下肢の血流を改善しようとしたが、これもウサギの食欲を著しく低下させ一ヶ月を待たずに死亡する結果となった。腸腰筋の一部を麻痺させても結果は変わらなかった。そこで投与部位を下肢・およびこれに関連する神経から体循環の血圧・血流調節の一つを担う腎動脈周囲神経叢に移した。プレテストでウサギ2羽 WHHL 及び日本白色ウサギ(JW)それぞれの左右腎動脈周囲にエコーしたでボツリヌス毒素を8単位注入し、3ヶ月の間様子を観察した。特に下肢麻痺や食欲の低下、体重減少などの有害事象を認めなかった。よって次に本実験に移った。WHHL6羽、JW6羽をそれぞれ3羽づつの2グループに分けた。グループは生食を投与する群とボツリヌス毒素を投与する群にわけ、超音波ガイド下に生食または毒素を腎動脈周囲1cm以内に投与した。投与前、後、1週間後、1ヶ月後、2ヶ月後、3ヶ月後、4ヶ月後にそれぞれ最高血圧、心拍、下肢の血流量を測定した。すべての手技は全身麻酔下(ウサギの皮下に塩酸メドミジン(0.1mg/kg)と塩酸ケタミン(48mg/kg)を皮下注射)で行われた。下肢の血流は、サーモグラフィー(FRIRE60: FLIR)およびMRI(Signa

HDxt vergion15: GE Healthcare, 撮像法は、3D first spoiled GRASS 法 (efgre3D) 撮像条件は TR=11.8ms、TE=4.1ms、flip angle 30°, FOV5×5 cm, matrix512×512)を用いて測定した。最高血圧と心拍は、Desktop mercury sphygmomanomet (Sanwa Manufacturing Co.,Tokyo,Japan,Manchette30cm×8.5cm (TanakaSangyouCo.,Tokyo, Japan), and ultrasonic blood FlowMeter(ES-1000SPM, NIHON KODEN Co., Tokyo, Japan) を組み合わせて測定した。

4. 研究成果
下肢の血流改善はならなかったが研究期間内で食欲が低下したり、体重が減少した個体は認めなかった。一方、術後一ヶ月で JW も WHHL の個体も最高血圧の低下を有意差をもって認めた 23.66±14.77 mmHg(p<0.05) しかし、2ヶ月以降では有意傾向はあるものの、生食投与群とのあいだで有意な血圧低下を見いだせず、投与量や投与方法に課題を残した。

現在、An experimental rabbit study to evaluate the effect of botulinum toxin type A injection into the perirenal arterial space to treat hypertension の表題にて英文雑誌に投稿中である。

<引用文献>

1. Converse, R.L.Jr., Jacobsen, T.N., Toto, R.D., Jost, C.M., Cosentino, F., Fouad-Tarazi, F. and Victor, R.G.1992. Sympathetic overactivity in patients with chronic renal failure. *N. Engl. J. Med.* 327 : 1912-1918.
2. Esler, M.D., Krum, H., Schlaich, M., Schmieder, R.E., Bohm, M., Sobotka, P.A. and Symplicity, HTNI. 2012. Renal sympathetic denervation for treatment of drug-resistant hypertension: One-year results from the symplicity htn-2 randomized, controlled trial. *Circulation.*126 : 2976-2982.
3. Firouznia, K., Hosseinasab, S.J., Amanpour, S., Haj-Mirzaian,

A., Miri, R., Muhammadnejad, A., Muhammadnejad, S., Jalali, A.H., Ahmadi, F. and Rokni-Yazdi, H. 2015. Renal sympathetic denervation by ct-scan-guided periarterial ethanol injection in sheep. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 38 : 977-984.

4. Lamanna, C. and Doak, B.W. 1948. The antigen-antibody reaction with type a botulinum toxin. *J. Immunol.* 59 : 231-247.

5. Lim, S.J., Park, H.J., Lee, S.H. and Moon, D.E. 2010. Ganglion impar block with botulinum toxin type a for chronic perineal pain -a case report. *Korean. J. Pain.* 23 : 65-69.

6. Moon, Y.E., Choi, J.H., Park, H.J., Park, J.H. and Kim, J.H. 2016. Ultrasound-guided nerve block with botulinum toxin type a for intractable neuropathic pain. *Toxins (Basel).* 8 : 8(1)

7. Ohta, S., Nitta, N., Sonoda, A., Nitta-Seko, A., Tanaka, T., Takahashi, M. and Murata, K. 2010. Cisplatin-conjugated porous gelatin particles: Assessment of optimal conditions for binding and release. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 33 : 813-817.

8. Sakakura, K., Ladich, E., Cheng, Q., Otsuka, F., Yahagi, K., Fowler, DR., Kolodgie, F.D., Virmani, R. and Joner, M. 2014. Anatomic assessment of sympathetic peri-arterial renal nerves in man. *J. Am. Coll. Cardiol.* 64 : 635-643.

9. Sonoda, A., Nitta, N., Ohta, S., Seko, A., Jo, J., Morikawa, S., Tabata, Y., Takahashi, M. and Murata, K. 2009. Development of a conjugated gadolinium and cisplatin-gelatin possessing properties as an intravascular contrast agent for mr imaging. *Eur. J. Radiol.* 71 : 570-575.

10. Symplicity, HTNI., Esler, M.D., Krum, H., Sobotka, P.A., Schlaich, M.P., Schmieder, R.E. and Bohm, M. 2010. Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (the symplicity htn-2 trial): A randomised controlled trial. *Lancet.* 376 : 1903-1909.

11. Tzafiriri, A.R., Mahfoud, F., Keating, J.H., Markham, P.M., Spognardi, A., Wong, G., Fuimaono, K., Bohm, M. and Edelman, E.R. 2014. Innervation patterns may limit response to endovascular renal denervation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 64 : 1079-1087.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

Sonoda A, Nitta N, Ohta S, Watanabe S, Murata K. Experimental Rabbit Study to Evaluate the Effect of Botulinum Toxin Type A Injection into the Perirenal Arterial Space to Treat Hypertension RSNA 2017 2017

■田明永, 新田哲久、大田信一、高木海、渡辺尚武、佐藤滋高、村上陽子、井上明星、岩井崇泰、茶谷祥平、上村諒、田上佳英、伊津野有香、神谷梓、村田喜代史 ウサギ腎動脈を用いたボツリヌストキシン A 型投与による高血圧療法の可能性についての検討 An Experimental study with rabbit to evaluated the effect of injection of Botulinum Toxin Type A in perirenal arterial space for the treatment of hypertension 第46回日本IVR学会総会 2017

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

園田明永 (SONODA, Akinaga)
滋賀医科大学・医学部・助教
研究者番号：00571051

(2)研究分担者

新田哲久 (NITTA, Norihisa)
滋賀医科大学・医学部・助教
研究者番号：40324587

大田信一 (OTA, Shinichi)
滋賀医科大学・医学部・助教
研究者番号：30583637

(3)連携研究者

特になし

(4)研究協力者

特になし