

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592055

研究課題名(和文) Bartonella henselae を用いた重症虚血肢に対する治療法の確立

研究課題名(英文) New therapy using Bartonella henselae for severe ischemic limb

研究代表者

島袋 勝也 (SHIMABUKURO, Katsuya)

岐阜大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20362163

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本実験には長期生存する重症虚血肢モデルが必須でありラットを使用し虚血肢モデル作成を試みた。大腿動脈を一定時間遮断し再灌流とする虚血にて下肢虚血モデルの作成を試みた。結果としてラットモデルはそのまま死亡するか、生存するものの後日犠死させ下肢の病理組織を観察すると組織障害はほとんど認められず回復しているかのどちらかであり重症虚血肢モデルの作成が不可能であった。本実験期間内に成果を上げることが不可能であった。

研究成果の概要(英文)：Severe ischemic limb model using rat was made an attempt for this study. Femoral artery was clamped at regular time (30-300 minutes) and re-perfused and observed for limb change with pathological tissue. Rat model was died or survived but pathological tissue showed no tissue injury. We could not make severe ischemic limb model using rat and made an effect in a defined period.

研究分野：心臓血管外科学

キーワード：重症虚血肢 感染 血管新生

1. 研究開始当初の背景

血行再建不可能な重症虚血肢に対する治療として現在 G-CSF をはじめとする薬物治療や遺伝子治療, 細胞治療などが試みられているがその共通する目的は血管新生である。しかしながら未だ確実な治療方法は確立しておらず新たな血管新生の方法を導入する必要がある。

猫ひっかき病の起炎菌である *Bartonella henselae* は血管新生作用 (bacillary angiomatosis and bacillary peliosis) を持つことが 1990 年代より報告されているがこれを治療に試みた報告は認められない。

临床上、重症虚血肢に対する人工血管置換術後早期の人工血管感染症例に対して再血行再建を行わずに人工血管摘出のみを行った症例において術後症状の緩解を認める症例が存在することに着目し、感染が血管新生に寄与する可能性があると考え今回の研究の着目に至った。閉塞性動脈硬化症は今後も増加傾向を示し、その終末状態である重症虚血肢も同様に増加するものと考え。この疾患に対し薬物治療や遺伝子治療, 細胞治療など様々な血管新生療法が試みられているが治療効果が確実でない現状では感染症を利用した新たな治療方法の確立の意義は大きいと考え研究するに至った。

2. 研究の目的

本研究の目的は重症虚血肢に対しバルトネラ感染による血管新生が引き起こされることを確認することである。

また、バルトネラはエリスロマイシン感受性があり血管新生治療後にエリスロマイシン投与にて感染を治癒させることができることを明らかにする。

3. 研究の方法

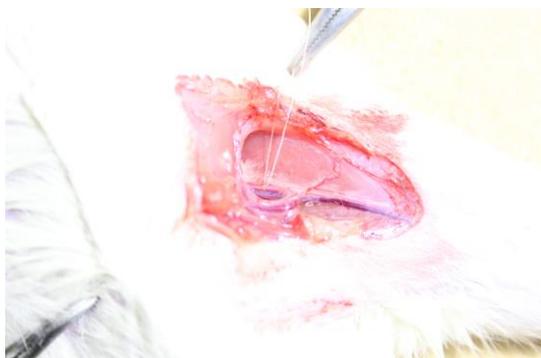
- (1) 虚血肢モデル作成
- (2) *B. henselae* の入手、培養および検出法
- (3) *B. henselae* animal model 作成 (control model)
- (4) 感染確立モデルを使用した長期期間における血管新生の確認
- (5) 感染確立モデルに対するエリスロマイシン投与による感染コントロールの確認

4. 研究成果

本実験には長期生存する重症虚血肢モデルが必須であるが以前、家兎を使用した研究 (Local treatment of Dacron patch graft infected with biofilm-producing *Staphylococcus epidermidis* using antibiotic-releasing porous apatite ceramic: an experimental study in the rabbit. Shimabukuro K et, al. J Vasc Surg. 2004 Jun;39(6):1361) の際に施行したパイロットスタディーにて文献に準じた家兎の大腿動脈結紮による重症虚血肢モデル作成を試みたがモデルはすべて作成直後に死亡したため長期生存する重症虚血肢モデルの作成が不可能であった。そのため比較的実験規模として扱いやすいラットを使用し虚血肢モデル作成を試みた。大腿動脈を一定時間遮断し再灌流とする虚血にて下肢虚血モデルの作成を試みた。結果としてラットモデルはそのまま死亡 (技術的手技の問題もあり) するか、生存するものの後日犠死させ下肢の病理組織を観察すると組織障害はほとんど認められず回復しているかのどちらかであった。さまざまな遮断時間 (30、60、90、120、150、180、210、240、270、300 分 各 n=3) の群を作成し虚血肢モデルの作成を試みたが結果としては同様の結果しか得られず本

実験に必要な下肢虚血を来すモデルの作成は不可能であった。

・左大腿動脈露出し遮断



・60分虚血モデル 左大腿動脈結紮60分後



左下腿色調やや暗赤色となるが虚血60分モデルはすべて生存した。

CPK 243-673 U/L, K 4.0-4.2 mEq/L

・180分虚血モデル左大腿動脈結紮180分後



CPK 190 U/L, K 4.2mEq/L

左下腿色調はやや暗赤色かむしろ改善し左右差ない状態となった。虚血180分モデルはすべて生存した。

300分虚血モデルまで作成したが上記同様

下肢の虚血と考えられる暗赤色の色調はむしろ時間経過モデルの方が改善していた。240分モデルと270分モデルで各1例死亡を認めた。

病理組織を確認したがすべての群において虚血、壊死を疑わせる組織障害は認められなかった。

そのため期限内において再現性のある下肢虚血モデルの作成が不可能であり *Bartonella henselae* の筋肉内投与感染モデル作成まで至ることができなかった。

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 0 件)

[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：

出願年月日：

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

島袋 勝也 (SHIMABUKURO, Katsuya)

岐阜大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20362163

(2) 研究分担者

松野 幸博 (MATSUNO, Yukihiro)

岐阜大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10542409

竹村 博文 (TAKEMURA, Hirofumi)

岐阜大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20242521

(3) 連携研究者

()

研究者番号：