

平成 26 年 4 月 23 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791458

研究課題名(和文) 感染抵抗性人工血管の開発

研究課題名(英文) Infection Resistant Prosthetic Vascular Graft

研究代表者

徳田 順之(Tokuda, Yoshiyuki)

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号：30467302

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は極めて致命率が高いとされてきた人工血管感染に対する再手術の成績向上を目的としたものである。生体吸収性ポリマーに薬剤を混ぜて徐放する技術を用いて、市販人工血管に薬剤徐放コーティングを行い(有機溶媒を用いる方法とエレクトロスピンニング法を用いる方法)抗生物質徐放感染抵抗性人工血管作成を行った。しかし強度とハンドリングの問題から、吻合に耐えうる性能が達成困難と結論した。一方、方針を換えリファンピシン含浸ゼラチンコーティング人工血管の使用と、FDG-PET/CTによる早期診断が治療成績向上に有用であることを見出し、本疾患の集学的治療の構築に寄与した。

研究成果の概要(英文)：Using bio-absorbable polymer coating, we created prosthetic vascular graft which could constantly release antibiotics. After numerous trials, we found the drug eluting grafts created were generally fragile and thick, and not fit for vascular anastomosis. Instead, conventional rifampicin-soaked graft was rather effective for the treatment of graft infection if diagnosis was obtained promptly. We found FDG-PET was a very useful diagnostic tool for distinguishing graft infection. The present research revealed new treatment strategy of prosthetic vascular graft infection.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 胸部外科学

キーワード：人工血管感染

### 1. 研究開始当初の背景

人工血管感染は稀ではあるが重篤かつ治療に難渋する病態であり、いったん発症すると異物である人工血管繊維内は免疫細胞及び抗生物質の到達し得ない感染巣となり極めて難治である。そのため人工血管感染に対する再手術の成績は極めて不良で致死率が高く、その成績向上が望まれる。我々は、一定量の細菌が存在するような汚染巣においても使用できるような感染抵抗性を有する人工血管の開発が急務と考え、その研究を行ってきた。近年、生体吸収性ポリマーを用いてその加水分解とともに薬剤を徐放させる研究が進みつつあるが、我々の研究室では生体吸収性ポリマーである poly (L-lactide-co-glycolide) (PLGA) や poly L-lactide (PLA) を担体としてタクロリムスやドキシサイクリンを徐放する技術を既に確立しており、それらの徐放により血管吻合部狭窄、大動脈瘤を防ぐ為の研究を行ってきた。この手法を応用して、抗生物質(特に抗 MRS 活性のある薬剤)を徐放する drug eluting 人工血管を作成開発することを着想した。抗生物質を含有する生体吸収性ポリマーを含む有機溶剤溶液を用いて、ポリマー薄膜を既成品の人工血管表面にコーティングを行えば、これによりポリマーの吸収(生体内での加水分解)とともに、抗生物質が徐放される人工血管が作成できる。尚、異物感染を抗生物質で制御する発想自体が受け入れ難いとする意見もあるが、in vitro の抗生物質溶液内では、通常治療域の濃度でも、バイオフィルムを形成した感染人工血管上の成育コロニーも根絶されることが既に示されている。したがって、薬剤の適切な sustained release が得られ、周囲においての濃度維持さえできれば、抗生物質徐放によって人工血管に感染抵抗性を持たせることは、決して非現実的な考えではないと考えられた。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、従来極めて致命率が高いとされてきた人工血管感染に対する再人工血管置換術の成績向上である。抗生剤徐放性感染抵抗性人工血管の開発を基軸とした人工血管感染に対する集学的治療を確立する。

### 3. 研究の方法

(1) 近年、生体吸収性ポリマーを用いてその加水分解とともに薬剤を徐放させる研究が進みつつある。我々の研究室では生体吸収性ポリマーであるところの poly(L-lactide-co-glycolide) (PLGA) や poly L-lactide (PLA) を担体とし薬剤を徐放する技術を既に確立しており、その技術を応用した。さらに徐放期間の長い PCL (poly-caprolactone) も同様に使用可能で

ある。この手法を応用して、抗生物質(特に抗 MRS 活性のある薬剤)を徐放する drug eluting 人工血管を作成開発することとした。

(2) この薬剤徐放技術を用いて、市販人工血管表面に抗生物質を含む生体吸収性ポリマーの含浸によりコーティングを行いそれにより、抗生物質薬剤徐放人工血管を作成した。徐放ポリマーの形成に関しては研究室のタクロリムス徐放の研究での経験が生かして行なった。安全性の認められた生体吸収性ポリマーは限られている。具体的には poly L-lactide (PLA) の他、 polyglycolic acid (PGA) (吸収系バイクリルとして商品化されている) polydioxanone (吸収系 PDS として商品化されている) poly-L-lactide-caprolactone (PLCA) 等があげられる。この中で、今回の目的には比較的長期間の徐放が必要であるので、加水分解が緩徐である poly L-lactide (PLA) による徐放ポリマーが最も適切と考えられた。

生体吸収性ポリマー溶液は有機溶剤により液状の溶液となり、その形態で人工血管への塗布浸透が可能となる。その有機溶剤としては、PLA を溶解する溶剤であればどんなものでもよいが、毒性の少ないもの、沸点の低いもの、水との相溶性があるものが脱溶剤の観点から好ましく用いられる。上述の条件を満たす溶媒としては、例えばイソプロパノールなどのアルコール類、テトラヒドロフラン、ジオキサンなどのエーテル類が候補に挙がる。これらのいずれかにより作成した抗生物質含有 PLA 溶液を既製品の人工血管表面に含浸塗布して、引き続き乾燥させることによって、有機溶剤は気化し抗生物質含有 PLA ポリマー成分の薄膜が形成され、人工血管繊維上のコーティングとなる。これにより drug eluting 人工血管が作成できる。

このように、PLA 含浸によりコーティングを行い、生体吸収性ポリマーが加水分解で生体吸収されるにつれ薬剤が徐放される。即ち、抗生物質を含有させた生体吸収性ポリマーである PLA を含む有機溶剤溶液を用いて、ポリマー薄膜を既成品の人工血管表面にコーティングを行いこれによりポリマーの吸収(生体内での加水分解)とともに、抗生物質が徐放される人工血管を作成した。

同様に、コーティング方法を変えて、同じく我々の研究室で使用経験のある、エレクトロスピンニング法により人工血管表面に薄膜コーティングを行った。エレクトロスピンニング法はナノファイバー技術であるが、噴射された溶液流が細くなるとさらに電荷の反発力が増し、溶液流はさらに引き伸ばされる。このとき、溶液量の表面積が急速に大きくなるので溶媒が揮発し、基板上にナノファイバ

ーが形成される。この方法でも市販人工血管表面に抗生物質徐放ポリマーのコーティングを行った。

抗生物質薬剤は具体的にはバンコマイシン、リネゾリドを選択し各々実験を行った。薬剤徐放は問題ないが、むしろ人工血管としての性能が重要であり、作成された人工血管で模擬的縫合を多回数行うことで、ハンドリングを含めて使用安定性を検証した。有機溶媒と薬剤の比率を変えて調整した。解決すべき事項は、生体吸収性材料の溶液作成の際に用いる有機溶剤に有機溶剤によってダクロンの強度が低下する点である。

(3)並行して院内倫理委員会の承認の元、診断能の改善のため FDG/PET-CT による人工血管感染診断への応用研究を実臨床で行った。これは人工血管感染は、早期診断が得られない限り、救命は不能な病態であるからである。

(4) 薬剤徐放性人工血管はまだ開発以前の段階であり、無論臨床応用も不可である。現在国内では、入手の問題から、内服薬リファンピシンの水溶液を作成し、それにゼラチンコーティングダクロン人工血管を浸すという手法が選択されることが増えつつある。研究経過中、この方法で好成績が得られている報告が相次いだ。当方でも学内倫理委員会承認のもと同様の治療を行い高い治療成績を得た。即ち、上述の人工血管は開発段階で



あり当然実臨床に使用は不能であるが、リファンピシン含浸人工血管は使用可能であるので、こちらの使用経験も得た。

(図)バンコマイシン徐放性(PCL 含浸モデルによる)人工血管の一例。

コーティングにより硬さと厚みが増し縫合針の貫通性が大きく低下した。さらにコーティングに必要な有機溶媒 HEIP(ヘキサフルオロイソプロパノール)の影響で強度が低下した。縫合試験時容易に断裂し、裂けてしまった模様を示す。

#### 4. 研究成果

作成された人工血管は含浸型の初期モデルにおいてはコーティングにより厚みが増し針の貫通性が低下し、かつ有機溶媒由来の変化で強度が低下し縫合が容易でないことが判明した。有機溶媒と薬剤の比率を変えて調整したが解決困難であった。さらに、有機溶媒の完全な除去が困難という安全性の面の問題も解決困難であった。

エレクトロスピンニング法によるコーティングでは強度は良好であったが、容易にコーティングが剥げてしまい、意図する吻合が困難であった。薬剤徐放が得られても吻合に耐えられなければ臨床応用は困難であり、これらのアプローチの限界を感じた。

一方、研究を進めるうち、人工血管感染の治療として市販のゼラチンコーティング人工血管にリファンピシンを含浸させて結合を得て好成績が得られている報告が相次いだ。現在国内では、入手の問題から、内服薬リファンピシンの水溶液を作成し、それにゼラチンコーティングダクロン人工血管を浸すという手法が選択されることが多い。我々も院内倫理委員会了承の元、それに習って治療を行った。当初年間5例にこの手法での手術を行い、高率の難治感染で、死亡率高率とされる疾患群にかかわらず、全例感染制御が達成され、良好な成績を得られ満足いくべき成績を確認できた。ただ、これには前提があり、それは早期診断を得ることである。

我々は不明熱や悪性腫瘍の炎症検出に用いられる FDG-PET/CT が診断に有用であることを見出し、応用報告も行ってきた。Standardized Uptake Value (SUV)を用いれば客観的診断が可能であり、グラフト周囲の Max SUV>8 が診断基準として有用であることを示した。FDG-PET/CT の早期診断とリファンピシンコーティング人工血管による治療で、感染抵抗性人工血管で得られるのに匹敵する良好な治療成績が得られることを見出した。発信は、後者の部分を中心に論文および国内外の学会で行った。

即ち、結語として、吻合に耐えうる性能を有する、臨床使用として安全な抗生剤徐放感染抵抗性人工血管は開発困難であった。一方、FDG-PET/CT による早期診断とリファンピシンコーティング人工血管を組み合わせた場合の有用性を見出し、人工血管感染に対する集学的治療の構築の足がかり形成が可能であった。

#### 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 1 件)

Tokuda Y, Oshima H, Araki Y, Narita Y, Mutsuga M, Kato K, Usui A.  
Detection of thoracic aortic prosthetic graft infection with 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography. Eur J Cardiothorac Surg. 2013 Jun;43(6):1183-7. 査読あり

〔学会発表〕(計 4 件)

1 徳田順之 大島英揮 阿部知伸 成田裕司 荒木善盛 藤本和朗 六鹿雅登 寺澤幸枝 蒔苗永 松村泰基 伊藤英樹 八神啓 大野司 末永啓人 碓氷章彦  
心臓血管外科領域の難治感染症に対する FDG-PET/CT の応用  
第 114 回日本外科学会定期学術集会 国立京都国際会館、グランドプリンスホテル京都市 2014/04/05

2 徳田順之 末永啓人 蒔苗永 岡田典隆 野中利通 岡田正穂 薦田さつき 六鹿雅登 藤本和朗 荒木善盛 成田裕司 大島英揮 碓氷章彦  
胸部下行大動脈瘤置換術後の遷延する発熱の一例  
第 98 回東海心臓外科懇話会 ミッドランドホール 名古屋市 2013/2/9

3 Yoshiyuki Tokuda, Masato Mutsuga, Yoshimori Araki, Yuji Narita, Hideki Oshima, Akihiko Usui  
DETECTION OF THE THORACIC AORTIC PROSTHETIC GRAFT INFECTION BY FDG-PET/CT  
October 30, 2012, Barcelona. 26th EACTS European Association for Cardio-Thoracic Surgery 27-31 October 2012, in Barcelona, Spain.

4 徳田順之 碓氷章彦 六鹿雅登 荒木善盛 成田裕司 大島英揮 古森公浩 上田裕一 FDG-PET/CT による人工血管感染の診断  
第 42 回日本心臓血管外科学会 秋田アトリオン、秋田キャッスルホテル 秋田市 2012.4.19

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

徳田 順之 (Tokuda Yoshiyuki )  
名古屋大学医学部附属病院 病院助教  
研究者番号 : 30467302

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者 なし