

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

| | |
|-----------|---|
| タイトル | Antibacterial effects of vascular grafts treated with rifampicin, colistin, vancomycin, or daptomycin |
| 別タイトル | 抗菌薬浸漬人工血管の効果:リファンピシン、コリスチン、バンコマイシン、ダプトマイシン |
| 作成者(著者) | 大熊, 新之介 |
| 公開者 | 東邦大学 |
| 発行日 | 2021.02.25 |
| 掲載情報 | 東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨. |
| 資料種別 | 学位論文 |
| 内容記述 | 主査: 船橋公彦 / タイトル: Antibacterial effects of vascular grafts treated with rifampicin, colistin, vancomycin, or daptomycin / 著者: Shinnosuke Okuma, Masakaze Hamada, Yuki Hanai, Takeshiro Fujii, Kazuhiro Tateda, Yoshinori Watanabe / 掲載誌: Toho Journal of Medicine / 巻号・発行年等: 6(3): 104-110, 2020 |
| 著者版フラグ | none |
| 報告番号 | 32661乙第2941号 |
| 学位記番号 | 乙第2780号 |
| 学位授与年月日 | 2021.02.25 |
| 学位授与機関 | 東邦大学 |
| その他資源識別子 | 10.14994/tohojmed.2019_027 |
| メタデータのURL | https://mylibrary.toho-u.ac.jp/webopac/TD27540034 |

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

大熊新之介より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号乙第 2780 号

学位申請者 : おお くま しん の すけ
大 熊 新 之 介

学位論文 : Antibacterial effects of vascular grafts treated with rifampicin, colistin, vancomycin, or daptomycin

(抗菌薬浸漬人工血管の効果: リファンピシン、コリスチン、バンコマイシン、ダプトマイシン)

著 者 : Shinnosuke Okuma, Masakaze Hamada, Yuki Hanai, Takeshiro Fujii, Kazuhiro Tateda, Yoshinori Watanabe

公表誌 : Toho Journal of Medicine 6(3): 104-110, 2020

論文内容の要旨 :

術後の人工血管感染の発生率は 1-6%であるが、発症すると重篤となり救命率は低い。治療法には、抗生剤治療・感染巣の洗浄ドレナージ・感染人工血管除去・非解剖学的血行再建・大網や筋肉充填・自家静脈再建・ホモグラフトなどが挙げられる。特に感染巣での人工血管による再建は再感染のリスクがあるため、非解剖学的再建を行うことが検討されるが、現実的には胸部大動脈領域における人工血管感染など、非解剖学的再建が困難な場合には、再度感染巣に人工血管を埋め込まなければならない。そこで行われているのが、人工血管のリファンピシン溶液への浸漬である。以前よりリファンピシン浸漬人工血管による感染巣への人工血管置換は臨床において有効であると報告されているが、その一方で実験的なエビデンスが乏しい。

本研究の目的は、以前より我々が開発してきた *in vitro* 人工血管感染モデルを用いて、緑膿菌・MRSA に対するリファンピシン浸漬人工血管 (RBG) の効果を検討するとともに、他の抗菌薬の有用性についても検証するものである。また、抗菌薬と人工血管の結合力に関する報告はなく、また浸漬時間の根拠についても検証されていないため、本研究では人工血管と抗菌薬の結合の評価と時間の関係性を検討した。

研究の方法として、3 種類の研究を行った。第一にゼラチンコーティング人工血管をリファンピシン (RFP) に 5 分間浸漬した。準備した抗菌薬浸漬人工血管を 6 ウェルプレート内に設置し、人工血管の外側に菌液 (6.0 または 8.0 Log CFU/ml の緑膿菌または MRSA) を、内側に生理食塩水を注入し、各群における人工血管内外の生菌数を経時的に測定した。第二に、ゼラチンコー

ティング人工血管をリファンピシン (RFP) ・コリスチン (COL) ・バンコマイシン (VCM) ・ダプトマイシン (DAP) のいずれかに 5 分間浸漬した後、生理食塩水に 24 時間浸漬した。COL については、RFP の同時浸漬も行った。準備した抗菌薬浸漬人工血管を 6 ウェルプレート内に設置し、人工血管の外側に菌液 (6.0 Log CFU/ml の緑膿菌または MRSA) を、内側に生理食塩水を注入し、各群における人工血管内外の生菌数を経時的に測定した。抗菌薬の溶液作成については、リファンピシン溶液は、生理食塩注射液と RFP 薬剤を注射筒に入れ三方活栓で連結し混合し、0.8 μm 及び 0.22 μm の 2 種類のフィルターを連結してろ過し作成する必要がある。VCM、COL、DAP 液は粉末状抗菌薬を生理食塩水に溶解するのみである。さらに、高速液体クロマトグラフィーと化学発光免疫測定法で浸漬前後の抗菌薬濃度を測定することで、COL と VCM の結合性を評価した。

結果は、研究 1 においては、人工血管の外側の菌液が緑膿菌、MRSA とともに 6.0 Log CFU/ml であれば、24 時間後に人工血管内側に菌は増殖せず、8.0 Log CFU/ml であれば、24 時間後に人工血管内側に菌が増殖した。研究 2 では、緑膿菌では、RFP 処理群で 24 時間後には内側に菌が増殖した (5.92 Log CFU/ml) 。COL 処理群では、内側で増殖せず、12 時間後に外側の菌量が減少 (1.73 Log CFU/ml) したが 24 時間後には再増殖した (2.85 Log CFU/ml) 。RFP との併用では 24 時間後には内外ともに増殖は認めなかった。MRSA では、RFP 処理群で 24 時間後に内外ともに菌の増殖は認めなかった。VCM 処理群でも 24 時間後には菌の増殖は認めなかったが、DAP 処理群では内側に菌が増殖した (7.20 Log CFU/ml) 。研究 3 において、COL ・VCM については、人工血管への薬剤の結合性が認められ、10 分間程度で結合量がプラトーに達した。

本研究では、24 時間洗浄した RBG の効果はなかった。しかし、COL ・VCM 浸漬人工血管の効果は期待され、COL に関しては RFP との併用でさらに抗菌効果が期待されると考える。緊急を要し、RBG 作成が緊急で準備できない場合は、COL や VCM の代替的使用が有効であると期待される。その浸漬時間に関しては、10 分以上あれば十分浸漬されることが明らかになり、今後の指標になりうると考える。

1. 学位審査の要旨および担当者

| | | |
|---------------|-----|-----------|
| 学位番号乙第 2780 号 | 氏 名 | 大 熊 新 之 介 |
| 学位審査担当者 | 主 査 | 船 橋 公 彦 |
| | 副 査 | 瓜 田 純 久 |
| | 副 査 | 杉 山 篤 |
| | 副 査 | 赤 羽 悟 美 |
| | 副 査 | 本 村 昇 |

学位論文の審査結果の要旨 :

約 1-6%で発生する術後の人工血管感染は、発症すると重篤となり救命率は低い。感染巣での人工血管による再建は、再感染のリスクが高くなるため非解剖学的再建が検討されるが、胸部大動脈領域の人工血管感染では非解剖学的な再建が困難な場合が多く、感染巣のデブリードメントを行ったうえで再度人工血管を埋め込まなければならないことが多い。この場合、リファンピシン浸漬人工血管による人工血管の置換が有効とされているが、実験的エビデンスが乏しいのが現状である。本研究は、著者らの教室が開発してきた *in vitro* 人工血管感染モデルを用いて人工血管に感染が発生した状況を想定して、1) 緑膿菌、MRSA に対するリファンピシン浸漬人工血管の効果、2) リファンピシン以外のコリスチン、バンコマイシン、ダプトマイシンの抗菌薬の有効性、3) 抗菌薬と人工血管の結合力および浸漬時間を検討することを目的として3つの研究を行った。まず、リファンピシンに5分間浸漬したゼラチンコーティング人工血管を 10^6 と 10^8 colony-forming units/ml の緑膿菌と MRSA の菌液内に置き、人工血管内には生理食塩水を注して人工血管内外の生菌数を 24 時間経時的に測定を行った。この研究では、 10^8 colony-forming units/ml では24時間後に人工血管内部で緑膿菌と MRSA 共に菌の増殖が認められたが、 10^6 colony-forming units/ml では緑膿菌と MRSA 共に菌の増殖は認めなかった。次に、リファンピシン以外のコリスチン、バンコマイシン、ダプトマイシンの抗菌薬の有効性については、緑膿菌ではリファンピシンでは経時的に増菌が認められたのに対し、コリスチンでは菌の増殖はなく、また 12 時間で外部での菌量の低下が認められた。また、コリスチン処理のリファンピシンでは内外共に増殖は認めなかった。MRSA においては、リファンピシンとバンコマイシンでは内部の増菌は認めず、外部においても菌量の減少を認めた。一方、ダプトマイシンでは内部で経時的に内部の増菌を認めた。最後に、高速液体クロマトグラフィーと化学発光免疫測定法で浸漬前後の抗菌薬濃度の測定からコリスチンとバンコマイシンと人工血管の結合性を検討した結果、10 分程度で結合量がプラトーに達した。以上の結果から、24 時間洗浄のリファンピシン浸漬人工血管の効果はなかったが、コリスチンやバンコマイシン浸漬の人工血管では効果が期待でき、コリスチンについてはリファンピシン併用でさらに抗菌効果が期待できる可能性が示唆された。また、緊急時にリファンピシン浸漬人工血管がない場合には、コリスチンやバンコマイシンの代替の使用が有効であり、浸漬時間は 10 分以上あれば十分浸漬されることが明らかとなった。学位審査会は、2020 年 12 月 21 日に審査委員全員の出席により開催された。学位論文についてのプレゼンテーションの後、質疑応答を行った。薬物濃度と菌量の設定根拠、ゼラチンが人工血管にどのようにコーティングされておりリファンピシンなどの薬物との結合部位はどこにあるのか、人工血管との結合性が高い薬物の化学的特徴や薬物の保持時間を薬物の結合部位の化学的性質に基づいて予測したのか、今後の研究の展望などについて多岐にわたる質問がなされたが、申請者はこれらの質問に対して的確に返答した。審査委員会では、全員一致で本論文が学位に値すると認め、医学研究科委員会に報告することとして学位審査会を終了した。