

令和元年6月27日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10978

研究課題名(和文) テラヘルツ計測、代謝物計測を応用した腸管虚血壊死の新たな早期診断確立

研究課題名(英文) Early diagnosis of intestinal ischemia using terahertz and metabolites analysis

研究代表者

佐藤 格夫 (SATO, NORIO)

愛媛大学・医学系研究科・寄附講座教授

研究者番号：30409205

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：急性腸間膜虚血は診断が難しく、診断の遅れにより多臓器障害の発症から高い死亡率につながる。特に絞扼性イレウスでは体循環に虚血による代謝物がトラップされるため診断が困難である。早期での診断が難しく、血清や腹水による早期診断の確立は切望されている。本研究では、豚腸管虚血の実験を行い、経時的に血漿と腹水を採取した。腹水中のLactate, 特にD-lactateは虚血に対して早期から上昇し、有用な虚血の診断情報が含まれることが示された。血液への診断にはさらなる解析が望まれる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腹痛の原因となる腸管虚血は早期に診断がわからないときがあり、診断の遅れにより生命が脅かされる病態である。腸管虚血の早期診断検査は確立されておらず、血液や腹水から早期診断のための可能性を研究した。腹水検査で乳酸値(特にD-乳酸値)が腸管虚血に対して鋭敏に反応することが示せた。血液に関する解析は研究の継続が望まれる。

研究成果の概要(英文)：It is difficult to early diagnose acute mesenteric ischemia. The delay diagnosis results in high mortality and morbidity such as multiple organ dysfunction syndrome, thus it is desire to early diagnostic tool by blood serum. We collected samples of serum and ascites in each time points in porcine intestinal ischemia model. We found that Lactate and D-lactate concentrations were significantly increased time dependent following post intestinal ishemia. Further study was needed to elucidate

研究分野：救急医学

キーワード：腸管虚血壊死 早期診断 代謝物解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

急性腸管膜虚血 (Acute Mesenteric Ischemia: AMI) は腸間膜動脈血栓・塞栓症、非閉塞性腸管膜虚血腸間膜静脈閉塞症といった原因により腸管の血流が途絶え、腸管の一部あるいは広範な部分が壊死に陥る病態で早期診断が困難な場合が多い。ひとたび腸管が壊死におちいると、全身状態は急速に悪化し、腸管壊死部の切除が必要となる。その後、再開腹による頻回の手術を必要とすることも多く、多臓器不全を発症し集中治療を行っても死亡率 40-80%と予後の悪い救急病態である。頻度は全消化器疾患の 1-2 % と少ないものの、70 歳以上の高齢者 (特に透析患者・心疾患の既往のある患者) に近年増加傾向にある疾患であり、高齢化社会の進む日本においては罹患数の著明な増加が予想されている。術後長期にわたる集学的治療が必要であり、その医療費の高さを考えると医療経済の面からも早急に対策が必要であると考えられる。

AMI の診断に関して Multi-detector CT が最も有効な診断であるといわれているが、より早期における診断、経時的な検査においては課題があるのが現状である。白血球上昇、D-Dimer、LDH、pH などが一般的な血液検査のロジスティック解析による独立危険因子として報告され、バイオマーカーとして D-lactate、I-FABP、GST、HMGB-1 などが重要と注目されているものの、感度、特異度ともに十分な一致した見解がえられていない。より鋭敏、確実な早期診断法の確立が世界的に切望されている課題である。

### 2. 研究の目的

腸管虚血壊死へと陥る経時的变化を従来の検査を基に、血漿、腹水をテラヘルツ計測、核磁気共鳴などによる計測を用いて、腸管虚血壊死の新たな診断法を模索することを目的とする。

### 3. 研究の方法

自治医科大学先端医療技術開発センターで本研究の実験動物倫理委員会の承諾を得たうえで以下の実験を施行した。

実験ブタに対し、麻酔導入(ケタミン皮下注射)を行い手術台の上でイソフルランによる全身麻酔(鎮痛と鎮静が同時に行える)と筋弛緩薬(ベクロニウム(マスキュレート 1~4mg/回)の静脈内投与を施行した。腹腔外科的処置により静脈、動脈ラインを留置する。開腹した上で、腸管2メートル以上を含む腸間膜血流遮断法を用いた(右図)。



(1) 絞扼性イレウスを作成し、虚血30分後、60分後、90分後、120分後、180分後、240分後に検体採取を行った。

動脈血液ガス：上記、採血の時間と同じく、虚血30分後、60分後、90分後、120分後、180分後、240分後に検体採取を行った。以下、ヘパリン採血後に遠心1000g(3000rpm)し血漿を測定まで-80℃で保存する。

(2) 血液(生化学、凝固検査)：通常の検査を外部注文により検査を行う。

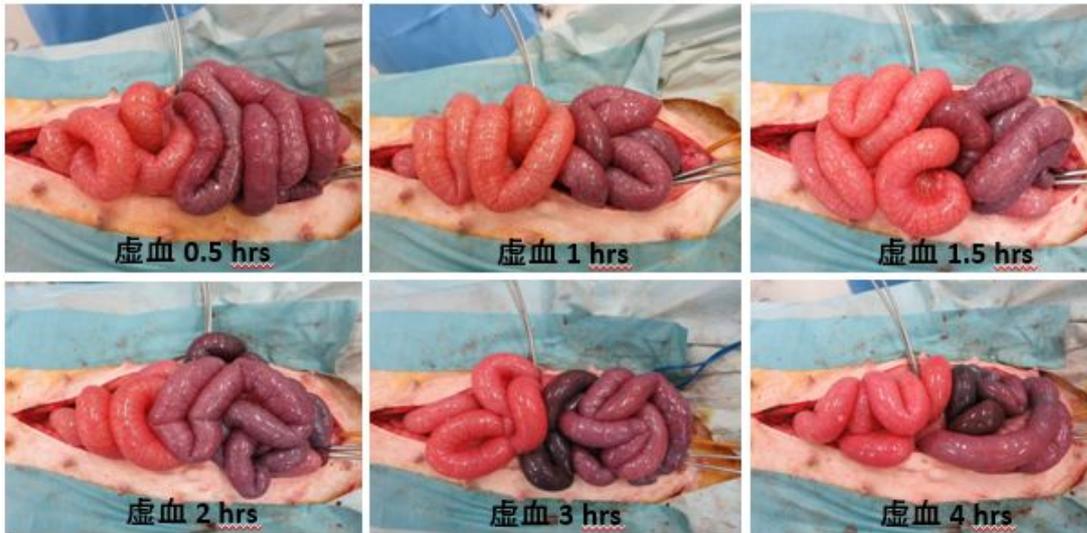
(3) 代謝物解析として、Lactate、D-Lactate、により測定を試みた。

上記に関して解析を行った。

(4) 血漿、腹水における試験的テラヘルツ解析の試行。

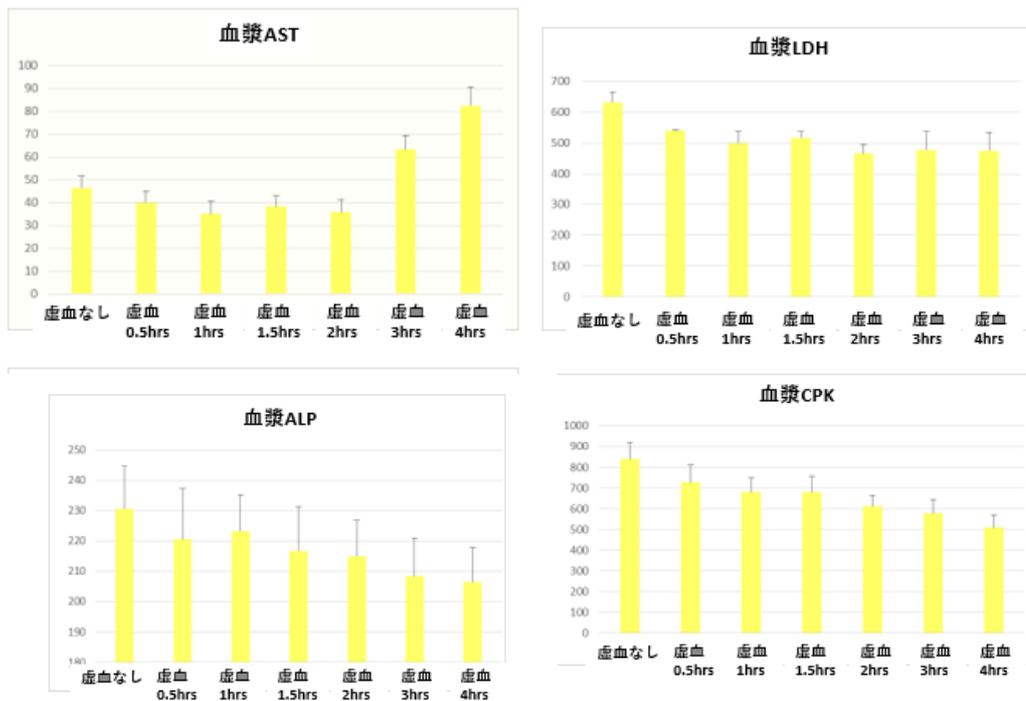
### 4. 研究成果

(1) 絞扼性イレウスモデルは写真のように作成が可能であった(下図)。

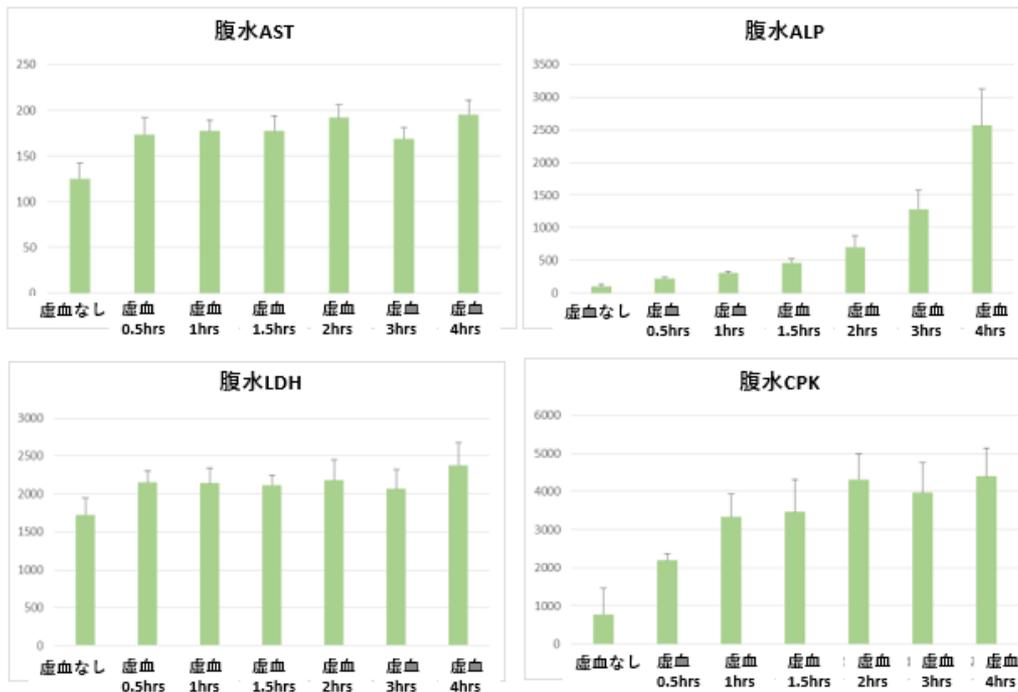


色調的には虚血 2 時間以内での発見が望ましい損傷モデルである。

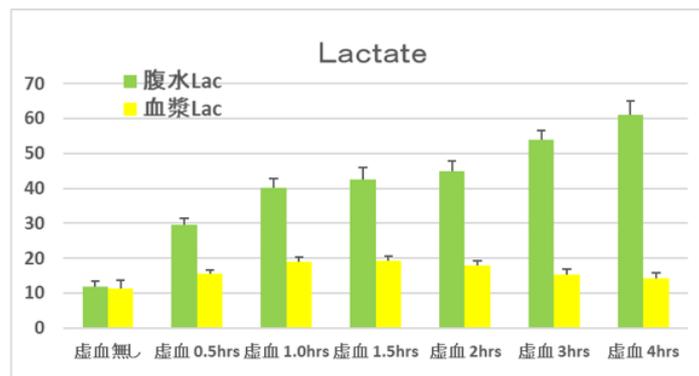
( 2 ) 臨床の際に血液検査にて腸管虚血が進行すると、AST, LDH, ALP, CPK の上昇が認められる。但し、絞扼性イレウスの場合には虚血が進行していても体循環に流れにくく、測定値の変化も少ないと考えられる。本研究の腸管虚血モデルを用いて、虚血無しとの総群と虚血 30 分、60 分、90 分、2 時間、3 時間、4 時間の各時点での測定を行った。AST は虚血のほぼ完成した 4 時間後あたりでの上昇を認めたが、LDH, ALP, CPK には上昇が認められなかった ( 下図 ) 。



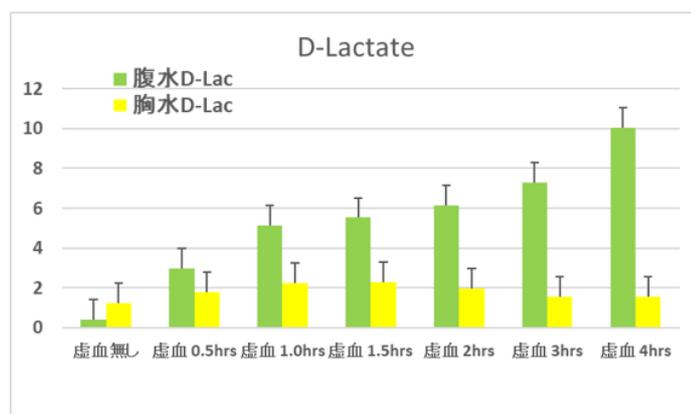
腹水における推移を検討すると、腹水中の AST は虚血無し群と比較すると 1.5 倍程度の上昇であった。腹水 LDH は虚血無し群と若干上昇する程度であった。腹水 ALP は虚血無し群では低値であるが、虚血 0.5hr の時点から時間依存性に上昇を認めており虚血が進行すると ALP の上昇が強く認められた。腹水 CPK に関しては虚血無し群と比較して虚血 30 分後 t、虚血 1 時間とさらに上昇を認めた。その後虚血の進行とともに高値を示した。



(3) Lactate に関して、血漿 Lactate 値は虚血無し群と比較すると、若干の上昇はするものの、20 mg/dL 程度までの上昇に留まっていた。一方、腹水 Lactate 値は虚血無し群 ( $11.9 \pm 1.5$ ) であったが、虚血 30 分後 ( $29.6 \pm 1.7$ )、虚血 60 分後 ( $40.1 \pm 2.7$ )、虚血 90 分後 ( $42.6 \pm 3.3$ )、虚血 2 時間後 ( $45.0 \pm 2.8$ )、虚血 3 時間後、( $53.9 \pm 2.7$ )、虚血 4 時間後 ( $61.1 \pm 3.9$ ) と虚血無し群と比較して虚血早期の時点から約 3 倍以上へと上昇を示した。



D-Lactate に関して、血漿 D-Lactate 値は虚血無し群と比較すると、若干の上昇はするものの、2 mg/dL 程度までの上昇に留まっていた。一方、腹水 D-Lactate 値は虚血無し群 ( $0.40 \pm 0.15$ ) であったが、虚血 30 分後 ( $2.98 \pm 0.73$ )、虚血 60 分後 ( $5.13 \pm 1.02$ )、虚血 90 分後 ( $5.52 \pm 1.10$ )、虚血 2 時間後 ( $6.16 \pm 1.03$ )、虚血 3 時間後、( $7.30 \pm 0.68$ )、虚血 4 時間後 ( $10.0 \pm 1.02$ ) と虚血無し群と比較して虚血早期の時点から約 7 倍程度上昇し、さらには 20 倍以上へと時間依存性に上昇を示した。



腹水中では D-Lactate が Lactate よりも鋭敏に虚血を示すことが判明した。

今回、テラヘルツを用いた解析を行っていたが、血漿中、腹水中のフィブリンなどの影響が安定した測定が困難であった。サンプル採取の際に血清を用いた方がテラヘルツ解析にはよい可能性があり。今後さらなる検討が必要である。本研究の腸管虚血モデルを用いた実験系で血漿からの早期発見へとつなげるにはさらなる研究が必要である。しかしながら、臨床上注目をしている生化学的マーカーの動態が判明し、D-lactate の測定は有用であることが分かった。現在は Lactate 全体を測定しているが、D 体を測定できると臨床上役立つと考えられた。

#### 5 . 主な発表論文等

なし

〔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：

国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 無し

#### 6 . 研究組織

##### (1)研究分担者

研究分担者氏名：菱川 修司

ローマ字氏名：( Hishikawa syuji )

所属研究機関名：自治医科大学

部局名：医学研究科

職名：准教授

研究者番号(8桁): 70337335

研究分担者氏名：伊澤 祥光

ローマ字氏名：( Izawa yoshimitsu )

所属研究機関名：自治医科大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号（8桁）：90565699

研究分担者氏名：平川 慶子

ローマ字氏名：(Hirakawa keiko)

所属研究機関名：日本医科大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号（8桁）：30165162

研究分担者氏名：金涌 佳雅

ローマ字氏名：(Kanawaku yoshimasa)

所属研究機関名：日本医科大学

部局名：大学院医学研究科

職名：大学院教授

研究者番号（8桁）：80465343

研究分担者氏名：小池 薫

ローマ字氏名：(Koike kaoru)

所属研究機関名：京都大学

部局名：医学研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：10267164

研究分担者氏名：鈴木 崇生

ローマ字氏名：(Suzuki takao)

所属研究機関名：京都大学

部局名：医学研究科

職名：客員研究員

研究者番号（8桁）：40328810

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。