

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：13501

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18636

研究課題名（和文）インドシアニングリーンによる捻転卵巣の壊死予測

研究課題名（英文）Prognostication of Ovarian Function after Ovarian Torsion Using Intraoperative Indocyanine Green Angiography

研究代表者

尾山 恵亮（Oyama, Keisuke）

山梨大学・大学院総合研究部・臨床助教

研究者番号：90833624

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,900,000円

研究成果の概要（和文）：偶然に捻じれて虚血状態に陥った卵巣に対し、手術で捻じれを解除した場合、卵巣予備能がどの程度残存するのかを予測する方法はこれまで存在せず、手術中の「色調」といった主観的推測や、「全例温存する」という方針に基づいて治療法が選択されてきた。本研究で、捻じれている卵巣の血流が手術中にインドシアニンググリーン血管造影法によって定量的評価が可能であること、さらに捻転解除前の最大血流、再灌流の割合といったパラメータが、予後予測に有用であると示すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義は、これまで確立されていなかった卵巣の定量的血流評価を見出したことである。さらに、卵巣の機能温存に必要な、虚血に陥った卵巣の血流量や、虚血解除した瞬間の再灌流の程度が、他の臓器とは大きく異なることを世界で初めて明らかにした。

本研究の成果により、色調が悪いという理由で摘出されるかもしれない卵巣が、インドシアニンググリーンを用いることで確固とした根拠をもとに温存されうるということである。卵巣は女性ホルモンを生産し、卵子を育む臓器であるため、社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：A method that predicts how much of the ovarian reserve capacity remains after detorsion of an accidentally twisted ovary has not yet been determined. Currently, treatment choices in clinical cases have been based on subjective estimations, including the “color” of the ovary during surgery or the policy of “preserving the ovaries for all cases.” In our study, the fact that indocyanine green angiography can quantitatively evaluate ovarian torsion during surgery and that maximum fluorescence value before releasing ischemia and the reperfusion rate (maximum fluorescence value after releasing ischemia / maximum fluorescence value before releasing ischemia) are useful parameters for predicting the prognosis were significant findings.

研究分野：Obstetrics and Gynecology

キーワード：ischemia near field angiography ovarian necrosis

1. 研究開始当初の背景

卵巣捻転は、卵巣腫瘍や卵巣過剰刺激症候群などを背景として、突如卵巣への栄養血管がねじれ、強い腹痛を訴える疾患である。その結果卵巣は虚血となり、壊死に至る。ある報告では、女性の緊急手術の 2.7%を占めるとされており、実際の診療現場において頻りに遭遇する疾患である。虚血の程度が軽い場合には術後の卵巣機能が維持できるが、そうでない場合には卵巣摘出が必要となる。ところが、虚血の程度を判断する方法は確立されておらず、手術中の「見た目」(bluish-black appearance)によってなされてきた。

卵巣の血流評価として、超音波 Doppler 法 (Nizar K. J Clin Ultrasound. 2009) または造影 MRI、造影 CT 検査が有用であるという報告がある。一方、術中の血流評価には、捻転解除した卵巣を「二枚貝」のように切開することで血流を確かめる方法を発表しているが (Styer AK. Fertil Steril. 2002) これには出血が伴うため侵襲的と言える。また一般的に、組織の血流評価法としては、フルオレセイン血管造影、赤外線サーモグラフィ、近赤外分光法、パルスオキシメータなどが挙げられるが、どれも信頼度、感度等に問題があり、普及しているとは言い難い。また、最近では良性の卵巣疾患に対する手術は腹腔鏡がメインであることから、それらの方法の多くは使用を制限される。

水溶性色素であるインドシアニングリーンは、血液中に投与後、速やかに血漿のタンパク質と結合する。半減期は 3~4 分で胆汁中に排泄される。その間、組織に近赤外線を当てることでインドシアニンググリーンが蛍光発色するため、血流のある部分をカメラで捉えることができる (Liu DZ. Ann Plast Surg. 1999)。このような特性のため、眼科での網膜血管造影、心臓血管外科での血管吻合、形成外科での皮弁形成など、複数の診療科領域において、血流の評価に用いられ始めている。また、産婦人科領域においても、インドシアニンググリーンは悪性腫瘍手術でのセンチネルリンパ節の同定にも用いられている。

2. 研究の目的

卵巣捻転において卵巣が温存可能か判断するための基準を確立することを、本研究の目的とした。捻転を解除し温存した卵巣が、その後に機能するのか、壊死してしまうのかを、手術中に予測する方法を確立する。

3. 研究の方法

(1) ラットを用いた卵巣捻転モデルの作成

ラットを麻酔下に開腹し、片側の卵巣の栄養血管に動物実験用クリップをかけて阻血をする。一旦閉腹する。一定時間後に再開腹し、ラットの尾静脈からインドシアニンググリーンの静脈内投与をおこない、近赤外線カメラで組織血流を撮影する。

(2) 映像の解析

上記の撮影映像に対して映像解析ソフトを用いて、阻血した卵巣が、阻血していない対側の卵巣に比べ、何%の輝度(血流)があるのかという定量化をする。

(3) 阻血した卵巣が壊死するカットオフ値の算出

4 週間後に阻血卵巣を摘出する。壊死しているかどうかを顕微鏡検査で確認し、(2)の結果と照らし合わせカットオフ値を計算する。

4. 研究成果

捻転卵巣に対し、インドシアニンググリーンによる定量的評価が可能であること、更にその中でも fluorescence intensity の大きさが壊死予測の優れた指標となりうるということが判明した。すなわち、見た目が黒い卵巣も、IGC でわずかに血流があれば、卵巣の組織障害はほとんど起こらない。また、それだけではなく、阻血を解除した直後の再灌流の程度も、定量化することで同等に優れた、壊死予測の指標となりうるということが判明した。

インドシアニンググリーンアンギオグラフィーの卵巣血流のパラメータの中では、阻血解除前の「最大血流」が、卵巣の予後に対し、非常に高い感度、特異度を呈した。ヒトの結腸直腸手術においても、最大血流が、縫合不全の最も優れた指標であり、この結果は本研究と一致した。すなわち、これはヒトの卵巣についても同様に重要なパラメータとなることが推測される。また、皮弁形成後に切除を要する組織の血流のカットオフ値は、正常組織の血流に対して 25~60%とされている。本研究での相対血流のカットオフ値は、それよりもずっと低い 11%であった。以上よ

り、卵巣は腸管や皮膚とは異なり、少ない血流で、長時間の虚血にも耐えうると言え、この点は非常に興味深い結果であった。

また、阻血解除の前後での血流変化の割合である、「再灌流の割合」が、高い感度、特異度を示した。虚血再灌流障害自体は多くの主要臓器と同様に、既に卵巣でも認められており、本結果はそれに矛盾しない。また、Ingecらは、ラットの卵巣を3時間虚血した後、ゆっくりとクリップの開閉を繰り返して捻転解除をすることで組織障害を軽減することができたと述べている。本研究のように、インドシアニングリーンアンギオグラフィーをリアルタイムにグラフ化し、再灌流の割合がカットオフ値である1.5を超えないように虚血解除をコントロールすればIngecらの方法の再現が可能と考えられる。つまり本結果は予後予測にとどまらず、治療介入にも役立つ可能性がある。

さらに本研究のメリットは、第一に臨床応用しやすい方法を選択した点である。インドシアニングリーンアンギオグラフィーは、インドシアニンググリーンが入手が容易で低侵襲であり、かつ、腸管吻合術や皮弁形成術では既にヒトで用いられているため、ヒトの卵巣についても応用が可能と考える。第二に、捻転解除した卵巣を4週間経過してから摘出した点である。過去の卵巣茎捻転に関する研究のほとんどは、虚血解除した直後の卵巣の炎症像を評価したものがほとんどである。この場合、慢性期の卵巣組織が壊死しているのか、回復しているのかは不明である。本研究では4週間経過し、急性期の炎症が過ぎ去ったところでの卵巣組織を病理評価した。第三に、fluorescence intensityを過去の研究のように任意単位ではなく、対側卵巣をコントロールとした「割合」にしたことである。これにより、近赤外線カメラの設定・対象までの距離、インドシアニンググリーンの投与量など、インドシアニンググリーンアンギオグラフィーが影響を受ける因子を調整する必要がない。

以上の内容は、2022年に国際誌（Journal of minimally invasive gynecology, IF: 4.3）に掲載された。

また最終年度には、卵巣捻転の重要なテーマであると判明した「卵巣の虚血再灌流障害」を掘り下げることを目指した。すなわち、その分子機構に関し、山梨大学薬理学教室との共同研究を立ち上げた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Oyama Keisuke, Nakamoto Kazunori, Omori Makiko, Fukasawa Hiroko, Hirata Shuji	4. 巻 29
2. 論文標題 Prognostication of Ovarian Function after Ovarian Torsion Using Intraoperative Indocyanine Green Angiography	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Minimally Invasive Gynecology	6. 最初と最後の頁 237 ~ 242
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jmig.2021.08.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Oyama Keisuke, Nakamoto Kazunori, Omori Makiko, Fukasawa Hiroko, Hirata Shuji
2. 発表標題 Prognostication of Ovarian Function after Ovarian Torsion Using Intraoperative Indocyanine Green Angiography
3. 学会等名 The 21st APAGE Annual Congress（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------