

機関番号：15401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20591590

研究課題名（和文） 腹腔鏡手術は低侵襲か？—炭酸ガス気腹による細胞機能変化の分子生物学的解析—

研究課題名（英文） Molecular mechanism for the low invasiveness of laparoscopic surgery

研究代表者

岡島 正純（ OKAJIMA MASAZUMI ）

広島大学・病院・特任教授

研究者番号：90274068

研究成果の概要（和文）：腹腔鏡手術の低侵襲性を検証した。1. ブタ気腹モデルでは、門脈圧の上昇、肝血流量の減少を認め、組織学的に肝組織の障害を認めた。腹腔鏡手術においては、これらの肝機能障害に注意する必要があると考えられた。2. ラット気腹モデルで術後癒着形成は抑制され、癒着形成に重要な Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)の血中、腹水中の活性、大網中の mRNA レベルは減少した。ヒト手術検体でも腹腔鏡手術症例の PAI-1 は抑制されており、腹腔鏡における癒着抑制は PAI-1 の転写因子レベルでの抑制が関与することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We investigated the molecular mechanism for the low invasiveness of laparoscopic surgery. 1. Portal vein blood pH, hepatic function, and hepatic histology were disturbed in a porcine carbon dioxide pneumoperitoneum model. It may be necessary to pay attention to liver damage during laparoscopic surgery. 2. Post operative adhesions were suppressed in rat pneumoperitoneum model compared to open surgery. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) level, which is a key molecule for post operative adhesion formation, was suppressed in serum and peritoneal lavage in pneumoperitoneum model. The PAI-1 mRNA level measured from rat and human omentum were also suppressed, which implied the mechanism of reduction for postoperative adhesions in laparoscopic surgery.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：内視鏡手術

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：腹腔鏡手術、低侵襲手術、分子生物学

## 1. 研究開始当初の背景

1990年代頃から腹腔鏡手術は主に胆嚢摘出術に対する低侵襲治療として注目され始

めた。現在では、低侵襲手術として広く普及、認識され、結腸直腸切除、胃切除、さらには脾、膵臓切除に至るまでに進歩してきた。腹

腔鏡手術の低侵襲性については、術後疼痛の抑制、術後免疫状態の保護、術後在院日数の短縮、速やかな腸管運動の開腹、早期離床、さらには術後腸閉塞の減少といった現象が、動物実験、臨床研究から報告されている。一方で腹腔鏡手術は、二酸化炭素を腹腔内に充満、加圧することによって手術空間を得るという特殊性のために、人体に対しても一般の開腹手術とは異なる影響を及ぼし得ることも指摘されてきた。このため、多くの基礎的な実験が行われ、腹腔鏡手術が生体に及ぼす影響についての研究がおこなわれてきた。しかしながら、これだけ腹腔鏡手術が普及した今日に至っても、腹腔鏡手術が生体に及ぼす影響やその低侵襲性について、充分には解明されていない。今後、さらに安全に腹腔鏡手術が普及していくためには、腹腔鏡手術が生体にもたらし得るメリット、デメリットを、明らかにしていく作業が不可欠と考えられる。

## 2. 研究の目的

腹腔鏡手術の低侵襲性について、分子生物学的手法を用いて検証、解明し、それを応用し更なる腹腔鏡手術の低侵襲化と治療成績向上への臨床応用することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1)炭酸ガス気腹が生体に及ぼす臓器機能を解明するために、ブタの気腹モデルを作成、使用した。14頭のブタを用い、気腹群(PG群)と開腹手術群(OG群)に無作為に割り付け、門脈圧、門脈血中酸素濃度、pH、肝機能検査としてAST、ALT、ICG、肝血流量を測定、比較し、さらに肝組織における病理組織学的解析を行った。

(2)術後癒着形成は開腹手術後の重大な合併症の一つであり、腹腔鏡手術では術後腸閉塞の合併が現象することから、この癒着形成が減少すると認識されている。術後腸閉塞、術後癒着の減少は、腹腔鏡手術の低侵襲性を理解、説明するために極めて重要な現象と言える。しかしながらこのメカニズムは理解されていない。腹腔鏡手術では、開腹手術と比較して炎症性サイトカインの産生抑制や、腹腔内の免疫細胞機能の保存といった現象、開腹手術と比較して腹膜障害が現象することが、動物実験で証明されている。そこで、この腹腔鏡手術における術後癒着の抑制現象は、腹腔鏡手術における術後癒着関連物質の産生抑制に起因すると仮説し、以下の実験を行った。ラット気腹モデルを作成、使用し、臓器癒着の作成、評価には、定量的臓器癒着作成モデル(cecal abrasion model)を使用した。

方法1. 開腹手術モデル(OPEN)との比較にお

いて、腹腔鏡手術モデル(CO2)における術後7日目の癒着形成程度を比較検討した。対象群としては臓器癒着作成のみを行い閉腹する群を用いた(control)。

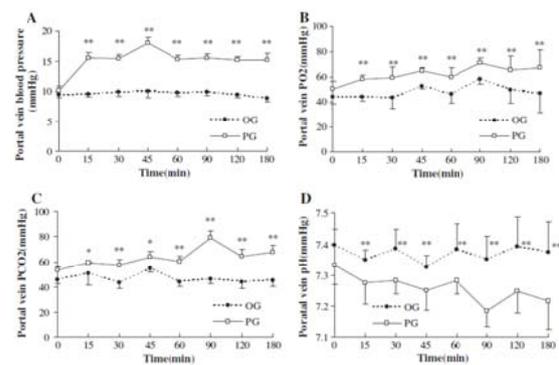
方法2. 術後癒着形成に重要な分子である plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)に着目して、同一モデルによるこの酵素活性をELISA法で解析した。

方法3. 大網から抽出したRNAにおける PAI-mRNA の発現量を realtime PCR 法で解析、評価した。

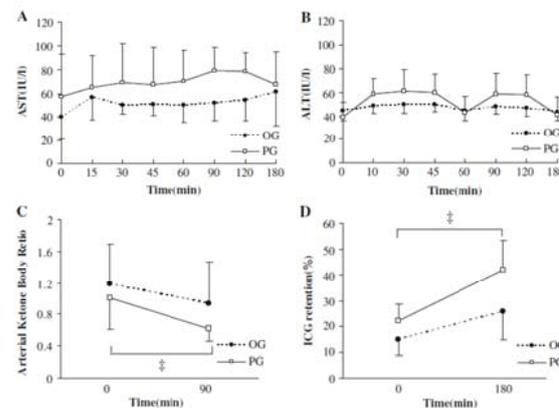
方法4. ラットで得られた結果の検証を、開腹手術症例(OPEN)と腹腔鏡手術症例(LAP)でのヒト手術検体で得られた大網(手術開始直後、終了直前)における mRNA 解析で行い、この解析結果と臨床病理学的因子(主に手術時間)との関連を検討した。

## 4. 研究成果

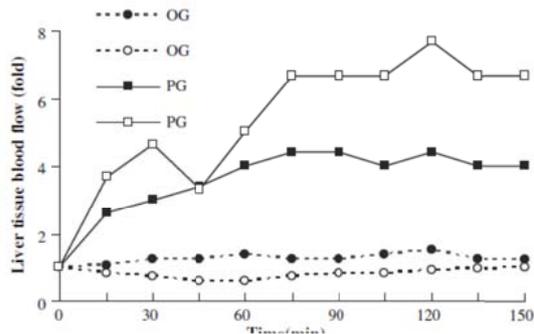
(1). ブタ気腹モデルでは、開腹モデル群と比較して有意に門脈圧が上昇し、pO<sub>2</sub>分圧、pCO<sub>2</sub>分圧が上昇し、pHは有意に低下した。



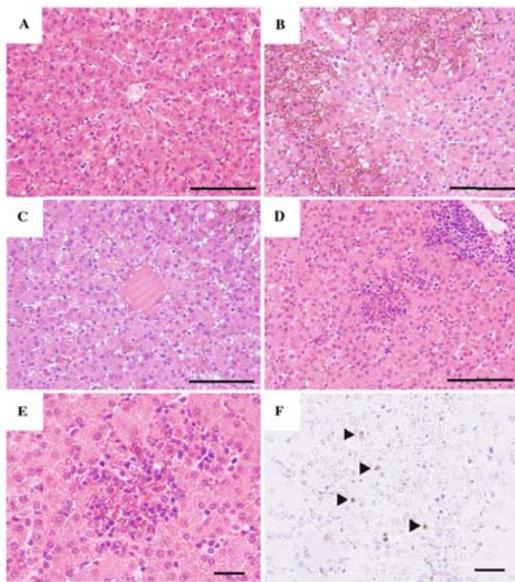
AST、ALTは気腹群で上昇する傾向を示し、AKBRは有意に気腹群で術後に低下し、ICGは気腹群で術後に有意に上昇した。



肝血流量は、気腹群で低下する傾向を示した。



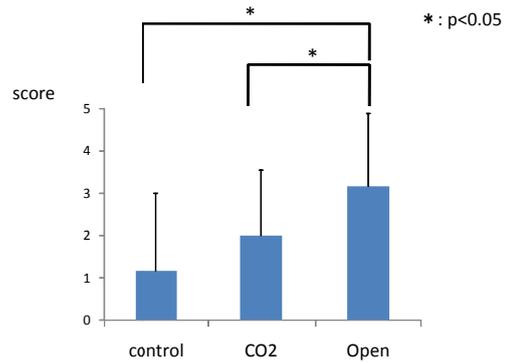
病理組織学的には、気腹群では開腹群（A）と比較して、静脈周囲の肝細胞のブルーニング、脂肪変性、凝固壊死（B、C、D、E）を来し、Tunnel 陽性細胞の出現を見た（F）。



腹腔鏡手術においては、これらの肝機能障害に注意する必要があると考えられた。

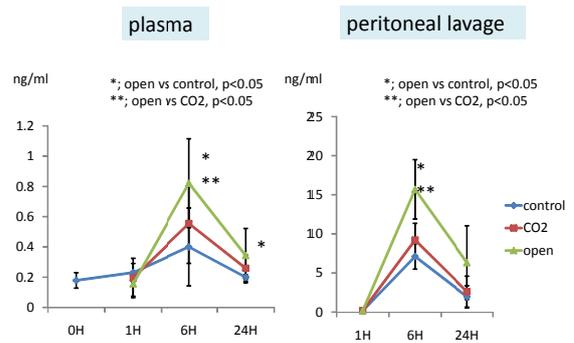
(2). 結果 1. ラット気腹モデルで術後癒着形成程度は開腹手術モデルと比較して有意に抑制された。

術部癒着(Cecal abrasion model) (n=6)

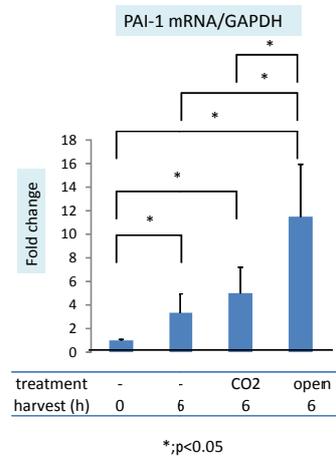


結果 2. 癒着形成に重要である Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) の血中、腹水中の活性は、手術開始後 6 時間目をピークに上昇し、術後 6 時間目における PAI-1 の活性は腹腔鏡手術モデルで、開腹手術モデルよりも有意に減少した。

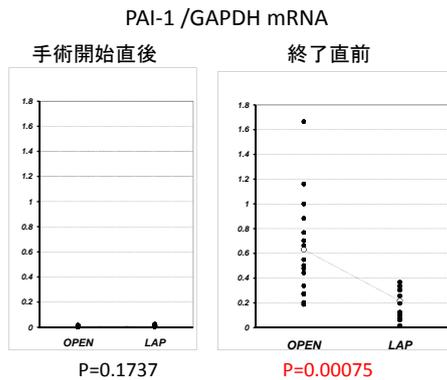
PAI-1 activity, ELISA (n=5)



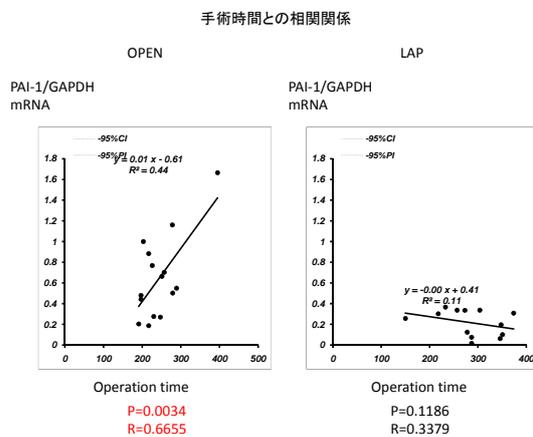
結果 3. ラット大網から抽出した RNA の mRNA 定量解析でも腹腔鏡手術モデルにおける PAI-1mRNA の有意な産生抑制が確認された。



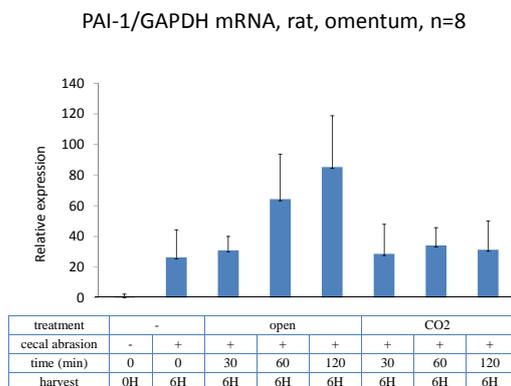
さらに腹腔鏡手術症例におけるヒト検体の解析からも PAI-1mRNA の発現抑制を確認した。



さらに開腹手術では手術時間の延長とともに有意に PAI-1mRNA は上昇したが、この現象は腹腔鏡手術症例では観察されなかった。



ラットモデルでも、開腹手術モデルでは手術時間依存性に PAI-1mRNA は上昇するが、腹腔鏡手術モデルではこの現象は認めなかった。



これらの結果より腹腔鏡手術における癒着減少には、PAI-1 の転写因子での抑制が関与し、さらにこの抑制は手術時間の延長に依存

しないことが示唆された。この成果は腹腔鏡手術の低侵襲性を分子生物学的に証明するものであり、腹腔鏡手術症例における PAI-1 依存性の癒着減少を解明した世界で初めての研究成果である。

今回の2つの実験結果から、炭酸ガス気腹が生体に及ぼし得る悪影響と、良い影響を、通常の開腹手術との比較検討によって証明した。炭酸ガス気腹が生体に及ぼす影響を解明することは、腹腔鏡手術が更に安全で低侵襲な術式へと発展するために重要であり、今回の成果を応用し、腹腔鏡手術はより低侵襲で安全な術式へと発展していくことが期待される。

### 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)

1. Yoshida M, Ikeda S, Sumitani D, Takakura Y, Yoshimitsu M, Shimomura M, Noma M, Tokunaga M, Okajima M, Ohdan H. Alterations in portal vein blood pH, hepatic function, and hepatic histology in a porcine carbon dioxide pneumoperitoneum model, *Surgical Endoscopy*, 査読有, 2010, 24(7), 1693-1700

[学会発表] (計0件)

[その他]  
ホームページ等

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

岡島 正純 (OKAJIMA MASAZUMI)  
広島大学・病院・特任教授  
研究者番号: 90274068  
(H20→H21: 研究分担者)

池田 聡 (IKEDA SATOSHI)  
広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・寄付講座講師  
研究者番号: 60397924  
(H20→H21)

#### (2) 研究分担者

研究者番号:

#### (3) 連携研究者

研究者番号: