

機関番号：16201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20791309

研究課題名（和文） AV shunt loop における乱流と血栓形成に関する実験的研究

研究課題名（英文） What has happened in the preliminary AV shunt loop?—Experiments in rabbits.

研究代表者

木暮 鉄邦 (KOGURE TETSUKUNI)

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40437695

研究成果の概要（和文）：

皮弁移植に用いられる Preliminary AV shunt loop には乱流による血栓形成の危険性が潜んでいるとの指摘がある。そこで今回 preliminary AV shunt loop の実験モデルを作成して血流動態と血栓形成に関する実験的研究を行った。その結果、Loop 血管内では血流速度が通常の約 10-20 倍になり、彎曲部では二次流が生じて渦流、乱流が発生しやすいと考えられた。また、ずり応力が loop 血管内の外側に加わり、内皮障害も生じて血栓形成が惹起されやすい状態であると推察された。

研究成果の概要（英文）：

The preliminary AV shunt loop is known as the simplified method of vein graft, and has been widely performed in the microsurgical reconstruction. However, this method involves the risk of thrombosis due to turbulence. In the present study, an experimental model of the preliminary AV shunt model was created to investigate what has happened in the AV shunt loop. The result showed that turbulent flow is likely to occur in the AV shunt loop and the shear stress over 200 dyne/cm² act on the outer side of the loop vessel. Conclusion: Endothelium damage under a high shear stress and turbulent flow were thought to cause a high incidence of thrombosis and obstruction in the most distal part of AV shunt loop.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：マイクロサージャリー、血行再建

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：AV shunt loop、乱流、血栓

1. 研究開始当初の背景

再建外科領域においては、マイクロサージャリーの手技を用いた組織移植による形態的・機能的再建が行われている。移植組織が生着するためには、移植部位での動静脈血管との吻合が必要である。過去の複数回の手術や外傷によって移植部位に適切な血管がない場合には、移植部位から離れた血管に吻合することになる。この場合には移植組織の血管との間に移植血管が必要となり、一般的に静脈移植が行われる。この静脈移植の簡便法として preliminary AV shunt loop が報告された¹⁾。これは別のチームが皮弁挙上をしている間に、レシピエント血管の動静脈の間に vein graft を吻合して AV shunt loop を形成しておき、皮弁移植の直前に AV shunt loop を切離して、それぞれの断端をレシピエント血管とする方法である。この方法は報告以来、多くの施設で行われているが、一方で乱流による血栓形成の危険性が指摘されている。この preliminary AV shunt loop の危険性については、現在も議論のあるところで未解決の問題である。

2. 研究の目的

今回 preliminary AV shunt loop モデルを新たに作成し、AV shunt loop 血管内の血流動態と血栓形成の関連性について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

材料と方法

(1) AV shunt loop 実験モデルの作成

実験動物は日本白色ウサギ(体重 2.5kg～3.0kg)を用いた。手術操作は全身麻酔で、全て清潔操作でルーペ(×3)または手術用顕微鏡下に行った。大腿動脈と大腿静脈の間に 10 cm の長さの静脈を移植して AV shunt loop

を形成した。移植静脈は、右坐骨静脈～外側伏在静脈前枝の約 14 cm を顕微鏡下に採取し、ヘパリン加生理食塩水で hydro-distension 操作を行った。移植静脈の長さを 10 cm に調整し、移植静脈中枢端と大腿静脈、次いで移植静脈末梢端と大腿動脈の順に血管吻合した。血管吻合には 10-0 ナイロン縫合糸を用いた。血管吻合終了後に血流測定端子を大腿動脈に装着し、血流を再開させた。

(2) 実験群

血流再開直前に、ヘパリン 250IU を経静脈投与した群(ヘパリン群)と非投与群の 2 群に分けた。実験数は各 n=7 とした。何らかの理由で実験数に不足が生じたときには、適宜追加実験を行い補填した。

(3) 測定方法と項目

① AV shunt loop 作成前・後の大腿動脈血流量：超音波トランジットタイム血流量計(T402-PB)、測定端子直径 2 mm を用いて測定した。AV shunt loop 作成前の大腿動脈血流量の測定値は、測定端子を装着後に 2% キシロカインで浸漬し、血流の安定した 10 分値を求めた。作成後の大腿動脈血流量は再灌流後 20 分値とした。

② AV shunt 作成後の大腿動脈の最大血流量：AV shunt loop 作成後に血流を再開した直後の血流量を測定し、最大値を最大血流量とした。

③ 血液粘稠度：

血液粘稠度は TVE-22L 型粘度計を用い、AV shunt loop 作成前に大腿動脈から動脈血を 1ml 採取して測定した。50ppm 値を測定値とした。

④ loop 血管の弯曲度(円相当径/2)：

Loop 血管の弯曲度の解析には血流再開後の loop 血管をデジタルカメラで撮影し、画像解析ソフト WinROOF(Ver. 6.1)を用いて円相当径を測定し、この<円相当径/2>値

を loop 血管の彎曲度とした。

⑤組織学的検討:

血流再開後 30 分以内に血栓によって血流が途絶した loop 血管は、血管吻合部位を含めて採取して 10%ホルマリンで固定した。30 分以上開存した場合には、閉創して 2 週間後に取り出し、10%ホルマリンで固定した。なお、loop 血管採取時に、loop 血管の外壁側に組織マーカーで染色を行った。開存した loop 血管は、毎日超音波ドップラー (ES-1000SPII) でその開存を確認した。ヘパリン群では、ヘパリン 250IU/day を筋注した。採取した loop 血管は、動脈側血管吻合部 (A1)、loop 血管中央部 (M)、A1 と M の中点 (A2)、静脈側血管合部 (V1)、V1 と M の中点 (V2) で、血管軸に垂直方向の組織標本 (HE 染色 PTAH 染色、マッソントリクローム染色) を作成した。この組織像から、 \langle 血栓面積/血管断面積 \rangle 比を求め、A1, A2, M, V2, V1 の各部位における血栓形成度を比較した。また、A1, A2, M, V2, V1 での血栓が血管内のどの部位に見られるかも検討した。

4. 研究成果

(1) AV shunt loop の開存率

non-H 群 2/7 例, H 群 5/7 例とヘパリン投与群の開存率が有意に高かった ($P < 0.05$)。このことからヘパリン投与が AV shunt loop の開存に有用と考えられる。

(2) 測定項目

① AV shunt loop 作成前の大腿動脈血流量:

大腿動脈血流量は non-H 群と H 群ともに 7.22 ± 1.20 ml/min であった。

② AV shunt 作成後の大腿動脈血流量 (開存例

の 20 分値): non-H 群 2 羽で 40.5 ± 21.9 ml/min、H 群 6 羽で 62.3 ± 23.4 ml/min であった。H 群で AV shunt 作成後の血流量が多

いことが明らかとなった。

③ AV shunt 作成後の大腿動脈の最大血流量:

non-H 群 77.5 ± 36.2 ml/min, H 群 91.0 ± 26.2 ml/min であった。また、早期閉塞群 67.7 ± 28.5 ml/min, 開存群 98.6 ± 28.4 ml/min であった。H 群、開存群において最大血流量が多いことが示された。

④ 血液粘度 50ppm 値:

non-H 群 3.13 ± 0.94 , H 群 3.53 ± 0.53 で有意差は見られなかった。

⑤ loop 血管の彎曲度 (円相当径/2):

non-H 群 0.96 ± 0.27 cm, H 群 0.99 ± 0.18 cm で両群間の有意差は無かった。

以上からレイノルズ数は non-H 群 296 ± 160 , H 群 237 ± 67 , で有意差を認めなかった。また、早期閉塞群 300 ± 182 , 開存群 227 ± 284 で有意差を認めなかった。なお、最大レイノルズ数は 608 であった。ずり応力は non-H 群 51.4 ± 32.0 dyne/cm², H 群 67.5 ± 23.6 dyne/cm² で、早期閉塞群 38.8 ± 22.0 dyne/cm², 開存群 76.4 ± 21.6 dyne/cm² であった。なお、最大ずり応力は開存群の 100 dyne/cm² であった。

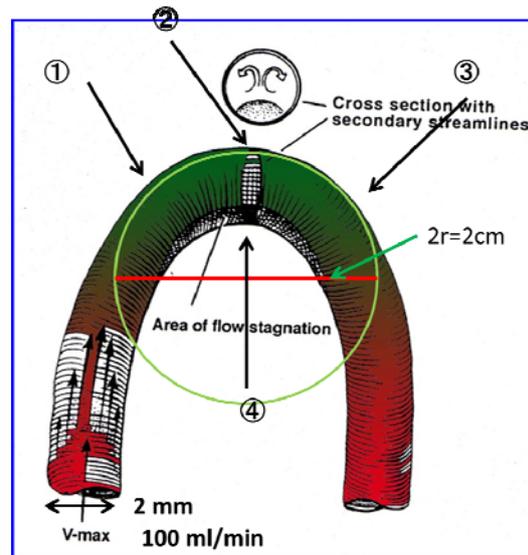
⑥ AV shunt loop の組織学的検討

早期閉塞群では白色血栓が彎曲部の loop 血管外周側内壁に沿って多く認められた。2 週間開存群においても、血栓の器質化と赤色血栓とが彎曲部の loop 血管外周側内壁から年輪状に見られた。

以上の結果から preliminary AV shunt loop 内では、shunt 流の形成によって loop 血管彎曲部で 2 次流、渦流、乱流が発生していると考えられる。また、直線部のずり応力は最大 100 dyne/cm² であったことから、彎曲部では 200 dyne/cm² 以上のずり応力が作用していると考えられる (400 dyne/cm² 以上で血管内皮障害が生じる)。Shunt loop 血管は遊離静脈であるため、血管内皮細胞機能が消失している

と考えられる。以上から、AV shunt loop 血管の血流再開から hemorheology 的に考察する(図参照)。血流再開後に最大血流量が loop 血管入り口から彎曲部を通過して出口に向かうが、直線部では層流であった血流が、彎曲部の入り口(①)で血管壁に衝突、減速され、その結果圧力が高くなり、流れが遅くなつてはく離流れと渦流が形成され、この部位に(白色)血栓が形成される。この血栓形成によって、血液が流れる断面積が小さくなる。次いで、彎曲部の中央(②)では、比較的強度の大きな2次流が形成され、流れの抵抗が大きくなる。④の部位の渦流は、この2次流によって小さくなると考えられる。彎曲部の出口(③)では、遠心力によって、主流方向は血管外側に寄るため、この部位から出口～直線部におけるずり応力が大きくなる(200 dyne/cm²以上が作用すると考えられる)。このため、この部位に相当する血管内皮細胞に障害が生じ、(白色)血栓が形成される。これらの血栓形成の予想部位は組織所見とも一致している。なお、この血栓形成は、彎曲が強いほど、血管径が大きく血流量が大きいほど生じやすくなる。このように、loop 血管内では早期に白色血栓が部分的に形成され、この程度に応じて最大血流量が規定されると考えられる。H 群、開存群が non-H 群、早期閉塞群に比べ最大血流量が多い結果とも一致する。その後の血栓形成の進行程度によって、開存と閉塞に分かれると考えられる。この早期の血栓の予防には、AV shunt loop の血流再開直前のヘパリン投与が有用であった。早期閉塞を免れた2週開存群では、高流量の血流状態が持続し、初期の白色血栓を修飾しつつ、赤色血栓と器質化が加わり、年輪状の血栓形成を呈したと考えられた。このように AV shunt loop は、one stage 群では白色血栓形成している部位を、血管吻合に用い

ることになる。また、two-stage 群では血栓が器質化して狭窄した部位を、血管吻合に用いることになる。このため、合併症の報告が多いと考えられる。以上、AV shunt loop は危険であり、臨床に用いるに当たっては hemorheology を理解した上で慎重に用いることが必要である。



5. 主な発表論文等

[学会発表] (計1件)

- ① AV shunt loop における乱流と血栓形成に関する実験的研究-第1報 木暮鉄邦、田中嘉雄、橋本成広、佐野法久、濱本有祐、小田敦司、宗内 巖 第18回日本形成外科学会基礎学術集会 2009. 10. 1~2 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木暮 鉄邦 (KOGURE TETSUKUNI)

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：4037695