

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09023

研究課題名（和文）血管内皮細胞機能の補完は腸管虚血の予後を改善するか：新規マウス虚血モデルでの検討

研究課題名（英文）The effect of the complementation of vascular endothelial function on outcome after intestinal ischemia and reperfusion

研究代表者

林 美鈴（HAYASHI, Misuzu）

琉球大学・医学（系）研究科（研究院）・客員研究員

研究者番号：60870087

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：マウス腸管虚血再灌流障害を野生型及び肥満・糖尿病型マウスにおいて新規作成した。腸管虚血再灌流障害は肥満・糖尿病マウスでは野生型マウスより重症化し、死亡率が高くなることがわかった。術後48時間の死亡率75%となる虚血時間での虚血再灌流を行い、術後の小腸粘膜、肺、肝組織を評価した。腸管血流量低下に関係すると思われるNO合成酵素や炎症性サイトカインの発現量を小腸粘膜、遠隔臓器において比較検討したが、有意差を認めなかった。術前からの亜硝酸ナトリウム水溶液飲水は肥満・糖尿病型マウスにおいて腸管虚血再灌流術後の生存率を改善しなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満・糖尿病を含む代謝症候群患者は年々増加しており、社会・医療経済に与える影響は大きい。腸管虚血再灌流障害は、消化管手術や心血管手術後に発生するが、肥満糖尿病マウスは野生型マウスよりも腸管虚血再灌流後の死亡率が極めて高いことが我々のマウスモデルから判明した。血管内皮機能の低下した肥満マウスにおいて亜硝酸ナトリウム水溶液の飲水が腸管虚血再灌流障害の予後を改善するか検討したが、有意な改善を認めなかった。

研究成果の概要（英文）：The new intestinal ischemia-reperfusion injury mouse model was established in wild-type and obese and diabetic mice. Intestinal ischemia-reperfusion injury was more severe in obese and diabetic mice than in wild-type mice, with higher mortality. We evaluated postoperative small intestinal mucosa, lung, and liver tissue after ischemia-reperfusion with an ischemia time that results in 75% mortality. The expression levels of NO synthase and inflammatory cytokines, which is thought to be related to decreased intestinal blood flow, were compared in the small intestinal mucosa and remote organs, but no significant differences were found. Preoperative drinking of sodium nitrite solution did not improve survival after intestinal ischemia-reperfusion surgery in obese and diabetic mice.

研究分野：anesthesiology

キーワード：腸管虚血再灌流障害

1. 研究開始当初の背景

腸管の虚血再灌流は重篤な二次性全身性炎症反応を伴い、術中死を含めその死亡率は 50-70% と非常に高い。これまで多くの腸管虚血再灌流障害に関する基礎研究が行われているが、決定的な治療法が確立されていないのが現状である。その大きな要因は、これまでの腸管虚血・再灌流の動物モデルは、その手術侵襲(大きな術創・腸管の露出操作など)が大きく、純粹に腸管虚血・再灌流による予後への影響を確認することが困難であったこと、また遺伝子組み換え可能な優れたマウスモデルが存在しておらず、病態整理へのアプローチが困難であったことなどが挙げられる。我々の開発した、最小限の術創で腸管を露出することなく上腸間膜動脈本幹をクリップで遮断する腸管虚血再灌流モデルは、低侵襲であることから、虚血時間依存的な生存率の再現性が高いことが特徴である。さらにこのモデルを用いた予備実験において、肥満・糖尿病マウス (ob/ob) では野生型マウス (Wild) と比較して短時間虚血で生存率が低下することを確認した。糖尿病や肥満を有するいわゆる代謝症候群では全身の動脈硬化性病変・血管内皮機能不全が起こることで、腫瘍臓器において虚血再灌流障害が重症化しやすいことが知られている。血管内皮細胞は多種多様な生理機能を有しており、その大きな役割の一つが一酸化窒素 (NO) 合成能である。そこで我々は、この予備実験の結果から「腸管虚血再灌流障害の予後と病態整理には血管内皮細胞機能のひとつである NO 合成が大きく関わっている」という仮説を立てた。血管内皮細胞由来の NO は、内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) により生成された後、酸化され亜硝酸 (NO₂) となり全身へと循環される。しかし、この NO₂ は組織の低酸素や pH などの変化により再び NO へと還元され生理活性を発揮することが知られている。このような観点から、我々は全脳虚血・再灌流モデルにおいて亜硝酸ナトリウム (NaNO₂) の効果について検討したところ、虚血中の脳血流の維持と神経細胞のアポトーシス抑制の予後の改善効果を見出し、NaNO₂ 投与は全身の NO を補完することが出来る可能性を示した。以上から、「腸管虚血・再灌流障害、特に肥満・糖尿病モデルにおいて NaNO₂ は全身の NO を補完出来る」という仮説を立てた。

2. 研究の目的

「マウス腸管虚血再灌流障害モデルにおける NO の病態整理への関与と亜硝酸がこのモデルにおいて NO の補完になりうるかを検証すること」を目的とする。

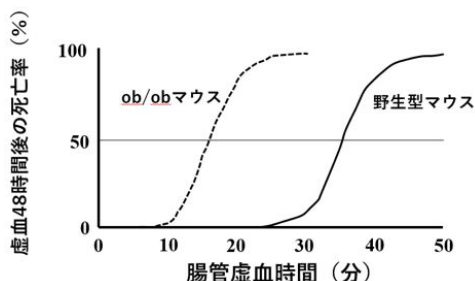
3. 研究の方法

- (1) 亜硝酸塩投与が肥満・糖尿病マウス腸管虚血再灌流モデルの予後を改善させうるか検討する。
- (2) 亜硝酸塩投与したマウスの主要臓器を、組織学的・分子学的に検討し、野生型マウスと肥満・糖尿病マウス腸管虚血再灌流障害における亜硝酸の作用機序を検討する。

4. 研究成果

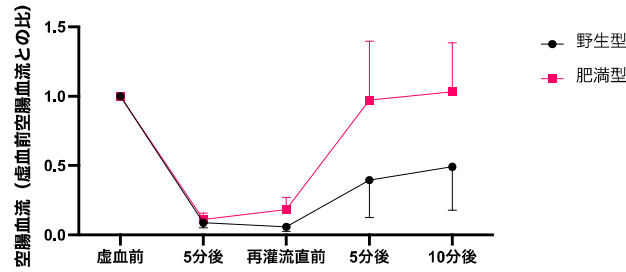
- (1) 肥満・糖尿病マウス (ob/ob マウス) および野生型マウスにおいて腸管虚血再灌流 48 時間後の死亡率が 75% となる虚血時間はそれぞれ 23 分、38 分であった (図 1)。以後、それぞれのモデルマウスにおいて腸管虚血時間はこの時間を使用した。

図 1.



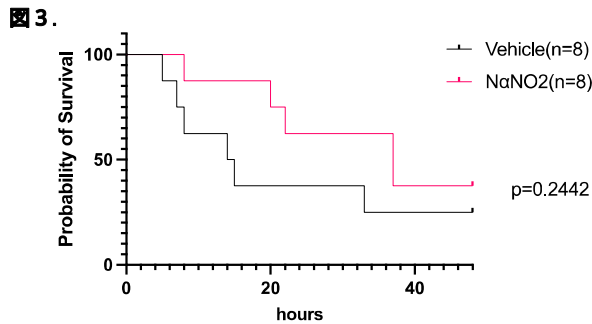
腸管虚血中の空腸血流は、野生型および肥満・糖尿病マウスで差を認めなかったが、再灌流後の空腸血流は肥満・糖尿病マウスにおいて有意に低かった。(図 2)

図2. 空腸血流量



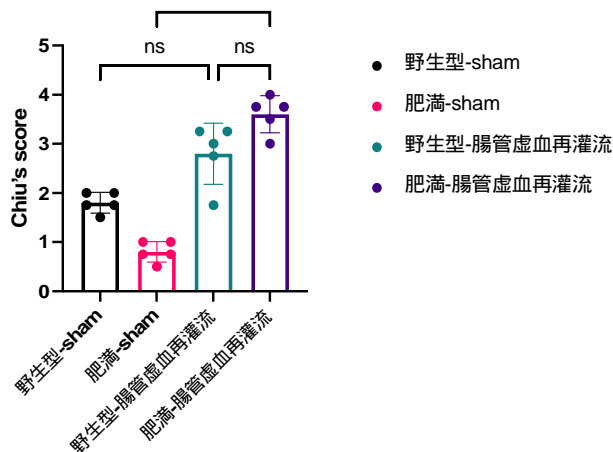
亜硝酸ナトリウム水溶液 0.05, 0.5, 5mM を肥満・糖尿病マウスに術前 5 日間前から自由飲水投与させた。術後 48 時間の生存率は亜硝酸ナトリウム投与によって改善されなかった。(図 3)

亜硝酸ナトリウム飲水後の腸管虚血再灌流後の生存率



(2) 亜硝酸塩投与後のマウスの主要臓器を、腸管虚血再灌流後に採取し、組織学的・分子学的に検討した。小腸粘膜の障害スコア(Chiu's Score)は、肥満型マウスにおいて腸管虚血再灌流障害によって有意に上昇していたが、腸管虚血再灌流をおこなった肥満型マウスと野生型マウスの間に組織学的有意差を認めなかった。(図 4)

図4. 小腸組織障害スコア



肥満・糖尿病マウスにおいて亜硝酸塩投与による小腸粘膜傷害スコアの改善を認めなかった。

また、小腸、肝臓、肺において iNOS, Caspase3, Caspase1, NF- κ B の発現に有意差を認めなかった (Western blotting)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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 |
|-------|--|--|----|
| 研究分担者 | 神里 興太 (KAMISATO Kota) (10554454) | 琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・助教 (18001) | |
| 研究分担者 | 淵上 竜也 (FUCHIGAMI Tatsuya) (10381211) | 琉球大学・病院・講師 (18001) | |
| 研究分担者 | 垣花 学 (KAKINOHANA Manabu) (20274897) | 琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・教授 (18001) | |

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 |
|---------|---------|
| | |