

様 式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：32203

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861697

研究課題名(和文) 遠隔虚血プレコンディショニングによる皮弁の生着範囲と血流動態に関する実験的研究

研究課題名(英文) Value of remote ischemic preconditioning in rat dorsal skin flaps and clamping time

研究代表者

政岡 浩輔 (MASAOKA, KOSUKE)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：10546500

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,200,000 円

研究成果の概要(和文)：Remote ischemic preconditioningでの駆血時間を以下の4群で変えて、ラット背部皮弁で実験を行った。グループA：コントロール群、グループB：両足を15分間駆血した群、グループC：両足を30分間駆血した群、グループD：両足を60分間駆血した群。皮弁の生着面積はグループAで $15.4 \pm 1.8 \text{ cm}^2$ 、グループBで $15.4 \pm 2.0 \text{ cm}^2$ 、グループCで $17.9 \pm 2.0 \text{ cm}^2$ 、グループDで $19.2 \pm 3.4 \text{ cm}^2$ であり、グループA-D間とグループB-D間で有意差を認めた。60分の先行する虚血によるRIPCは、皮弁壊死の予防法として臨床で役立つ可能性があると思われた。

研究成果の概要(英文)：Remote ischemic preconditioning (RIPC) is one “delay” procedure that is highly likely to be useful for preventing skin flap necrosis. Differences in the extent of necrosis in rat dorsal skin flaps when different clamping times were used in RIPC were compared among the four groups described below. Group A was a control group in which no prior ischemic area was created, and both back legs were devascularized for 15 minutes in Group B, 30 minutes in Group C, and 60 minutes in Group D. The experiments were performed on 10 rats in each group, and the area was measured. The surviving area of the skin flap was $15.4 \pm 1.8 \text{ cm}^2$ in Group A, $15.4 \pm 2.0 \text{ cm}^2$ in Group B, $17.9 \pm 2.0 \text{ cm}^2$ in Group C, and $19.2 \pm 3.4 \text{ cm}^2$ in Group D, with significant differences between Groups A and D and between Groups B and D. RIPC consisting of 60 minutes of ischemic preconditioning may be clinically useful as a method of preventing skin flap necrosis.

研究分野：創傷治癒学

キーワード：遠隔虚血プレコンディショニング 皮弁壊死 Delay操作

1. 研究開始当初の背景

【背景】

従来、皮弁を作成する際、皮弁の大きさは経験的に皮弁の長さとの比率によって決定されていた。これ以上の長い皮弁が必要な場合には delay 操作が必要であった。1970 年に Milton は、皮弁の長さが幅に依存せず、皮弁への血液供給により決定されることを動物実験で証明した。1972 年に McGrigor らは、groin flap を考案し、皮弁を random skin flap と axial skin flap の概念へと発展した。これ以降、解剖学的に血行動態が解明されると共に、多くの血行の安定した皮弁が考案された。

しかし現在でも、術後の合併症として皮弁壊死の可能性は常に存在する。皮弁手術において皮弁の壊死となるのは主には動脈の流入不足や静脈の鬱滞などの血行に起因する障害か、遊離皮弁などに見られる虚血による再灌流障害によるかである。これまでは皮弁の壊死を予防する目的で外科的 delay、薬剤投与による pharmacological delay や、supercharging、superdischarging などが行われてきたが、確立した方法はない。

1986 年に Murry ら(1)は、先行する短時間の心筋虚血により虚血耐性を生じ、後の長時間虚血において心筋梗塞サイズの縮小効果が得られる現象を ischemic preconditioning として報告した。彼らは先行する 5 分間 4 回の虚血により、40 分間の冠動脈閉塞による心筋梗塞サイズが対照群の 25% に縮小することをイヌの実験で明らかにした。Ischemic preconditioning の細胞内機序に関するメカニズムとしては、アデノシン、protein kinase C、ROS、NO などが、エフェクタとして ATP 感受性 K チャネル、mitochondrial permeability transition pore が重要であるとされる。

Ischemic preconditioning の心保護作用は、先行虚血から 2 時間以上経過すると消失してしまうが、24 時間以上経過すると再び回復することも明らかとなっており、これを late(あるいは delayed) preconditioning と呼んでいる。

体表外科分野においても、すでに ischemic preconditioning に関する報告はある。1992 年に Mounsey ら(2)は、ブタの広背筋皮弁での先行する 30 分間の pedicle occlusion と 30 分間の reperfusion により、筋皮弁の血流が増加したことを示している。

近年の話題として、remote ischemic preconditioning という概念が報告されている。Remote ischemic preconditioning とは、別の臓器に preconditioning を行うことで preconditioning を受けていない臓器に虚血耐性を獲得させる方法である。

2002 年に Kuntzsch ら(3)は、ラットの浅腹壁動脈を径とした axial skin flap を用いて ischemic preconditioning 群、大腿動脈虚血による remote ischemic preconditioning 群、

ターニケット駆血による remote ischemic preconditioning 群、control 群を比較し、control 群に対して他の全ての群で皮弁の生存域の拡大を認めたことを示している。しかしこれまでに remote ischemic preconditioning による皮弁の血行動態の変化を比較検討した報告はない。

Remote ischemic preconditioning のプロトコルについては、Kuntzsch ら(3)はラットで 10 分の虚血の後に 30 分間の再灌流を行っており、Kraemer らはヒトで 5 分の虚血の後に 10 分の再灌流を 3 セットおこなっている。Kraemer ら(4)の報告によると、remote ischemic preconditioning によって皮膚の組織酸素飽和度の 29% 上昇および毛細血管血流の 35% 上昇を認めたことと示している。

皮膚や筋肉内の血管網を構成する個々の血管の末梢部は、隣接する血管と細網状に吻合しており、この吻合血管を choke 血管と呼ぶ。皮弁挙上時、一つの血管の血流が遮断されると他の血管が解剖学的血行領域の境界線を越えて血流を及ぼす linking 現象が起こるが、この際には choke 血管が変化の中心的役割を演ずるとされる。

Remote ischemic preconditioning により random pattern flap の生着範囲が拡大するのであれば、前述のメカニズムにより choke 血管が拡張することによって linking 現象が起こっていると推測できる。Remote ischemic preconditioning により choke 血管の拡張および linking 現象が起こっているのであれば、全ての random pattern flap の壊死予防・対策となり、これは非常に有意義と考えた。

2. 研究の目的

remote ischemic preconditioning の有無による random pattern flap の生着範囲の違いを確認した。ラット背部皮弁を用いて、remote ischemic preconditioning による皮弁壊死の程度に違いがあるのかを評価した。さらに各グループの choke 血管の拡張による linking 現象の違いについて、血管造影を行うことで血行動態の変化を評価した。

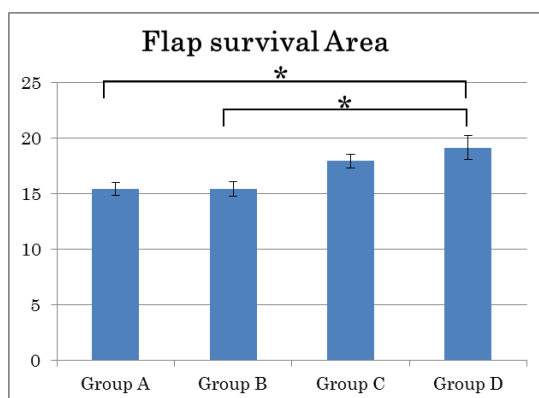
3. 研究の方法

Wistar 系ラット(生後 8 週前後、体重 190 ~ 310g)に対して、以下の 4 群に分け、各 10 匹で実験を行った。グループ A: 先行する虚血部位を作らないコントロール群、グループ B: 両足を 15 分間駆血した群、グループ C: 両足を 30 分間駆血した群、グループ D: 両足を 60 分間駆血した群。実験は、イソフルレンによる全身麻酔下に、他部位を駆血しないようにしたうえで、両大腿に輪ゴムをきつめに巻くことで下肢の虚血を作成することで preconditioning を行い、10 分間の再灌流を行った後に、手術を開始した。手術は 9cm×3cm の背部皮弁を肉様膜上で挙上し、

挙上した皮弁をそのまま戻して皮膚を縫合した。術後 7～8 日目に皮弁の写真撮影を行い、皮弁の生着面積を評価した。写真での皮弁生着面積の解析には ImageJ software(National Institutes of Health, Bethesda, Md.)を用いた。

4. 研究成果

皮弁の生着面積の平均は、グループ A で $15.4 \pm 1.8 \text{ cm}^2$ 、グループ B で $15.4 \pm 2.0 \text{ cm}^2$ 、グループ C で $17.9 \pm 2.0 \text{ cm}^2$ 、グループ D で $19.2 \pm 3.4 \text{ cm}^2$ であった。一元配置分散分析で有意差を認め、下位検定として Tukey の多重分析を適用し、 $p < 0.05$ を有意と判定したところ、グループ A-D 間およびグループ B-D 間に有意差を認めた。



我々の実験では、両下肢駆血によるラット背部皮弁において、15 分の先行する虚血では control 群と全く差がなく、30 分の先行する虚血では control 群と比較した際に有意差があるとはいえなかったが、60 分の先行する虚血では皮弁の生着面積は有意に拡大した。本実験では 60 分間の RIPC は random pattern skin flap の生着面積の拡大を起こすことが明らかとなった。

本法は 2 期手術が不要で、低コストで、簡便な方法である。人間の四肢はラットの下肢とは筋肉量などが全く違うため安易に本研究結果を臨床に直結させることはできないが、RIPC は、皮弁壊死の予防法として臨床でも役立つ可能性があると思われる。

ターニケット駆血の重大な合併症としては、神経障害、肺塞栓症、高クレアチンキナーゼ血症、コンパートメント症候群、横紋筋融解症などの報告がある。Sapega ら(5)は 90 分以上の連続駆血により筋原線維変性徴候の有意な増加を指摘している。

臨床での 90 分以上の長時間の連続駆血には危険が伴うため、臨床で同法を用いる場合には、虚血時間を数回に分割することで合併症を回避する必要があるかもしれない。

<引用文献>

Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: A

delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation 1986; 74: 1124-36.

Mounsey RA, Pang CY, Forrest C. Preconditioning: a new technique for improved muscle flap survival. Otolaryngol Head Neck Surg. 1992; 107: 549-52.

Kuntscher MV, Schirmbeck EU, Menke H, et al. Ischemic preconditioning by brief extremity ischemia before flap ischemia in a rat model. Plast Reconstr Surg. 2002; 109: 2398-404.

Kraemer R, Lorenzen J, Kabbani M, et al. Acute effects of remote ischemic preconditioning on cutaneous microcirculation – a controlled prospective cohort study. BMC Surgery. 2011; 11:32.

Sapega AA, Heppenstall RB, Chance B, et al. Optimizing tourniquet application and release times in extremity surgery. A biochemical and ultrastructural study. J Bone Joint Surg Am. 1985; 67:303-14

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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

政岡 浩輔、朝戸 裕貴、梅川 浩平、今西 理也、鈴木 彩子. ラット背部皮弁における remote ischemic preconditioning の有用性、第 23 回日本形成外科学会基礎学術集会、2014 年 10 月 9 日、キッセイ文化ホール(長野県松本市)。

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等
なし

6．研究組織

(1)研究代表者

政岡 浩輔 (MASAOKA, Kosuke)

獨協医科大学形成外科学

研究者番号：10546500

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし