

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 10 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462337

研究課題名(和文) 肋間・腰動脈結紮による脊椎周囲組織の側副血行発達と新たな脊髄虚血保護戦略の研究

研究課題名(英文) The strategy of protection against ischemic spinal cord injury by development of perivertebral collateral circulation through segmental artery ligation.

研究代表者

山下 敦生 (YAMASHITA, Atsuo)

山口大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50379971

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では脊髄血流を減少させない程度に一部の肋間・腰動脈を結紮する前処置を行い、脊椎周囲組織の側副血行の発達を促すことで、脊髄虚血保護が得られるか検討した。ウサギの肋間・腰動脈を1本または2本結紮した際、脊髄血流量は大きく変化せず、対麻痺も生じなかった。肋間・腰動脈を1本または2本結紮したウサギを用いて、腹部大動脈を15分間遮断すると対照群と同程度に脊髄血流量は低下し、脊髄虚血保護効果は認めなかった。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated whether segmental artery ligation protects against ischemic spinal cord injury by development of perivertebral collateral circulation in rabbits. When one or two segmental arteries near the renal artery were sacrificed, the spinal blood flow hardly changed and postoperative paraplegia did not occur. Spinal cord ischemia was induced by occluding the abdominal aorta for 15 min, and after 7 days of sacrifice involving one or two segmental arteries near the renal artery. The spinal blood flow of the rabbits that underwent segmental artery sacrifice decreased similarly to that of the rabbits that did not undergo segmental artery sacrifice. The spinal cord was not protected by segmental artery sacrifice in rabbits.

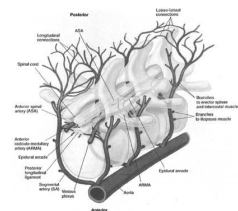
研究分野：麻酔科学

キーワード：脊髄虚血 対麻痺 脳・神経 麻酔科学 胸腹部大動脈瘤 周術期管理

## 1. 研究開始当初の背景

脊髄虚血・対麻痺に対し、多くの研究が行われてきたが、未だその予防、治療法が確立されていない。近年、脊椎周囲組織の細動脈が互いに交通し脊髄を栄養する血流ネットワークを形成しているという概念 (collateral network concept) が提唱され、臨床で脊髄虚血予防対策に影響を与えている<sup>(1)</sup>。これは(1)脊柱管内、椎体周囲組織、傍脊柱筋群の細動脈が互いに交通し、脊髄を栄養する血流ネットワークを形成している (図1)、(2)この血流ネットワークは肋間動脈や腰動脈のような分節血管だけでなく、鎖骨下動脈や下腹部の動脈やその分枝からも供給されている、(3)この血流ネットワークは一部の血管からの血流が減少しても、他の血管から供給される。という概念である。このネットワークは血流が減少すれば、代償的な血管拡張作用や血管新生作用により血流が回復することも報告<sup>(2)</sup>され、新たな脊髄虚血保護戦略になるのではないかと期待されている。

(図1) 脊髄、脊椎周囲血行イメージ



Etz CD et. al. The collateral network concept: a reassessment of the anatomy of spinal cord perfusion. J Thorac Cardiovasc Surg. 2011;141:1020-8 から引用

## 2. 研究の目的

先に示した研究では、脊髄血流が減少する程度まで肋間・腰動脈を結紮した場合、代償的な血管拡張作用や血管新生作用が認められたと報告されている。しかし臨床応用を考慮した場合、脊髄虚血・対麻痺の危険性を伴い実用的ではない。本研究では実験動物を用い脊髄血流を減少させない程度に一部の肋間・腰動脈を閉塞する前処置を行い、脊椎周囲組織の側副血行の発達を促すことで、脊髄虚血保護が得られるか検討し、臨床応用の可能性を見出すことを目的とする。

## 3. 研究の方法

- (1) 家兔の肋間・腰動脈結紮による脊髄血流と脊髄周囲組織血流の変化測定と脊髄への影響確認

New Zealand White rabbit (雄、体重 2.5~3.5kg) を用いて、肋間・腰動脈結紮 1 本群、2 本群 (各 n=3) に分け、血流量変化とその後の後肢運動機能を評価した。

イソフルランによる緩徐導入で全身麻酔をかけ、耳静脈から輸液、薬剤投与を行った。

また耳動脈から観血的動脈圧を測定した。気管挿管後、FiO<sub>2</sub> 0.4、一回換気量 30ml、呼吸回数 30 回/分前後で調節呼吸を行った。全身麻酔はイソフルラン、ベクロニウム、フェンタニルで維持した。

ウサギを伏臥位として腰椎棘突起上を開き、第 6 腰椎棘突起を切除し第 5/6 椎間を開窓した。そこから硬膜外腔に脊髄血流測定用グラスファイバースコープ (JF1、オメガウェーブ社) を挿入した。また脊髄周囲組織血流測定に同プローブを 20G 注射針を用いて、第 4~6 腰椎側方の筋肉内に留置した。このプローブはレーザー血流計 (FL0-C1、オメガウェーブ社) と接続し、切り替えながら連続的に血流量変化を測定、記録した。

次にウサギを右側臥位として側腹部を開き、後腹膜経路で大動脈を露出した。腎動脈起始部頭側または尾側で背側に走行する肋間・腰動脈を同定した。

肋間・腰動脈結紮時のモニタとして心拍数、平均動脈圧 (目標 55~65mmHg)、傍脊柱温 (目標 38)、呼気中二酸化炭素濃度 (目標 40mmHg) を測定した。肋間・腰動脈結紮はサージカルクリップで行い、その前後の脊髄血流、脊髄周囲組織血流、平均動脈圧、傍脊柱温、呼気中二酸化炭素濃度を記録した。肋間・腰動脈結紮 2 本群は、1 本目と 2 本目の間を 10 分以上あけて状態が安定していることを確認して結紮した。プローブなどを抜去し腰部、側腹部を閉創し、全身麻酔から覚醒させた。術後後肢運動機能を 5 段階評価 (4: 正常、3: 跳躍できるが正常ではない、2: よく動くが跳躍できない、1: わずかに動く、0: 完全麻痺) し、術後 7 日目に灌流固定を行い、脊髄組織標本を採取した。

- (2) 肋間・腰動脈結紮による脊髄虚血保護効果の検討

New Zealand White rabbit (雄、体重 2.5~3.5kg) を用いて、対照群、肋間・腰動脈結紮 1 本群、2 本群 (各 n=3) に分け、脊髄虚血時の脊髄並びに脊髄周囲組織血流量変化とその後の後肢運動機能を評価した。

虚血実験 7 日目前、ウサギの肋間・腰動脈を結紮した。全身麻酔下に右側臥位として側腹部を開き、後腹膜経路で大動脈を露出した。心拍数、平均動脈圧 (目標 55~65mmHg)、傍脊柱温 (目標 38)、呼気中二酸化炭素濃度 (目標 40mmHg) を測定しながら、サージカルクリップで肋間・腰動脈を 1 本または 2 本結紮した。この際脊髄並びに脊髄周囲組織血流量は測定しなかった。次の虚血実験時に大動脈を縛るためのテーピングを行い、後腹膜下に留置し閉創した。全身麻酔から覚醒させ、後肢運動機能を評価し、神経学的異常がないことを確認した。

虚血実験時も同様に全身麻酔をかけ、耳動脈から中枢側動脈圧、右大腿動脈から末梢

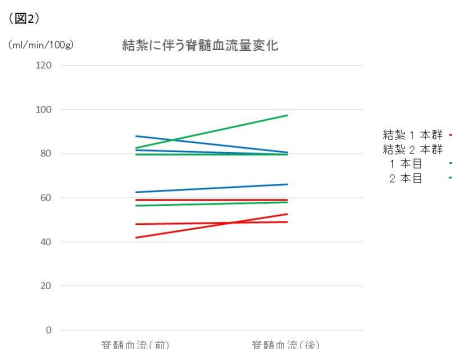
側動脈圧をモニタした。ウサギを伏臥位として腰椎棘突起上を切開し、第6腰椎棘突起を切除し第5/6椎間を開窓した。そこから硬膜外腔に脊髄血流測定用グラスファイバースローブを挿入した。また脊髄周囲組織血流測定に同スローブを20G注射針を用いて、第4~6腰椎側方の筋肉内に留置し、それぞれの血流量を切り替えながら持続的にモニタした。次に右側臥位として7日目に切開した左側腹部を開創し、腎動脈下の大動脈にテーピングしたテープを取り出し、脊髄血流量、脊髄周囲組織血流量、心拍数、中枢側・末梢側平均動脈圧(目標55~65mmHg)、傍脊柱温(目標38)を測定しながら、オクルーダーを用いて大動脈を遮断した。15分後遮断解除し再灌流させ、中枢側・末梢側平均動脈圧が維持できるように輸液負荷、フェニレフリン持続投与を行った。モニタ類を抜去し、腰部と左側腹部を閉創し、全身麻酔から覚醒させた。術後後肢運動機能を評価し、術後7日目に灌流固定を行い、脊髄組織標本を採取した。

脊髄組織標本はホルマリン固定し、病理組織学的評価をHE染色にて第5腰椎の脊髄前角神経細胞数を数えて比較した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 家兎の肋間・腰動脈結紮による脊髄血流と脊髄周囲組織血流の変化測定と脊髄への影響確認

肋間・腰動脈結紮1本群は、全て腎動脈下の肋間・腰動脈を1本結紮し、肋間・腰動脈結紮2本群は、2羽で腎動脈上と腎動脈下の肋間・腰動脈を1本ずつ結紮し、1羽で腎動脈下の肋間・腰動脈を2本結紮した。結紮に伴う心拍数、平均動脈圧、傍脊柱温、呼気中二酸化炭素濃度に変化はみられなかった。結紮に伴う脊髄血流量は、結紮前値と比べ変化率91~125%と大きな変化は認めなかった(図2)。脊髄周囲組織血流量は血流量が少なく、変化率は59~200%と幅があったが、血流量の有意な変化は無いと判断した。



麻酔覚醒後の後肢運動機能も全例神経障害を認めず、腎動脈前後の肋間・腰動脈結紮を1本または2本結紮しても有意な血流量変

化も生じず、結紮に伴って脊髄虚血を生じさせない方法であることが確認できた。

しかし問題点として硬膜外腔に脊髄血流測定用グラスファイバースローブを挿入することの困難さが挙げられた。スローブ自体非常に微細なものだが、ウサギの硬膜外腔も非常に狭く挿入に伴い、硬膜損傷し脳脊髄液が漏出したり、血管損傷して出血したりする個体を経験した。経験に伴い挿入技術の向上があったが、時々損傷を生じ結果への影響が懸念された。実際は硬膜損傷、血管損傷に伴い神経障害をきたした個体は無かった。

また血流量の結紮前値にばらつきを認めた。結紮前値の脊髄血流量42~88ml/min/100gで、最小と最大で倍近い差を認めた。脊髄背側には1本の血管の走行が確認されることが多く、スローブの位置が血管の直上か、周辺かで差が生じる可能性が考えられた。平均的な値である60ml/min/100g前後となるようにスローブの位置を調整することで対応した。しかし頻回のスローブの出し入れは硬膜損傷の危険性が高まるため細心の注意が必要と思われた。

##### (2) 肋間・腰動脈結紮による脊髄虚血保護効果の検討

虚血実験前の肋間・腰動脈結紮ならびに大動脈テーピング処置後に麻痺などの神経障害や明らかな身体異常を認めた個体はいなかった。

実験中の心拍数、平均動脈圧、傍脊柱温、呼気中二酸化炭素濃度、血液ガス分析によるpH、動脈血中酸素分圧、動脈血中二酸化炭素分圧、血糖値、ヘマトクリット値の群間差は認めなかった(表1)。

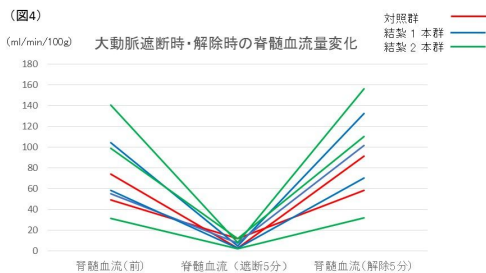
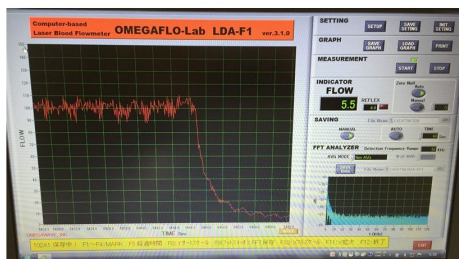
(表1) 生理学的諸表

	心拍数 (速断前)		心拍数 (速断15分後)		pH (速断前)		pH (速断15分後)	
	分回群	結紮1本群	分回群	結紮1本群	分回群	結紮1本群	分回群	結紮1本群
心拍数 (速断前)	300	290	280	260	7.4	7.32		
心拍数 (速断15分後)	305	300	290	275	7.37	7.34		
心拍数 (速断2本群)	285	285	288	278	7.39	7.4		
平均動脈圧 (速断前)								
平均動脈圧 (速断前)	51	56	55	67	194	194		
平均動脈圧 (速断15分後)	44	46	48	46	207	205		
平均動脈圧 (速断2本群)	57	68	75	62	180	186		
末梢動脈圧 (速断前)								
末梢動脈圧 (速断前)	53	10.1	8.4	70	41	46		
末梢動脈圧 (速断15分後)	49	10.2	10.9	59	40	40		
末梢動脈圧 (速断2本群)	56	10	10.5	65	44	40		
傍脊柱温 (速断前)								
傍脊柱温 (速断前)	38	38.3	38.2	38.2	152	153		
傍脊柱温 (速断15分後)	38.1	38.1	37.9	38.1	149	144		
傍脊柱温 (速断2本群)	38	38.1	38	38	146	134		
呼気CO2濃度 (速断前)								
呼気CO2濃度 (速断前)	40	37	40	33	33	33		
呼気CO2濃度 (速断15分後)	40	38	39	32	32	32		
呼気CO2濃度 (速断2本群)	32	34	33	34	34	34		

脊髄血流量は腎動脈下大動脈遮断により明らかに減少した(図3)。遮断により脊髄血流は遮断前の4~23%に減少し、遮断解除により遮断前の103~185%と速やかに回復し、むしろ遮断前より血流量が多かった。しかし遮断、解除操作に伴う脊髄血流量の変化に群間差はみられず(図4)、肋間・腰動脈結紮に伴い側副血行が発達し、腎動脈下大動脈遮断時に対照群と比較して脊髄血流量が保たれることを期待していたが、期待した結果は得られなかった。脊髄周囲組織血流量も同様の結

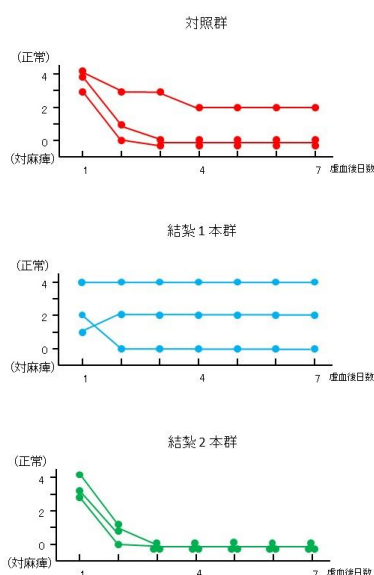
果であった。

(図3) 大動脈遮断に伴う脊髄血流量変化



虚血再灌流7日後まで毎日後肢運動機能を観察した。虚血再灌流1日後は跳躍できる個体(スコア3,4)が多かったが、遅発性に対麻痺が進行した(スコア0~2)(図5)。後肢運動機能評価に関して、対照群との差はみられなかった。病理組織学的評価では、後肢運動機能評価で正常個体は前角の運動神経細胞は保たれていたが、対麻痺個体では運動神経細胞が消失し、前角部に炎症細胞が浸潤していた(図6)。

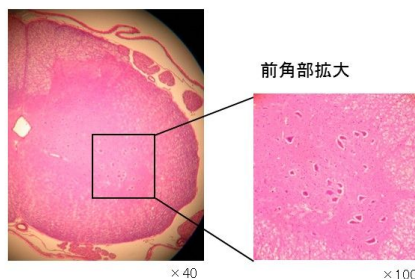
(図5) 後肢運動機能



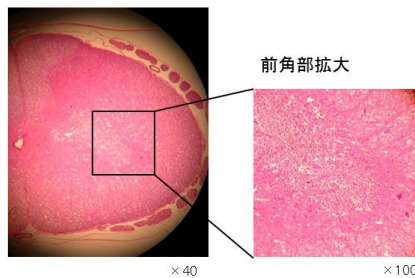
問題点として虚血実験時に再度側腹部を開創する際、組織が癒着しており剥離に時間

図6 第5腰髄病理組織

正常:4



麻痺:0



を要すること、剥離に伴い出血することが挙げられた。出血に伴う貧血が酸素運搬能に影響し虚血を強化する危険性が考慮される。癒着防止のためセブラフィルム(科研製薬)を使用することで、再開創時の癒着が軽減した。また癒着に伴い大動脈遮断の程度が弱くなる可能性が示唆された。末梢血圧を指標に遮断の程度が同程度になるように心掛けた。

脊髄血流量測定のためのプローブ挿入に伴う硬膜や血管損傷も虚血実験時も発生し、血流量測定や術後の後肢運動機能に影響を与えた可能性が考えられた。

本結果は幾らかの問題点を抱えた環境であるが、この環境下では肋間・腰動脈結紮による脊髄虚血保護効果はみられなかった。問題点を改善したさらなる研究が必要と思われた。

<引用文献>

- (1) Spinal cord perfusion and protection during descending thoracic and thoracoabdominal aortic surgery: the collateral network concept. Griep RB et.al. AnnThorac Surg. 2007; 83: S865-9.
- (2) Spinal cord perfusion after extensive segmental artery sacrifice: can paraplegia be prevented? Etz CD et.al. Eur J Cardiothorac Surg. 2007; 31: 643-8.

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〕  
出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山下 敦生 (YAMASHITA, Atsuo)  
山口大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：50379971

### (2) 研究分担者

松本 美志也 (MATSUMOTO, Mishiya)  
山口大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：60243664

石田 和慶 (ISHIDA, Kazuyoshi)  
山口大学・大学院医学系研究科・准教授  
研究者番号：80314813

山下 理 (YAMASHITA, Satoshi)  
山口大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：20610885