

令和 2 年 5 月 12 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15543

研究課題名（和文）腸管虚血再灌流における腸管組織酸素飽和度の画像化と予後予測への応用

研究課題名（英文）Intestinal viability after Acute Mesenteric Ischemia in Rats: Oxygen Saturation Mapping using Photoacoustic Imaging

研究代表者

小森 隆弘 (Komori, Takahiro)

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：80816356

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,800,000円

研究成果の概要（和文）：近年の画像診断の進歩においても急性腸管虚血の早期診断は難しく、死亡率は数十年低下していない。外科的手術において虚血腸管の切除に関しては、外科医の主観的、非定量的な判断に委ねられており、高度な臨床経験を要求される。近年普及しつつある光音響イメージングでは血流情報に起因する組織酸素化程度の画像化及び定量化を可能とした。

虚血・再灌流腸管の評価のもとになる絞扼性イレウスを模したラットモデルを作成し、再灌流後の虚血腸管の組織酸素飽和度を評価、経時的な変化を確認することで、任意の部位における不可逆的な虚血障害を予測できる可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の画像診断の進歩においても急性腸管虚血の早期診断は難しく、虚血腸管の切除に関しては、外科医の主観的、非定量的な判断に委ねられており、高度な臨床経験を要求される。近年普及しつつある光音響イメージングでは生体内における組織内酸素飽和度の可視化及び定量化が可能であり、虚血・再灌流腸管と組織酸素飽和度の関連性を簡便に施行できる光音響イメージングで定量化することは実臨床における不必要な腸管切除の回避、腸管切除範囲の評価になど治療方針の決定に与えるメリットは大きい。

研究成果の概要（英文）：In recent years, despite advances in radiological diagnostic methods, early diagnosis of acute intestinal ischemia remains a challenge. During the operation of acute intestinal ischemia, there is no reliable objective marker of intestinal viability to determine the resection margin, thus it is dependent on the subjective and non-quantitative judgment of the surgeon, and requires advanced clinical experience. Photoacoustic imaging (PAI), which has become popular in recent years, enabled imaging and quantification of the degree of tissue oxygenation caused by blood flow information.

Creating a rat model simulating strangulation ileus that is the basis of ischemia/reperfusion intestinal tract, we assessed the tissue oxygen saturation of ischemic intestine after reperfusion. We suggested the possibility of predicting irreversible ischemic injury at any site.

研究分野：放射線科学

キーワード：光音響イメージング 腸管虚血 組織内酸素飽和度

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年の画像診断の進歩においても腸管虚血の早期診断は難しく、死亡率は数十年低下していない。また診断後、外科的手術において虚血が解除された後も障害が回復しない腸管は切除の対象となるが、術中にその予後の予測は外科医の主観的、非定量的な判断に委ねられており、高度な臨床経験を要求される。その中、昨今欧米を中心に普及しつつある光音響イメージング(PAI)ではリアルタイムに光イメージング画像を高解像度の超音波画像と同時に取得することが可能である。光により励起された蛍光物質が熱の形でエネルギーを放出して、周囲組織の熱膨張により発生した音響波を超音波検出器でイメージングしている。また、特定の対応した波長を用いることで体内あるいは体外由来の色素体を特異的に描出することが可能であり、さらにパルスオキシメータと同様に、異なる波長の励起光を用いることで酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンの比率から酸素飽和度を測定でき、これを超音波画像と同時に描出することが可能である。

既に虚血状態の評価に関してマウスの心筋虚血や腎臓の虚血に関する研究が進められているが、腸管虚血に関する報告は少なく、腹部領域で虚血・再灌流を評価する場面において直接組織内酸素飽和度を評価する画像検査法は存在せず、超音波ドップラーや造影CTによる血管や腸管壁の増強効果の有無といった間接的評価に留まる。そのため、PAIを用いて生体内における虚血腸管の組織酸素飽和度の可視化および定量化を行い、虚血腸管の障害度との関連を評価、客観的な指標を確立することは非常に重要である。

### 2. 研究の目的

絞扼性イレウスを模したラットモデルを作成し、虚血程度(軽症虚血、重症虚血)と再灌流後の組織の酸素化状態・病理組織学的な障害程度を評価し虚血を解除された腸管の予後を定量的・客観的に評価する方法・指標を確立することを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### ・ラットモデルの作成

SDラット(10~16週、500-600g)合計18匹に対してイソフルラン吸入麻酔(5%)で導入麻酔、三種混合麻酔(塩酸メトミジン(0.15mg/kg)、ミダゾラム(2.0mg/kg)、酒石酸ブトルファノール(2.5mg/kg))で維持麻酔を施行し仰臥位で腹部正中切開を施行、回盲弁から20cmの長さの回腸を対象に、3カ所(腸間膜動静脈および2カ所の辺縁動静脈)を血管用クランプでクランプし絞扼性イレウスを模したラットモデルを作成した(図1)。所定の長さの虚血時間の後、クランプを解除しコントロール群6例・軽度虚血(Mild AMI; 30分虚血)6例・重度虚血(Severe AMI; 180分虚血)6例を設定した(図2)。なお研究当初は上腸間膜動脈起始部でクランプするSMA塞栓症モデルも作成していたが、下腸間膜動脈や胃十二指腸動脈などからの側副路からの血行が一定でなく、障害もPatchyに起こりPAIで観察するROIを設定しにくいとため、均一な虚血を作成しやすい絞扼性イレウスモデルを選択した。虚血中および再灌流後にPAIを用いて酸素飽和度をモニタリング、MouseOx Plusを用いてバイタルサインをモニタリングし、深麻酔による低換気を否定した(SpO<sub>2</sub> > 90%前後)。

図1; 絞扼性イレウスラットモデル



図2; Mild AMI; 30分虚血

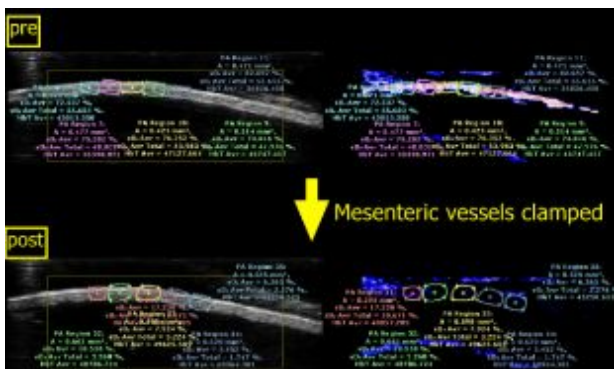


Severe AMI; 180分虚血



#### 4 . 研究成果

図 3 ; US 画像 ( 図左側 ) および PAI ( 図右側 )



#### ・血液検査

腸管虚血解除後、末梢血を採血し各種項目 ( AST、CK、LDH、Lactate ) を測定した。加えて、虚血腸管から得た血液中の Lactate を測定した。

#### ・病理組織評価

画像解析後に採取した腸管組織はヘマトキシリン・エオジン染色 ( HE 染色 ) を行い、Blind で病理医により評価、腸管虚血の病理評価において最も広く用いられている Chiu/Park らのスケールを使用した ( 0. Normal mucosa、1. Subepithelial space at villus tips、2. Extension of subepithelial space with moderate lifting、3. Massive lifting down sides of villi, some denuded tips、4. Demuded villi, dilated capillaries、5. Disintegration of lamina propria、6. Crypt layer injury、7. Transmucosal infarction、8. Transmural infarction )

\* 粘膜層全体の梗塞である Score 7 以上が不可逆的な虚血と判断される。

#### 4 . 研究成果

sO<sub>2</sub> の虚血前のベースの値は 70-80%程度で、既報 ( Karliczek A, et al. Colorectal Dis. 2010 Oct;12(10): 1018-25. ) に合致することを確認した。腸管クランプ後に速やかに sO<sub>2</sub> が 30%未満へ低下していく様子を観察、5 分程度でプラトーとなった ( 図 4 )

腸管虚血解除後の経時変化を表 1、図 5 に示す。虚血解除直後のベースラインは 2 群に有意差を認めなかったが ( p=0.2983 )、虚血解除 1 分後、5 分後、10 分後、30 分後、60 分後すべてにおいて軽症群・重症群の間に有意差を認めた ( それぞれ p=0.0056、0.0069、0.0002、0.0019、0.0014 )

#### ・画像解析

##### PAI プロトコル

酸素化ヘモグロビンに吸収されやすい 750nm、脱酸素化ヘモグロビンに吸収されやすい 850nm の 2 つの波長を用いて酸素飽和度を測定している。US で評価し US と PAI を平行表示し ROI を設定し数値を計測した ( 図 3 )

虚血解除後、軽症虚血群・重症虚血群に対して再灌流後 1 時間後まで酸素飽和度を測定した。

組織サンプルを採取する前にカテーターによる上腸間膜動脈の Digital subtraction angiography ( DSA ) を施行した。

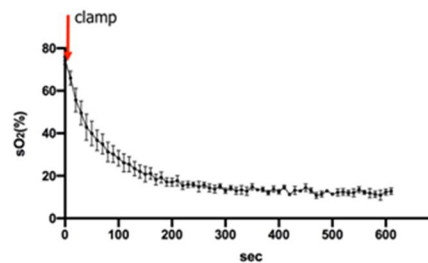
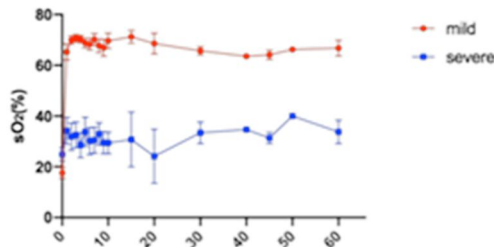


図 4 ; 組織酸素飽和度の虚血による経時的推移

表 1 ; 虚血解除後の酸素飽和度の推移

Time (min)	sO <sub>2</sub> on mild group	sO <sub>2</sub> on severe group	p-value
0	17.503±2.156	24.867±2.595	0.2983
1	65.268±3.174	34.230±5.285	0.0056
5	68.788±1.870	33.842±5.785	0.0069
10	69.633±2.974	29.424±4.283	0.0002
30	65.723±1.629	33.461±4.309	0.0019
60	66.763±3.071	33.763±4.591	0.0014

図 5 ; 虚血解除後の酸素飽和度の推移



虚血解除後の 10 分間をより詳細に描出したものを作成、評価を行ったところ、軽症虚血群では再灌流後 5 分以内に腸管虚血前のベースラインまで酸素飽和度が回復しているのに対して重症虚血群で十分な回復が得られない傾向を示していた。再灌流後に撮像した上腸間動脈の DSA では虚血再灌流後部位における血管の開存が確認され、重症群においては局所の虚血腸管の濃染がやや減弱している印象であったが、主観的な評価のため十分な検討が行えなかった ( 図 6 )

血液検査および局所乳酸値を測定した結果、末梢血の Lactate はコントロール群と比して軽症虚血群・重症虚血群とともに有意差を認めた。LDH, CK は軽症虚血群では有意な上昇を認めなかったが、重症虚血群では軽症例より有意に上昇していた。そのほか、虚血腸管局所の Lactate も比較検討している。コントロール群と軽症虚血群の間には有意差を認めなかったが、重症虚血群はコントロール群、軽症虚血群より有意に上昇していた ( 図 7 )。

図 6 ; 重症虚血群 再灌流後 DSA

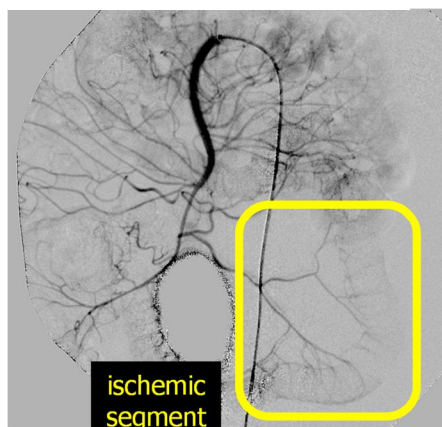
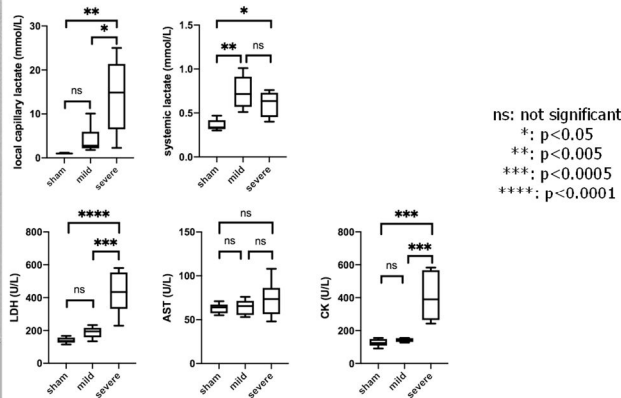


図 7 ; 血液検査



虚血・再灌流後腸管の病理組織学的な評価では重症虚血群の全例が不可逆的な障害を負っていた。

虚血腸管との障害度と各時点での酸素飽和度との相関を検討した結果、虚血解除 1 分後、5 分後、10 分後、30 分後、60 分後の酸素飽和度はいずれも病理組織学的重症度と有意に高い相関を認めた ( 図 8 )。つまり、観察したい腸管における再灌流後の酸素飽和度が低いほど病理学的に強い障害を反映することが明らかとなった。

一方で局所の腸管状態を反映する局所乳酸値については、病理学的障害度との有意な相関は認めなかった。

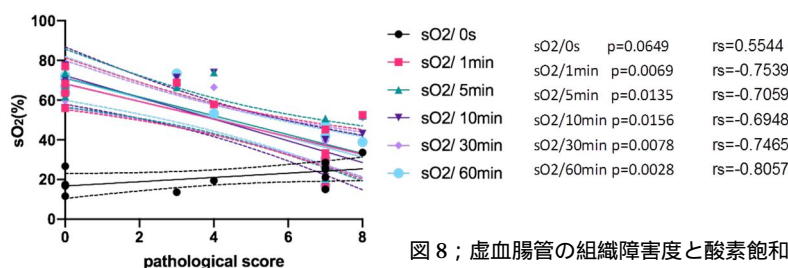


図 8 ; 虚血腸管の組織障害度と酸素飽和度の相関

従来、虚血腸管の予後つまり術中に切除する必要があるかどうかの判断は、色調、蠕動や拍動の有無、切除した際の切離面からの出血の有無などによって評価され、術者の主観的、非定量的な判断に委ねられていたが、これを誤ると腸管の狭窄～閉塞や壊死、縫合不全および短腸症候群の原因となってしまう。しかしながら色調の変化は腸管虚血の早期には反映されにくいこと、低血圧や血管攣縮により拍動は不明瞭となりやすいこと、また不可逆的な障害を受けた腸管においても色調や拍動の改善がみられる等の報告があり、臨床所見のみからの十分な判断基準は定まっていない。客観的な指標の必要性は以前より述べられており、カラードブラをはじめとするモダリティの有用性の報告はあるものの、いずれも十分な判断材料となるに至っていないのが現状である。また可視光や近赤外光を用いた腸管の酸素化の可視化についての研究も行われているが、漿膜面 ( 腸管の表面 ) のみからの観察となるため、粘膜面から障害が始まる腸管虚血の特性上、深部 ( 粘膜面 ) の観察が可能なモダリティの確立が求められる。超音波画像を用いた光音響イメージングでは漿膜面からの観察に限らず粘膜面までの観察が可能で、酸素飽和度を数値化することによる客観的、定量的な指標を得ることが可能となる。

今回の研究結果より、軽症虚血群・重症虚血群の比較では LDH、CK の有意な上昇を認め、これらの上昇はより重度の障害が存在する可能性を示唆すると言えるが、これは虚血腸管の量 ( 長さ ) にも依存し得ると考えられ、採血のみでは局所の ( 任意の ) 腸管の予後を選択的に評価することはできない。一方で局所の Lactate 値の測定により術者の観察したい領域の評価が可能であるが、重症群は軽症群より有意に高い数値を示したものの、最終的な病理組織障害度との

間には有意な相関を認めなかった。

再灌流後の酸素飽和度は軽症虚血群において重症群より有意に高い値であった。また再灌流後の酸素飽和度は、病理学的障害度と有意に負の相関を示していることが明らかとなった。これらの結果から、PAI によって再灌流後の酸素飽和度を測定することで、任意の領域における不可逆的な虚血障害度を予測できる可能性が示された。また、超音響イメージングの原理的には従来の超音波による観察に比べより深部の情報を得られやすいため、今後機器の性能向上に従い実臨床において診断の難しい非閉塞性腸管虚血（NOMI: non-occlusive mesenteric ischemia）を含めた腸管虚血を経皮的に（開腹することなく）術前に検出することも可能となり得る。

この研究結果は 2020 年第 79 回日本医学放射線学会総会で報告予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hamaoka M, et al.	4. 巻 Oct;37(10)
2. 論文標題 Early detection of intrahepatic cholangiocarcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Jpn J Radiol	6. 最初と最後の頁 669-684
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11604-019-00860-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inoue D, et al.	4. 巻 213
2. 論文標題 CT Findings of Thoracic Paravertebral Lesions in IgG4-Related Disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American Journal of Roentgenology	6. 最初と最後の頁 W99 ~ W104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2214/AJR.18.20834	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Komori T, et al.	4. 巻 Jun;29(6)
2. 論文標題 CT imaging comparison between intraductal papillary neoplasms of the bile duct and papillary cholangiocarcinomas.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Eur Radiol	6. 最初と最後の頁 3132-3140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00330-018-5841-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Toshima F, et al.	4. 巻 43
2. 論文標題 Qualitative and quantitative evaluation for morphological changes of the splenic artery in autoimmune pancreatitis: novel imaging findings for differentiation from pancreatic adenocarcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Abdominal Radiology	6. 最初と最後の頁 3357 ~ 3366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00261-018-1634-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoneda N, et al.	4. 巻 Aug;43(8)
2. 論文標題 Peri-tumoral hyperintensity on hepatobiliary phase of gadoteric acid-enhanced MRI in hepatocellular carcinomas: correlation with peri-tumoral hyperplasia and its pathological features.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Abdom Radiol (NY)	6. 最初と最後の頁 2103-2112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00261-017-1437-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 井上 大, et al.	4. 巻 40巻8号
2. 論文標題 【IgG4関連硬化性胆管炎の診療ガイドラインと残された問題点】IgG4関連硬化性胆管炎の画像診断と問題点(解説/特集).	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 胆と膵	6. 最初と最後の頁 705-709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 小坂一斗, et al.	4. 巻 63巻8号
2. 論文標題 胆道狭窄の画像診断(総説)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 臨床放射線	6. 最初と最後の頁 885-895
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 小坂一斗, et al.	4. 巻 38巻10号
2. 論文標題 【肝の画像診断update】肝内胆管病変の画像診断(解説/特集)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 画像診断	6. 最初と最後の頁 1047-1057
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 小森 隆弘, et al.	4. 巻 39巻8号
2. 論文標題 【胆管内乳頭状腫瘍(IPNB)の病態と診療の現状】 IPNBの画像による鑑別診断(解説/特集)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 胆と膵	6. 最初と最後の頁 719-725
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松原 崇史, et al.	4. 巻 30巻5号
2. 論文標題 【どうする膵嚢胞】 総論 横断画像でみる膵嚢胞性疾患(解説/特集)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 消化器内視鏡	6. 最初と最後の頁 570-580
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Sugiura Takumi, et al.
2. 発表標題 Intestinal viability after Acute Mesenteric Ischemia in Rats: Oxygen Saturation Mapping using Photoacoustic Imaging
3. 学会等名 第79回日本医学放射線学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Komori Takahiro, et al.
2. 発表標題 Ultrasonography of IgG4-related lacrimal and salivary gland lesions: imaging features and clinical usefulness
3. 学会等名 第78回日本医学放射線学会総会
4. 発表年 2019年



〔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
--	---------------------------	-----------------------	----