

平成21年 4月 30日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19790967  
 研究課題名（和文） 冠動脈バイパス手術における心筋誘電特性による適正バイパス手術の決定に関する研究  
 研究課題名（英文） Study for the Adequate Prediction in Coronary Artery Bypass Grafting with Myocardial Electrical Assessment  
 研究代表者  
 宮内 忠雅 (MIYAUCHI TADAMASA)  
 岐阜大学・大学院医学系研究科・非常勤講師  
 研究者番号：00324301

## 研究成果の概要：

日本白兔で虚血心モデルを作成し、経胸壁心エコー検査、直視下での観察、病理学的評価で正常及び虚血心筋の viability 評価を施行した。それらを元に、立体的な心筋電極の作成に取り掛かったが完成には至っていない。一方で、適正な冠動脈バイパス術を施行する上で静脈グラフトの内膜肥厚を抑制する必要があるとあり、日本白兔の総頸動脈に外頸静脈を吻合し、抗腫瘍薬のパクリタキセルを投与して sonoporation を行うと内膜肥厚を抑制した。今後、誘電特性との対応を検討する予定である。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	3,200,000	0	3,200,000
2008年度	100,000	30,000	130,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	30,000	3,330,000

研究分野：虚血性心疾患

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：冠動脈、心筋虚血、血行再建、心筋血流評価

## 1. 研究開始当初の背景

近年、食生活や生活スタイルの欧米化とともに、虚血性心疾患の割合も増加してきている。DES の登場によりカテーテル治療が盛んに行われている一方で、重症の虚血性心疾患の外科治療症例も増加してきている。重症3枝病変や虚血性心筋症には、冠動脈バイパス手術や左室形成術が行われているが、最近レーザー心筋内血管新生術 (TMLR) も認可され、今後重症虚血性心疾患への治療は多様でさらに重要になってきている。

冠動脈バイパス術は、狭窄または閉塞している冠動脈が支配している領域の心筋の虚血を改善する目的で行われる。そのため冠動脈バイパスを行う際、バイパスのデザインは主に CAG の所見で決定される。また心エコーや心筋シンチグラムで心筋バイアビリティの評価も行い、虚血にさらされている生存心筋の局在を把握しておく必要もある。これらの結果を総合してバイパスのデザインが決定され、虚血に陥っている心筋に対して必要な血液をバイパスグラフトにより供給することが重要であるが、従来はこのデザインを

決定するのは術者の経験によるところが大きい。術中にグラフトの質や吻合のクオリティを評価する方法として、トランジットタイム血流量計やSPYシステムといった方法が臨床で使用されている。しかし、これらの方法は実際に血液が流れていることは評価可能であるが、実際に心筋にどれだけの血液需要があるのか、またバイパスにより血流が充足するようになったのかを術中に判断する方法はない。

また、左心室形成手術は心筋のリモデリングにより異常に拡張した左室壁を切除・縮小させることにより左室の仕事効率を向上させる手術である。心室壁を、exclusion または切除する場合、その範囲は術前の心エコー、心筋シンチグラフィ、左心室造影などにより予測・計画される。有効に心筋を切除することができれば、手術成績の向上に結びつくが、心筋の障害の程度は一樣ではなく、このばらつきの程度を詳細に把握することは困難である。心筋の障害部位の程度と局在を詳細に把握し、もっとも効果の得られる形成デザインを決定することは手術成績の向上につながるが、現在のところは最終的に術者の経験により決定され、客観的評価による根拠に乏しいのが現状である。

## 2. 研究の目的

生体の電気特性は、組織構造や化学的組成、生理学的条件など種々の要因の相違を鋭敏に反映する。試料に広帯域の周波数にわたる交流波形を負荷することにより、その電氣的周波数特性が得られる。この電氣的特性は脂質2重膜構造をしている細胞膜を電氣的コンデンサと考え、組織をそのコンデンサの集合体と捉えることにより説明されている。また細胞膜の他に、間質の細胞液やイオンチャネルも影響することが知られている。そのため組織の電氣的变化、構造的変化を鋭敏に反映し、それを解析することにより定性的、定量的に組織の状態を捉えることが可能である。又その測定は、容易に、迅速かつ無侵襲に行うことができる。そこで申請者は1995年よりこれに注目し、骨格筋において、広帯域の周波数にわたる組織の特性の誘電スペクトル法による解析を試み、骨格筋組織の虚血中における viability の定量的評価が可能であることを実験により明らかにした。また本研究を含めた当施設の研究グループは、生体の誘電特性を生かしてこれまでに心臓、肝臓、腎臓の虚血中における viability の定量的評価が可能であること報告してきた。本研究ではこの誘電特性手法を用いることにより虚血心筋の局在部分を電氣生理学的に判定し、壊死心筋の切除範囲やバイパス

グラフトの血流の充足を術中に判定するシステムを確立することで、適切かつ最大限有効な冠動脈バイパス術を可能にする事を目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 動物実験における正常心筋または虚血心筋の心筋 viability の評価

ウサギ冠動脈虚血再灌流モデルの作成；  
日本白兔(2.5~3.0kg)を用いて、全身麻酔下での胸骨正中切開で心嚢内に到達した。冠動脈左前下行枝を30分遮断した後、再灌流させ、冠虚血再灌流モデルを作成した。

術後4週間で下記の評価を行った。

- ① 経胸壁心エコー検査による壁運動評価と梗塞部位の局在評価  
心機能に関しては、左室拡張末期径(LVDd)、左室駆出率(EF)を測定し評価した。
- ② 再開胸による肉眼的壁運動の評価及びマッピング  
再度全身麻酔下で再開胸した。
- ③ 色素注入による冠動脈灌流域評価  
初回手術時の冠動脈閉塞に用いたターニケット糸を留置しておいた。再手術時に再度このターニケット糸を用いて冠動脈左前下行枝を閉塞した。上行大動脈より Evans-blue-dye を注入することで、染色される非虚血部位と、染色されない虚血部位の識別を行った。
- ④ 病理学的な壊死、線維化領域の評価  
採取標本心臓をTTC(triphenyltetrazolium chloride)に含浸し、虚血部位内の壊死領域を肉眼的に識別した。また、組織標本を作製し、Masson-trichrome (MTC)染色を行い、心筋の繊維化領域を識別した。

### (2) 上記(1)の結果を応用した立体的な心筋電極の作成

### (3) パクリタキセルによる静脈グラフトの内膜肥厚抑制効果の評価

日本白兔(2.5~3.0kg)を用いた静脈バイパスモデルの作成；  
全身麻酔、気管内挿管による人工呼吸管理下で行った。  
頸部を切開して外頸静脈を露出し、約2cmこれを切除して移植グラフトとした。  
総頸動脈を剥離、テーピングした。ヘパリン静注後に総頸動脈を遮断、切開し、上述の外頸静脈グラフトをアーチ状に2ヶ所端側吻合し、吻合部間の総頸動脈は結紮した。

静脈グラフト内膜肥厚抑制薬として、冠動脈ステントの内膜肥厚防止に用いられている抗腫瘍薬のパクリタキセルを用いた。Sonoporationとして、静脈グラフトに2W/cm<sup>2</sup>、1MHzの超音波を約2分間作用させた。以下の如く4群にグループ分けした。

- ① パクリタキセル投与及び sonoporation を行う群
- ② バイパスのみの群
- ③ パクリタキセル投与のみの群
- ④ sonoporation のみの群

術後4週間で犠牲死させ、組織標本で以下の項目に関して検討した。

- ① elastica van Gieson 染色；  
移植した外頸静脈グラフトの内膜肥厚を評価
- ② proliferating cell nuclear antigen (PCNA)；  
内膜肥厚抑制効果が血管平滑筋細胞増殖能の抑制にあるか否かを評価
- ③ TdT-mediated X-dUTP nick end-labeling (TUNEL) 染色

#### 4. 研究成果

##### (1) 動物実験における正常心筋または虚血心筋の心筋 viability の評価

- ① 心エコーによる心機能評価  
冠動脈左前下行枝の虚血再灌流モデル心では、術前と比較してLVDdで術前の1.49倍に拡大しており、EFは術前の0.64倍に低下し、有意に心機能低下を認めた。
- ② 肉眼的壁運動の評価及びマッピング  
淡桜色を呈する非虚血部位と、暗赤色を呈する虚血部位は容易に肉眼的に識別可能であり、これらをマッピングした。
- ③ 色素注入による冠動脈灌流域評価  
左冠動脈前下行枝閉塞による左室の虚血領域は、体積で左室全体の21.7±4.0%であった。
- ④ 病理学的な壊死、線維化領域の評価  
左室断面面積における梗塞領域は32.1±10.9%であり、同じく繊維化領域は19.4±5.5%であった。

##### (2) 体的な心筋電極の作成

完成には至っていない。

##### (3) パクリタキセルによる静脈グラフトの内膜肥厚抑制効果の評価

- ① 内膜肥厚抑制効果  
すべてのグラフトは、採取しただけの静

脈と比較して内膜が肥厚していた。バイパス単独群(C group)と比較して、paclitaxel 単独投与(P group)およびpaclitaxel + sonoporation 併用群(P+S group)は、内膜肥厚が抑制されていた。Sonoporation 単独群(S group)はC groupと比較して内膜肥厚が抑制されなかった。P group と比較して P+S group はさらに内膜肥厚が抑制されていた。paclitaxel 全身投与はgraftの内膜肥厚を抑制する傾向にあり、sonoporationの併用により有意に抑制されることが示された。

##### ② PCNA index

C group と S group は PCNA index に有意差を認めなかった。C group と P group を比較するとすべての position を通して P グループは C group より PCNA index が低くなる傾向を認めた。P+S group は C group より有意に PCNA index が低く、さらに P group と比較しても有意に低かった。以上より、paclitaxel の静脈内投与に sonoporation を併用することにより得られる内膜肥厚抑制は、血管平滑筋細胞増殖を抑制する作用による可能性が示された。また、特に中枢側吻合部から中央部分までの抑制効果が強いことが示唆された。

##### ③ TUNEL index

C group と S group の間に TUNEL index の差を認めなかった。P group も同様に TUNEL index に差を認めなかった。P+S group は C group と比較し、有意な差はみられないが高値を示した。同様に P group と比較しても高値を示す傾向が見られ、部位によっては有意に高値を示した。paclitaxel 単独投与のみでは vein graft の血管平滑筋での apoptosis の誘導は顕著ではないが、sonoporation を追加することで apoptosis の誘導も内膜肥厚に関与している可能性が示唆された。

以上より、パクリタキセル投与によるグラフト内膜肥厚抑制作用は sonoporation により増強され、この方法は、適正冠動脈バイパス術を可能とする一つの補助手段であると考えられ、今後、誘電特性との対応を検討する予定である。

#### 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)

〔学会発表〕(計 1 件)

石田成吏洋、杉本琢哉、真鍋秀明、初音俊樹、松本真介、宮内忠雅、島袋勝也、村上栄司、岩田 尚、竹村博文、ウサギ冠虚血再灌流モデルにおけるG-CSF皮下投与大網充填術による梗塞領域減少効果、第7回日本再生医療学会総会、2008年3月14日、名古屋

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮内 忠雅 (MIYAUCHI TADAMASA)

岐阜大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：00324301