

機関番号：32666

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20791328

研究課題名 (和文)

急性腸間膜虚血の腸管 VIABILITY 評価と救命率向上にむけた治療戦略の構築

研究課題名 (英文)

THE EVALUTATION OF INTESTINAL VIABILITY AFTER ACUTE MESENTERIC ISCHEMIA

研究代表者

白石 振一郎 (SHIRAISHI SHINICHIRO)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：90386243

研究成果の概要 (和文)：

虚血後の腸管Viability評価と虚血再灌流障害メカニズムの解明に向けた研究で、組織局所の代謝産物の経時的測定が可能なマイクロダイアリシスにより、腸管の虚血およびその程度を腸管表面からの的確に低侵襲で測定できた。また代謝産物の推移から組織障害の程度を評価することもできた。この結果から、腸管虚血のメカニズムの解明につながるだけでなく、一度虚血に陥った腸管が最終的に壊死に陥るか、回復するか見極められる可能性が示された。

研究成果の概要 (英文)：

We made this study on the purpose of the evaluation of viability and the investigation of mechanism about intestine after ischemia. As a result we can detect ischemia and its' severity with microdialysis technique performed on serosal surface of rat intestine. These results would lead to clarification of ischemic injury of the intestine and have some possibility to distinguish dying intestines from surviving ones after ischemia.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：救急医学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：急性腸間膜虚血、

## 1. 研究開始当初の背景

急性腸管膜虚血 (Acute Mesenteric Ischemia: AMI) は腸間膜動脈血栓・塞栓症、非閉塞性腸管膜虚血、腸間膜静脈閉塞症といった原因により腸管の血流が途絶え、腸管の一部あるいは広範な部分が壊死に陥る病態で早期診断が困難な場合が多い。ひとたび腸

管が壊死におちいると、全身状態は急速に悪化し、腸管壊死部の切除が必要となる。その後、再開腹による頻回の手術を必要とすることも多く、多臓器不全を発症し集中治療を行っても死亡率 50-90%と予後の悪い救急病態である。頻度は全消化器疾患の 1-2%と少ないものの、70 歳以上の高齢者に近年増加傾向に

ある疾患であり、高齢化社会の進む日本においても罹患数の著明な増加が予想され、早急に対策が必要であると考えられる。

AMI の治療では早期診断、集中治療による循環動態の早期安定化と血行再建、および腸管壊死部の早期切除が必要である。血行再建に関しては経皮的カテーテルや外科的な血栓除去、血管バイパス術施行により良好な成績が示されてきているが、腸管 Viability の正確な判断とそれに基づく適切な切除範囲設定に関してはいまだ有効な手段が無いのが現状である。そのため現在では手術時に腸管 Viability を肉眼的に判断し、腸管壊死部を切除した後、12-24 時間後に虚血の進行を見極めるため再開腹を行い、腸管の壊死部があれば追加切除をするという手法をとるのが一般的である。ところが、色調、動脈の拍動、腸管の蠕動運動を基準とした肉眼的な腸管 Viability の判断では、その正診率は 58% であるとの報告があり、Viability の正確な判断は肉眼のみでは難しいのが現状である。また、ドップラーエコーを用いる方法や蛍光色素を注入し紫外線ライトを照射する方法など、血流を可視化する試みが行われているが、ドップラーエコーに関しては長い腸管を判断するのに長時間を要することや、蛍光色素は一度検査を行うと色素が沈着してしまい、繰り返しの精査が行えないなどの問題の他、測定時のある一時点での血流しか評価できないなどの問題がある。

一時点での血流評価だけではなく、全層壊死におちいる可能性を持つ腸管に対して虚血の程度を経時的に評価できる手法が切望されている。海外においてマイクロダイアリス (microdialysis : MD) を用いた経時的脳組織代謝モニタリングの有効性が示されており、現在、国外では他の臓器、肝や腸管への応用が行われ始めたところである。MD とはプローベ先端の半透膜を介して直接的に細胞間隙液を回収して、それに含まれる代謝物質を分析し経時的なモニタリングをする。本法を用いて細胞レベルの変化をより早期にかつ定量的に測定し、腸管 Viability を評価することは、今後必要不可欠なモニタリングとして位置づけられると確信している。本邦では残念ながら MD の挿入が脳外科領域で認められているのみであるため、腸管への臨床応用は行えない。そこでラット腸管虚血モデルを用いて虚血腸管の代謝産物の経時的な測定を MD で行いつつ、ある時点で LDI 測定を行い、代謝産物の推移および最終的な組織像との整合性を検討することとした。

## 2. 研究の目的

- 虚血腸管の viability を出来るだけ低侵襲な方法で測定する
- 腸管の虚血再灌流障害のメカニズムの解明を目指す

以上の目的を達成するために、ラット腸管虚血モデルに対して MD の手法を用いた実験を行う。

## 3. 研究の方法

280~320g のオス S.D. ラットを 12 時間絶食させた後、ペントバルビタール (50mg/kg) の腹腔内投与で麻酔した。体温は電気式保温マットにて 37 度で管理した。大動動静脈に動脈圧ライン、注射用静脈ラインを確保した後に、開腹した。虚血は約 10cm の回腸の部分虚血モデルとした。あらかじめ、虚血予定部位の口側、肛門側の辺縁動脈は結紮しておき、虚血に際しては同部位を支配する腸間膜動脈を杉田クリップにてクランプした (図 1)。すなわち腸管壁内血流以外の血流は遮断されている状態を本実験での虚血とした。クリップによるクランプ時間を変えることで虚血の程度の調節が可能である。

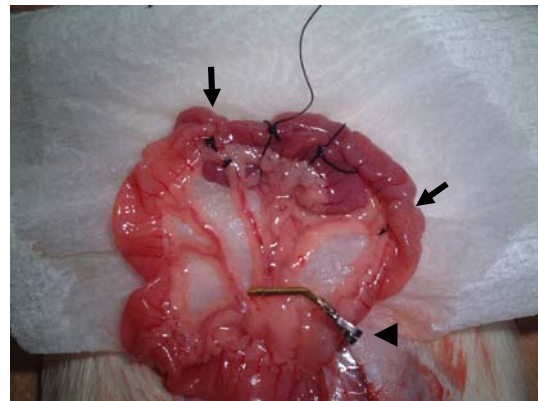


図 1 腸管虚血時

(矢印：結紮された辺縁動脈、矢頭：スギタクリップによる腸間膜動脈クランプ)

腸管漿膜面への固定は、図 2 の通り虚血部腸管を軽く三つ折にして束ね、その中心部に MD カテーテルを留置した。この固定法により、カテーテルの半透膜部分は腸管漿膜面に囲まれ、的確に腸管壁の代謝産物の回収が可能となる。



図 2 MD カテーテル留置法  
(青線は MD カテーテル)

なお、腹水などの影響を受けないように、観察部位をポリエチレンバッグで隔離して実験を行った。

<システム構成>

- ポンプ CMA-402 Syringe Pump
- カテーテル CMA-31 Linear Probe
- 測定装置 ISCUS Microdialysis Analyzer
- 灌流液 3%Dextran60 生理食塩水溶液
- 灌流速度 1  $\mu$ l/分
- 採取間隔 30分毎(虚血後、再灌流後、グルコース負荷後 60分間は15分毎)

(1) 腸管虚血の検出

虚血群(虚血時間 240分、n=6)と対照群(辺縁動脈のみの結紮しクランプはしない、n=4)で、MD カテーテル回収液中の代謝産物の測定を行った。プロトコルは図3の通りである。

ベースライン	虚血	再灌流
60分	0分(対象群) or 240分(虚血群)	120分

図3 実験(1)プロトコル

(2) 腸管虚血の程度の評価

軽度虚血群(虚血時間 60分、n=4)と高度虚血群(虚血時間 180分、n=4)で、120分の再灌流後に5%グルコース溶液を静脈注射(グルコース負荷試験)し、それに対するMDカテーテル回収液中の代謝産物濃度の変化の違いを測定した。またその結果と、再灌流10時間後(グルコース負荷試験後8時間後)の組織像との関係を検討した。プロトコルは図4の通りである。

ベースライン	虚血	再灌流	観察	病理解標本抽出
60分	60分(軽度虚血群) or 180分(高度虚血群)	120分	120分	360分
			グルコース負荷	

図4 実験(2)プロトコル

4. 研究成果

(1) 腸管虚血の検出

虚血群、対照群別にカテーテル回収液中の代謝産物濃度の平均値をグラフに示した(図5-1~4 赤:虚血群、緑:対照群)。赤矢印の虚血開始と同時にグルコース値の低下、乳酸値の上昇、グルタミン酸値の上昇、グリセロール値の上昇を示した。測定値がこの様に変化するの、嫌気性代謝、さらには組織障害が進行していることを示しており、病態と合致している。MDは腸管漿膜面から腸管の虚血を的確に捉えることが可能であることが示された。

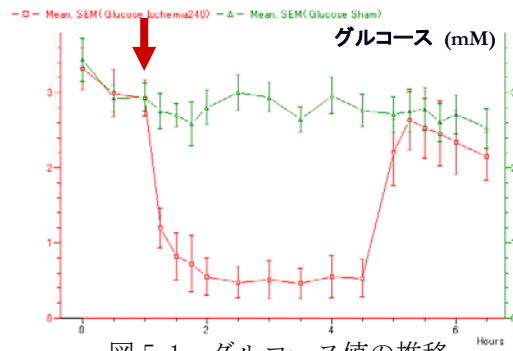


図5-1 グルコース値の推移

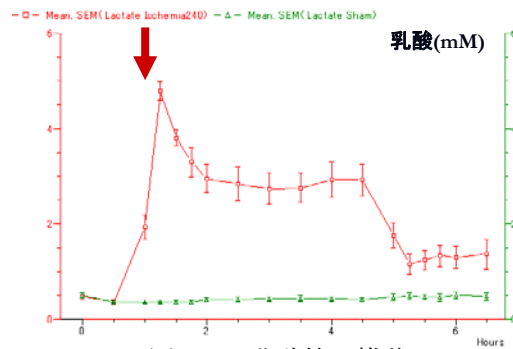


図5-2 乳酸値の推移

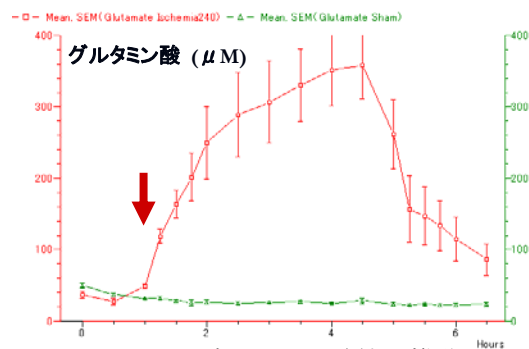


図5-3 グルタミン酸値の推移

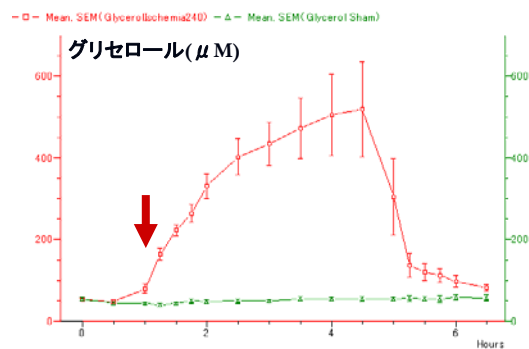


図5-4 グリセロール値の推移

## (2) 腸管虚血の程度の評価

軽度虚血群、高度虚血群別にカテーテル回収液中の代謝産物濃度の平均値をグラフに示した(図6 青:軽度虚血群、赤:高度虚血群)。青矢印のグルコース負荷の直前のグルコース値に有意差は認めないが(軽度虚血群 vs 高度虚血群:  $3.51 \pm 0.41$  vs  $2.33 \pm 0.26$ )、グルコース負荷試験後のグルコース値では高度虚血群で有意に低値であった( $9.26 \pm 0.63$  vs  $6.75 \pm 0.77$ )。

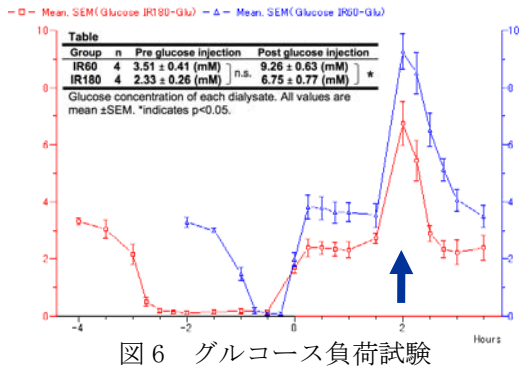


図6 グルコース負荷試験

また再灌流 10 時間後の腸管組織像についても軽度虚血群(図7-2)で正常部位(図7-1)と変わらないのに対し、高度虚血群では明らかに粘膜の壊死脱落を認め(図7-3)、グルコース負荷試験に対する反応性の差が組織像にも現れていた。

以上の結果より、

- (1) 腸管漿膜面への MD カテーテル留置という低侵襲な方法で、腸管虚血を的確に捉えることが可能であることが示された。
- (2) グルコース負荷試験後の代謝産物の推移の違いから、虚血の程度が推測可能であることが示された。
- (3) MD は血流を含めた組織の代謝の状態をモニターできることが判明し、腸管の虚血再灌流障害のメカニズムの解明につながる成果と考えられる。

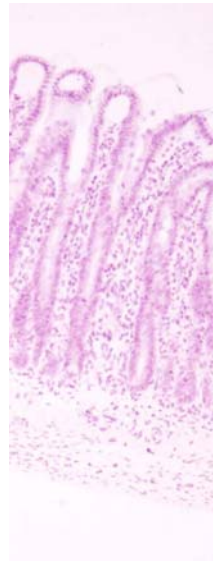


図7-1 健常部

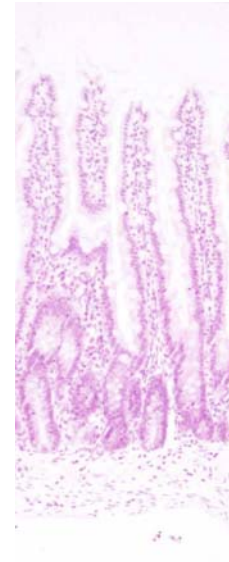


図7-2 軽度虚血群

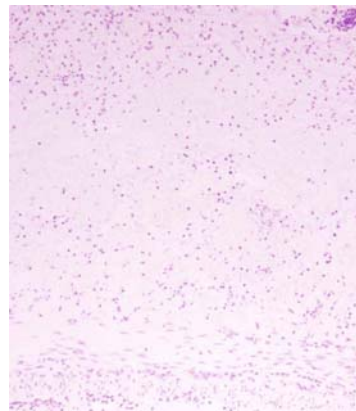


図7-3 高度虚血群

図7 グルコース負荷試験 8 時間後の組織像

## 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 2 件)

① 白石振一郎 ラット虚血モデルにおけるマイクロダイアリスを用いた腸管 Viability の評価  
第 26 回日本ショック学会総会 2011 年 5 月 21 日 浜松

② Shinichiro SHIRAIISHI, THE EVALUATION OF INTESTINAL VIABILITY FOLLOWING ISCHEMIA USING MICRODIALYSIS TECHNIQUE, 34th ANNUAL CONFERENCE ON SHOCK, June 13, 2011, Norfolk, Virginia USA

## 6. 研究組織

研究代表者

白石 振一郎 (SHIRAIISHI SHINICHIRO)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号: 90386243