

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月 1日現在

機関番号：13701
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23659644
 研究課題名（和文） 細菌性腹膜炎に対するマイクロバブル生理食塩水による腹腔内灌流洗淨の有効性
 研究課題名（英文） Effectiveness of lavage against bacterial peritonitis with microbubble saline
 研究代表者
 關野 考史（SEKINO TAKAFUMI）
 岐阜大学・医学部附属病院・講師
 研究者番号：40362165

研究成果の概要（和文）：生理食塩水洗淨群（S）、マイクロバブル生理食塩水洗淨群（M）において腹腔内洗淨を行った。洗淨のタイミングは30分後、60分後 洗淨量については10ml 20mlにて検討したところ、いずれもS群、M群で生存率に有意な差は認められなかった。生存率に一番違いのあった条件は以下であった。（30分後 20mlの洗淨での生存率（S）群 55%、（M）群 80%（n=9）Log-rank 検定 P=0.28）また洗淨液中にグラム陰性桿菌が線維組織とともに集塊を形成している像が認められ、集菌作用の可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Rats were divided into two groups. Group S carried out intraabdominal lavage against bacterial peritonitis with saline. Group M underwent with microbubble saline. A survival rate was better in group M than in group S, there was no significant difference between the two groups (survival rate was 55% in group S, 80% in group M (n=9), log-rank P=0.28). Microbubble might have an action of bacterial absorption, because the rod shaped gram-negative bacterium was formed colonies with fibrous tissue in the lavage fluid.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,400,000	720,000	3,120,000

研究分野：消化器外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：マイクロバブル生理食塩水・大腸穿孔・腹膜炎・灌流洗淨・腹腔鏡

1. 研究開始当初の背景

細菌性腹膜炎にたいして、現在行われているような生理食塩水による開腹洗淨ドレナージにおいては、重篤な状態である状態にさらに開腹操作を行い、術後管理に難渋することもある。最近広まりつつある低侵襲の腹腔鏡下洗淨ドレナージ術では洗淨効率の悪さ

に問題があった。そこで洗淨液を工夫することで、腹腔内洗淨の効率を高めることができれば、腹腔鏡下の洗淨ドレナージ術の有用性を向上させることにつながると考えられた。

そこで工業的に実用化されているマイクロバブルを利用した洗淨を着想した。マイクロバブルには消失する際に発生するフリー

ラジカルによる殺菌作用や、マイクロバブル自体の吸着作用などが報告されており、牡蠣の養殖・除菌や半導体レジスト除去、エマルジョン化した油分の除去などすでに、水産業、工業では実用化されている。牡蠣の養殖のような生体にも利用されており、安全性にも期待できるマイクロバブルの利用が可能であると考えられた。

2. 研究の目的

(1) マイクロバブル生理食塩水による腹腔内洗浄が通常の生理食塩水による腹腔内洗浄と比較して安全性に問題がないかを検証する。

(2) ラット穿孔性腹膜炎モデルを用いて、マイクロバブル生理食塩水による腹腔内洗浄が通常の生理食塩水による腹腔内洗浄と比較して生存率、血液データ・組織標本を検討し有用性をあきらかにする。

3. 研究の方法

(1) 安全性の検証

S群；腹腔内を生理食塩水で洗浄した群
M群；腹腔内をマイクロバブル生理食塩水で洗浄した群
上記2群の生存率など検討する。

(2) 腹膜炎モデルでの洗浄

雄 Sprague-Dawley ラットに盲腸結紮穿孔法（回盲弁を温存し、盲腸根部を結紮、18Gで盲腸壁全層を穿孔、穿孔させる）にて腹膜炎モデルを作成し、下記3群に分ける。

CLP； 腹腔内洗浄をしない群
CLP+S；腹腔内を生理食塩水で洗浄した群
CLP+M；腹腔内をマイクロバブル生理食塩水で洗浄した群

上記3群にわけらる。

CLP；cecum ligation puncture
S；saline(i.p.) M；microbubble (i.p.)

洗浄群は盲腸穿孔後、1時間後に再開腹して20ml 生食または20ml マイクロバブル生食で洗浄し、ふたたび閉腹した。

3群の生存率、血液データ・組織標本、洗浄液の性状などを検討する。

4. 研究成果

(1) S群、M群ともに6日後の生存率は100%であり(n=6)であり、差は認められなかった。腹膜に対する変化も病理学的に炎症細胞浸潤や、上皮細胞の変性なども認められなかった。

(2) 腹膜炎モデルは雄 Sprague-Dawley ラットに盲腸結紮穿孔法（回盲弁を温存し、盲腸根部を結紮、18Gで盲腸壁全層を4回穿孔、穿孔させる）にて腹膜炎モデルを作成し、その自然経過を見たところ、2日後には全例が死亡した。(n=6) この腹膜炎モデルを用い、CLP+S群、CLP+M群の比較検討をおこなった。

【生存率】

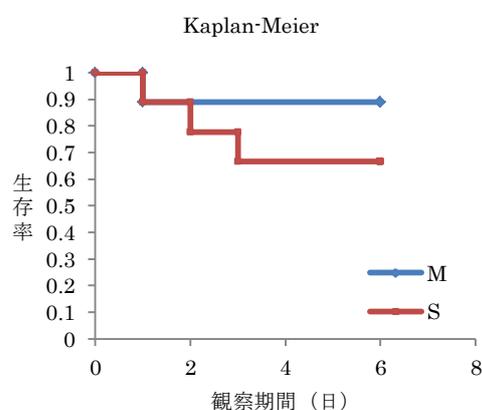
盲腸穿孔後1時間後に再開腹して（小範囲）20ml 生食または20ml マイクロバブル生食で洗浄

（腹腔内投与して5分待機、その後排液。）ふたたび閉腹し、その後通常食摂取と飲水を自由に投与した。

CLP+S群は6日目の生存率が、67%でCLP+M群は90%であった。(n=9)

CLP+M群の方が生存率が高い傾向にあったが、log rank 検定では、 $p=0.301$ となり、2群間に有意差は認められなかった。(図1)

(図1)



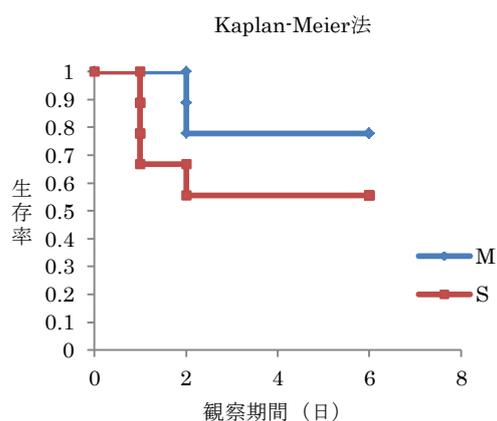
※投与条件の変更

上記の投与方法では 生存率に差が認められなかったため、洗浄方法を洗浄液投与後の待機時間を変更して検討した。

・1時間後に再開腹して（小範囲） 20ml 生食または20ml マイクロバブル生食で洗浄（腹腔内投与して1分30秒待機、その後排液。） ふたたび閉腹

CLP+S群は6日目の生存率が、56%でCLP+M群は80%であった。(n=9)やはりM群の生存率が高い傾向にあったが、log rank 検定では、 $p=0.28$ となり、2 群間に有意差は認められなかった。(図2)

(図2)



【洗浄液の性状】

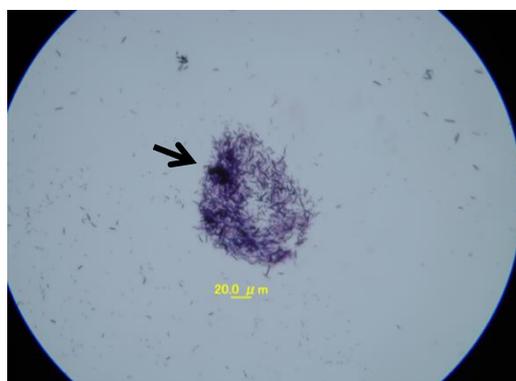
CLP+M群の洗浄液の観察にて白色の浮遊物を認め(写真1)、それをグラム染色で観察すると、グラム陰性桿菌が多数認められた。(写真2)

マイクロバブルの吸着作用にて細菌が集塊を形成しているものと考えられ、マイクロバブルの細菌に対する吸着能力があることを示唆される所見であった。

(写真1)



(写真2)



【まとめ】

・ラット腹膜炎モデルに対して、生理食塩水とマイクロバブル生理食塩水の洗浄群の比較としては、マイクロバブル生理食塩水の洗浄群の方が、生存率が高い傾向にあったが、両群間に有意差は認められなかった。

・マイクロバブル生理食塩水には細菌を吸着する作用を有する可能性が示唆された。

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 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

關野 考史 (SEKINO TAKAFUMI)
岐阜大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：40362165

(2) 研究分担者

村瀬 勝俊 (MURASE KATSUTOSHI)
岐阜大学・医学系研究科・助教
研究者番号：10610438

木村 真樹 (KIMURA MASAKI)
岐阜大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：20422727

關野 誠史郎 (SEKINO SEISHIRO)
岐阜大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：20610398

(3) 連携研究者

()

研究者番号：