

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 18 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591869

研究課題名(和文) 虚血肢における蛍光色素微小循環血流測定法の確立とアンジオサムの解明

研究課題名(英文) A novel technique for the assessment of tissue microcirculation and investigation of precise angiosome in patients with critical limb ischemia

研究代表者

工藤 敏文(KUDO, TOSHIFUMI)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50431911

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：末梢動脈疾患(PAD)がある患者の下肢の局所循環を評価することは重要である。PADは下肢切断も免れない重症虚血を招きやすく、このため血行再建を必要とするのか否かをある一定の基準から決定することが肝要である。

本研究において、PAD、特に下腿・足部潰瘍が多く認められる重症虚血肢の局所(末梢)循環に対して、新たな局所(末梢)循環の計測法の開発およびより詳細なアンジオサムの解明を行った。

研究成果の概要(英文)：It is very important to assess local circulation in the lower extremity in a patient with peripheral arterial disease (PAD).

In the current study, a novel technique to assess tissue microcirculation in a foot in a patient with PAD was developed and more precise angiosome was investigated.

研究分野：血管外科

キーワード：重症虚血肢 アンジオサム 微小循環 蛍光色素 末梢動脈疾患

1. 研究開始当初の背景

糖尿病 (DM)・慢性腎不全維持透析 (HD) 患者は増加傾向にあり、DM・HD を併存する末梢動脈疾患 (PAD) も増加傾向にある。さらに HD・DM を併存する PAD では容易に下腿から足部・足趾にかけて潰瘍が発症しやすく、この治療は非常に困難を極めている。さらに、重症虚血 (緊急・準緊急的に下肢血流を増やさないで救肢が不可能となる状態) も発症することが多い。その結果、足趾切断の小切断にとどまらず、大切断である下腿切断・大腿切断となることが多く、大切断を受けた患者の活動性は低下し生命予後が悪化するとされている^{5,6}。高齢者社会に突入し、介護の問題からも独立独歩を維持することは重要であり、これらの治療および周辺医療 (検査・診断・潰瘍処置・糖尿病管理) の推進は焦眉の急を告げる。しかし、DM・HD を併存する PAD 患者は、動脈の石灰化が著明なため下肢血圧 (AP) 測定からは正確な下肢の血流を評価できない。外傷 (靴擦れ、抜爪・熱傷など) といった PAD 以外の原因でできてしまった潰瘍病変は、PAD による血流低下があると潰瘍を治癒するために必要な血流が維持できず、潰瘍は悪化しその結果、大切断 (下腿切断・大腿切断) となる場合すらあり得る。このため、潰瘍部の治癒を目的とした潰瘍部の血流評価を行い、治療 (血行再建・血管内治療) 前後の血行動態を評価し、果たして血流が上昇し、潰瘍が治癒し救肢できるのか否かを評価しなくてはならない。さらには追加治療の必要性を判断できることが望ましい。現在使用している経皮酸素分圧 (TcPO₂) 計、皮膚灌流圧 (SPP) 計は共に潰瘍部周囲の計測を行って、潰瘍部の血流を評価している。このため潰瘍部を直接評価する計器の開発が望ましい。Holm らは、インドシアニングリーン (ICG) を経静脈投与し、移植皮弁にレーザー光線を照射して近赤外線カメラで観察・撮影することにより移植皮弁の血流を評価する方法を報告した。また、類

似の機器を使用し乳癌のセンチネルリンパ節の同定に利用した報告がある⁹。ICG は励起光により発光する性質があり吸収する励起光は約 800nm で、また発光する蛍光は約 840nm と双方ともヘモグロビン (Hb) に吸収されることなく皮膚を透過する。この性質を利用して ICG を経静脈投与し、励起光として 800nm 前後のレーザー光線を照射し赤外線カメラで蛍光撮影する方法である。

2. 研究の目的

われわれはこの原理を利用して局所の組織血流を定量的に評価する方法を考案しつつある。1. 定量評価しさらに発展させて、潰瘍・創傷治癒の診断法を確立する。2. 正常部・虚血部・潰瘍部を本検査法、AP、TP、TcPO₂、SPP などを測定し、対比することで、潰瘍部が創傷治癒可能な血流状態にある組織 (皮膚の) か否かを判定するための本 ICG 蛍光測定検査における基準値を決定する。3. この基準値を基にして治療を進めて潰瘍部を含めた広範囲の組織血流の直接的な評価・予測判定因子となり得ることを実証し、また足部でのより詳細なアンギオサムを解明する。4. 群馬大学大学院医学系研究科顎口腔外科学分野 (横尾教授、宮崎講師) との共同研究⁵。ヘルシンキ大学血管外科 (レバンター口教授) との共同研究 (重症虚血肢の患者を対象として、この ICG 蛍光測定検査を使った末梢循環の評価; フィンランドと日本) を進行中である。

当該分野における本研究の学術的な特色・独創的な点及び予想される結果と意義であるが、既存の組織血流評価法は正常皮膚組織存在部位にのみ計測可能であった。本方法では、潰瘍部 (病変部) そのものの血流評価・微小循環も評価可能となるため、検査方法として既存のものとは異なり、直接的であり他の検査法から得られる情報以上の情報が得られるものと考えられる。さらに検査法は ICG を経静脈投与するものの低侵襲検査であり、腎機能に与

える影響は非常に少なく、比較的容易に検査を繰り返して行うことが可能であり再現性を得るにも優れている。予想される結果と意義：本検査法が確立し、基準値・評価単位が確立されれば、潰瘍・創傷治癒の判定および適切な創傷・潰瘍管理が可能となる。治療法の選択と効果判定（保存的治療、薬物投与、高気圧酸素療法）や外科的治療の必要か否かを判定することが可能になる。さらに、追加治療の必要性の是非を判定可能となるであろう。したがって適切な創傷・潰瘍管理が簡便となり、大切断（大腿切断・下腿切断）を回避でき、患者の負担を軽減し、必要最小限の医療行為および必要最小限の医療負担で済むと考えられる。

3. 研究の方法

安静時疼痛・潰瘍壊死症例 (Fontaine III IV) 症例に対し、インドシアニングリーン (ICG) 0.1mg/kg を肘静脈より静注し、20cm の距離から近赤外線カメラで正常健側・患側足部(病変部)撮影する。撮影後このデータをコンピューターに蓄積し、解析ソフトを用いて各データを解析する。潰瘍の治癒・非治癒、下肢(足部・足趾)救肢の有無を評価し、新しい基準値を設定する。ヘルシンキ大学血管外科(レパント教授)との共同研究(重症虚血肢の患者を対象として、このICG 蛍光測定検査を使った末梢循環の評価；フィンランドと日本)【測定】 安静時疼痛・潰瘍壊死症例 (Fontaine III IV) 症例に対し、10 例)にインフォームドコンセントをとった上、ICG 0.1mg/kg を肘静脈より静注し、20cm の距離から近赤外線カメラ (Photodynamic Eye: PDE(HAMAMATSU Photonics K.K.)) で正常健側・患側足部(病変部)を撮影する。撮影した画像はデジタルビデオカメラあるいはコンピューターに録画・蓄積し、解析ソフトを用いて各データを解析する。さらに、経皮酸素分圧・下肢血圧・皮膚灌流圧を測定し、比

較対象資料とする。 現行の治療指針に基づき、治療(保存的治療(薬物・高気圧酸素療法・デブリードマン)、経皮的血管拡張術・ステント留置術、手術、切断術等)を行う。

各治療後、ICG 蛍光測定検査を同様にを行う。

ヘルシンキ大学血管外科(レパント教授)においても同様の研究を併行する。【評価】実際に虚血肢に対して足部のICG 蛍光測定検査を行うと、通常は画面上に健常部がまったく入らないため、健常部を基準値とすることはできない。しかし、皮下脂肪の多寡や、浮腫などの影響で輝度の絶対値には個人差がある。そこで、輝度の上昇率を算定して局所の微小循環の評価に用いることにする予定である。記録した画像上で動脈・静脈を同定し、動脈周囲の狭い範囲を固定した後、ROI Analysis Program (HAMAMATSU Photonics K.K.)を用いて輝度を256 階調で表示して time intensity curveにプロットする。プロットした各データから上昇率を算定し比較検討する。輝度がプラトーとなる値の50%まで上昇する時のかかる時間(T1/2)を計測する。これらが基準値として使用可能か検討を行う。前年度での上昇率・輝度がプラトーとなる値の50%まで上昇する時のかかる時間(T1/2)などで基準値が得られれば、同様の検査方法で50例程度行い精度を高める。さらに、新たな基準値がありえるか評価する(T1/2が基準値として使用不可能な場合にはデータ解析を進めながらマーカールを検討する作業を行う。)上記臨床検査の継続に加え、6-12ヶ月後での結果の解析を始める。本検査法の有用性を判定する基準として、第1に肢切断について、大切断、足部での切断、足趾での切断の有無で評価する。また、切断に至らない症例では、安静時痛の程度、潰瘍の大きさまたは治癒の程度で評価する。副次的には、各時点での本検査法の結果と従来の検査法での結果の相関を分析する。全症例において、その後1-3ヶ月ごとにABI、TBI、SPP、TcPO2を

施行し、6-12ヶ月ごとに造影CTあるいは血管撮影および本検査法を施行する。経過観察中、下肢虚血の増悪が認められる場合は、適宜本検査法および血管撮影で評価する。症例の選定、説明を地引、工藤が担当し、検査の施行を工藤が担当、結果の解析を工藤、横尾、宮崎が担当、全体の統括を工藤、井上が行う。

ヘルシンキ大学血管外科(レパンター口教授)においても同様の研究を併行する。協同研究分担者である寺崎がヘルシンキ大学に留学中であるため、ヘルシンキ大学血管外科ではレパンター口教授ならびに寺崎が担当する。平成25年度に本研究を開始した症例では、6-12ヶ月後での結果の解析は平成25年度にかかるため平成25年度同様の検査計画を継続する。上昇率や $T_{1/2}$ が予想通りと異なる結果となった場合には、データ解析を進めながらマーカーを検討する作業を行い継続した。

4. 研究成果

安静時疼痛・潰瘍壊死症例(Fontaine III IV)症例に対し、10例)にインフォームドコンセントをとった上、ICG 0.1mg/kg を肘静脈より静注し、20 cm の距離から近赤外線カメラ(Photodynamic Eye: PDE (HAMAMATSU Photonics K.K.)) で正常健側・患側足部(病変部)を撮影した。撮影した画像はデジタルビデオカメラあるいはコンピューターに録画・蓄積し、解析ソフトを用いて各データを解析した。

さらに、経皮酸素分圧・下肢血圧・皮膚灌流圧を測定し、比較対象資料とした。

現行の治療指針に基づき、治療(保存的治療(薬物・高気圧酸素療法・デブリードマン)、経皮的血管拡張術・ステント留置術、手術、切断術等)を行った。

各治療後、ICG 蛍光測定検査を同様に行った。実際に虚血肢に対して足部の ICG 蛍光測定検査を行うと、通常は画面上に健常部がまったく入らないため、健常部を基準値とする

ことはできなかった。しかし、皮下脂肪の多寡や、浮腫などの影響で輝度の絶対値には個人差がある。そこで、輝度の上昇率を算定して局所の微小循環の評価に用いた。

記録した画像上で動脈・静脈を同定し、動脈周囲の狭い範囲を固定した後、ROIs Analysis Program (HAMAMATSU Photonics K.K.)を用いて輝度を256階調で表示してtime intensity curve にプロットした。プロットした各データから上昇率を算定し比較検討した。

輝度がプラトーとなる値の50%まで上昇する時のかかる時間($T_{1/2}$)を計測した。これらが基準値として使用可能か検討を行った。

さらに、上昇率・輝度がプラトーとなる値の50%まで上昇する時のかかる時間($T_{1/2}$)などで基準値が得られたため、同様の検査方法で50例行い精度を高めた。

上記臨床検査の継続に加え、6-12ヶ月後での結果の解析を行った。本検査法の有用性を判定する基準として、第1に肢切断について、大切断、足部での切断、足趾での切断の有無で評価した。切断に至らない症例では、安静時痛の程度、潰瘍の大きさまたは治癒の程度で評価した。各時点での本検査法の結果と従来の検査法での結果の相関を分析した。

全症例において、その後1-3ヶ月ごとにABI、TBI、SPP、TcPO₂を施行し、6-12ヶ月ごとに造影CTあるいは血管撮影および本検査法を施行した。経過観察中、下肢虚血の増悪が認められる場合、適宜本検査法および血管撮影で評価した。

上記、研究成果を下記学術論文および学術会議で発表を行った。

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5件)
Igari K, Kudo T, Uchiyama H, Toyofuku T, Inoue Y. Indocyanine green angiography for the diagnosis of peripheral arterial disease with isolated infrapopliteal lesions. Ann

Vasc Surg. 2014 Aug;28(6):1479-84. 査読有

Igari K, Kudo T, Uchiyama H, Toyofuku T, Inoue Y. Intraarterial injection of indocyanine green for evaluation of peripheral blood circulation in patients with peripheral arterial disease. Ann Vasc Surg. 2014 Jul;28(5):1280-5. 査読有

Igari K, Kudo T, Uchiyama H, Toyofuku T, Inoue Y. Quantitative evaluation of microvascular dysfunction in peripheral neuropathy with diabetes by indocyanine green angiography. Diabetes Res Clin Pract. 2014 Apr;104(1):121-5. 査読有

Terasaki H, Inoue Y, Sugano N, Jibiki M, Kudo T, Lepántalo M, Venermo M. A quantitative method for evaluating local perfusion using indocyanine green fluorescence imaging. Ann Vasc Surg. 2013 Nov;27(8):1154-61. 査読有

Igari K, Kudo T, Toyofuku T, Jibiki M, Inoue Y, Kawano T. Quantitative evaluation of the outcomes of revascularization procedures for peripheral arterial disease using indocyanine green angiography. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2013 Oct;46(4):460-5. 査読有

〔学会発表〕(計 2 件)

猪狩, 工藤, 豊福, 井上. 末梢動脈疾患に対する血行再建術における ICG 蛍光造影法を用いた定量的評価法の確立. 第 42 回日本血管外科学会学術総会. 2014 年 5 月 21 日. 青森.

猪狩, 工藤, 豊福, 地引, 井上. 末梢循環評価における ICG 蛍光造影法を用いた定量的評価. 第 114 回日本外科学会総会. 2014 年 4 月 3 日. 京都.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

工藤 敏文 (KUDO, Toshifumi)
東京医科歯科大学医学部附属病院 講師
研究者番号：50431911

(2) 研究分担者

井上 芳徳 (INOUE, Yoshinori)
東京医科歯科大学医歯(薬)学総合研究科
講師
研究者番号：70280964

地引 政利 (JIBIKI, Masatoshi)
国際医療福祉大学・大学病院 准教授
研究者番号：50422481

豊福 崇浩 (TOYOHUKU, Takahiro)
東京医科歯科大学医学部附属病院 助教
研究者番号：20625066

横尾 聡 (YOKOO, Satoshi)
群馬大学医学(系)研究科(研究院)
教授
研究者番号：00322206

宮崎 英隆 (MIYAZAKI, Hidetaka)
群馬大学 医学部附属病院 講師
研究者番号：70420271

(3) 連携研究者

()

研究者番号：