

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 22 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592368

研究課題名(和文) 経食道脊髄超音波検査と遅延型脊髄虚血の発症について

研究課題名(英文) Transesophageal spinal echography and platelet activity

研究代表者

渡邊 誠之(Watanabe, Seiji)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：10201196

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：経食道超音波装置を用いて脊椎椎間板を経て脊髄を観察できた。観察された脊髄は全周性に高輝度の反射に覆われ、左右の前根、後根の確認が可能であった。観察可能領域の下端は第2、3腰椎で観察が不可能となった。脊髄は神経根に支えられ脊髄空内の中央に位置し、脊髄空内面に接することはなかった。全例心拍の有無が脊髄の拍動に関与することがわかった。超音波造影剤を用いて前脊髄動脈の観察では全例超音波強度の増高は観察できなかった。遅延型脊髄虚血を予防するための抗血小板療法の開発として全身麻酔下でフルルピプロフェンを静脈内投与は散乱光法により大凝集塊の低下を認めた。血小板凝集能低下には二次凝集の抑制の関与が考えられた。

研究成果の概要(英文)：The detail of spinal structure can be seen through the spinal disk with the transesophageal echography. However, the range of view was limited below the 1st lumbar windows through spinal disk. Augmentation of area supplied by the spinal artery was not seen with the contrast echography. Transesophageal spinal echography was useful for the diagnosis of the spinal ischemia. The patients discontinued with antiplatelet therapy may be exposed to a risk of thrombotic events which could cause the delayed spinal ischemia. The aim of this study is to evaluate the antiplatelet effect of flurbiprofen in patients who underwent surgery. Our preliminary data demonstrated that flurbiprofen inhibited platelet aggregation induced by collagen. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs may include the possibility of temporary replacement of aspirin. Our findings showed that the administration of flurbiprofen can inhibit platelet aggregation and maybe useful to avoid the delayed spinal ischemia.

研究分野：麻酔学

キーワード：血小板機能 経食道エコー 脊髄解剖

1. 研究開始当初の背景

胸部下行大動脈瘤の人工血管置換術中に必要とされる大動脈遮断や血管内ステント挿入術は遮断部位や遮断時間により脊髄の虚血障害を引き起こす可能性が高く、その結果は患者の生命予後や術後の生活の質に多大な影響を与える。この問題を回避するためには可能な限り脊髄虚血の早期発見に努め、脊髄虚血検出時には早期治療(大動脈遮断部位の変更、灌流圧の増加、脊髄液のドレナージなど)が必要となる。現在、我々の施設では脊髄虚血の検出方法として硬膜外腔刺激導出法による脊髄誘発電位(ESCP)と経頭蓋磁気刺激による誘発電位(MEP)を行っている(第25回脊髄機能診断研究会)。しかしながら、これらの検出方法では侵襲的な硬膜外電極を挿入しなければならず、また麻酔方法(吸入麻酔薬、静脈麻酔薬の濃度)、筋弛緩薬投与、体温変化などにより誘発電位が影響を受けるため、脊髄虚血の判断や刺激伝導路における虚血部位の判定などに不確実である。近年、経食道心臓超音波装置(TEE)の進歩により、灌流領域を描出するコントラストエコー法ならびに反射音響変化による組織性状診断が出来るようになった。我々は TEE を用いて低侵襲的に胸椎領域の脊髄とくも膜下腔、硬膜外腔を描出する方法に注目した。これは胸部脊椎領域の椎間板を通して脊髄実質が描出できることを示し、これにより心拍の変動に伴う脊髄の拍動、髄液のゆらぎ、脊髄を栄養する動脈の一部を確認できた(第25回脊髄機能診断研究会)。また術前の血管 3D-CT 画像から得られる脊髄栄養動脈の走行分布をもとに、TEE による肋間動脈の術中血流速度も観察できる。術中の二次元画像による脊髄の描出は、これまでの誘発電位の情報に、観察脊髄の部位の確定、脊髄内における当該境域の虚血に伴う組織の腫脹や音響密度変化の観察、コントラストエコー法による血液灌流領域の造影、超音波組織診断による組織性状の変化、虚血性変化に伴う脊髄の弾性変化などこれまでにない画期的な新しい情報を得ることができる。

2. 研究の目的

胸部下行大動脈瘤の人工血管置換術中に必要とされる大動脈遮断や血管内ステント挿入術は遮断部位や遮断時間により脊髄の虚血障害を引き起こす可能性が高く、その結果は患者の生命予後や術後の生活の質に多大な影響を与える。術中の経食道心臓超音波装置(TEE)の進歩により二次元画像による脊髄の描出はこれまでにない音響密度変化、血液灌流領域の造影、組織性状の変化など画期的な新しい情報を得ることができる。また臨床的に問題となる遅延型脊髄虚血に発症と術後血小板過凝集について検討を行い、術後超早期における抗血小板療法の有用性を確認する。術中 TEE による脊髄虚血の早期発見、NSAIDs 投与による早期治療は患者の予後を改善する可能性が高い。

3. 研究の方法

経食道脊髄超音波検査(TEE)による脊髄観察範囲の同定と脊髄形態の観察

1. 上部胸髄から下部胸髄、上部腰髄にかけて各椎間から描出される脊髄像の範囲を同定する。

2. 得られた画像から脊髄実質量、くも膜下腔量、硬膜外腔量の比率を計測する。

3. 心拍に伴う脊髄実質の移動量により脊髄実質の硬度を推測する。

TEE による脊髄栄養血管および灌流領域の描出

1. 超音波造影剤投与により脊髄栄養動脈および灌流領域の描出を行う。

2. 大動脈遮断前後における灌流領域の比較検討をおこなう。

TEE による反射音響変化による組織診断

1. 体外循環前後、大動脈遮断前後における脊髄各部位での反射音響変化を記録する。

2. 体外循環中の体温変化による脊髄反射音響の変化を観察する。

3. 血管内ステント挿入部位での挿入前後において脊髄反射音響の変化を観察する。

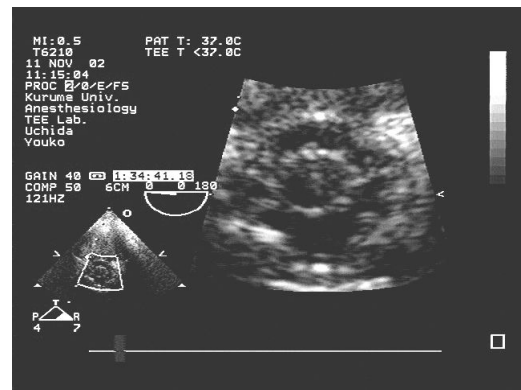
遅延型脊髄虚血と術後血小板過凝集との関係を検討

術中コラーゲン惹起による血小板凝集能(PA-200)を測定する。

特に血小板凝集塊の発育過程と NSAIDs 投与による凝集能抑制について検討を行う。

4. 研究成果

経食道脊髄超音波検査(TEE)による脊髄観察範囲の同定と脊髄形態の観察



TEE 挿入後、プローブの方向を背面に向け脊椎椎間板を通して、脊髄構造体を全例観察できた(20例/20例)。しかしながら、椎体による障害により観察範囲には制限があった。食道の可動性の少なさから、観察視野の軸には上下方法に約30度の制限が存在した。すなわち、連続性を持った脊髄の観察はできなかった。脊髄の観察を図に示す。脊髄の表面は全周性に高輝度の反射に覆われ、認識は全例可能であった。さらに、構造物として左右の前根、後根の確認が約8割の対象に可能であった(右16名/20名、左17名/20名)。脊髄観察可能分節は下部頸椎(第5、第6、第7)から全例可能であった。また観察可能領域の下端は第12胸椎が12例、しかし第2、

3 腰椎で観察が不可能となった。アダムキービッツ動脈は全例検出できなかった。脊髄はこの神経根に支えられるようにして、脊髄空内の中央に位置し、脊髄空内面に直接接することはなかった。また、全例(20例/20例)この脊髄は心拍と同期し拍動していた。また、体外循環に移行後、観察を行うと、この拍動は全例消失しており、脈拍の有無が脊髄の拍動に關与することがわかった。体外循環以降においても脊髄超音波エコー強度の変化は観察されなかった。今回の研究対象には術後脊髄虚血障害を来したものはなく、脊髄虚血が超音波エコー像に与える影響及び反射音響変化による組織性状診断はできなかった。超音波エコー造影剤を用いて、前脊髄動脈の観察を行ったが、全例エコー強度の増高は観察できなかった。

全身麻酔中のフルルピプロフェン投与による血小板凝集能変化

【背景】抗血小板療法としてアセチルサリチル酸 (ASA) は臨床では頻繁に使用されている。たとえば虚血性心疾患・脳血管障害・末梢動脈疾患など動脈硬化性疾患における二次予防として有効性が確立され、最近では薬剤溶出性ステントによる遅発性・超遅発性血栓症の問題から、抗血小板療法は長期化の傾向にある。しかしながら手術に際し、抗血小板療法は出血リスクが高くなり、術前に抗血小板療法を中止するため抗血小板療法中止による塞栓症のリスクが高くなる。

【対象と方法】対象：全身麻酔下に予定手術、成人患者 7 名 (ASA Physical Status 1, 2) 術前に抗血栓療法を受けていた患者は除外した。麻酔方法は空気-酸素-セボフルラン (AOS) 1 名および AOS + 硬膜外麻酔 6 名全症例でレミフェentanil併用した。既往歴には糖尿病、高脂血症、腎機能障害、脳血管障害、喫煙歴などはなかった。術後合併症として出血、腎機能障害、上腹部症状、心血管障害、血栓塞栓症はなかった。

【患者背景】

背景因子	Mean ± SD
年齢 (才)	61.3 ± 12.7
性別 (男/女)	6 / 1
身長 (cm)	167.9 ± 7.5
体重 (kg)	68.0 ± 6.9
手術時間 (分)	253.0 ± 61.5
麻酔時間 (分)	331.7 ± 64.8
出血量 (g)	261.4 ± 160.1 (85 - 495)

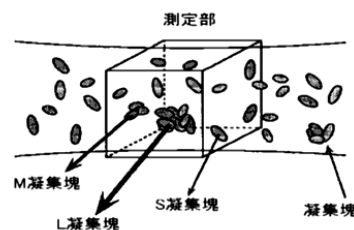
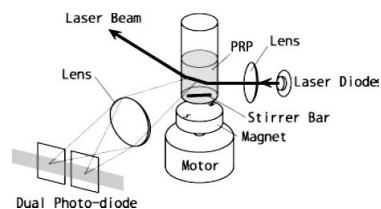
フルルピプロフェン投与は術中止血が確認された後、50 mg を静脈内投与した。検査のための採血はフルルピプロフェン投与直前と投与 15 分後に、観血的動脈圧ライン (20 G) から全血 1.8 mL 採取した。その後、採血管 (3.8%クエン酸ナトリウム 0.2 mL) へ移し

室温に 1 静置 () した。を 85 g, 25 で 10 分間遠心分離した上清を採取し多血小板血漿 (Platelet Rich Plasma : PRP) とした。PRP 分離後の採血管を 2000g, 25 で 10 分間遠心分離した上清を採取し乏血小板血漿 (Platelet Poor Plasma: PPP) とした。

【血小板凝集能の測定】

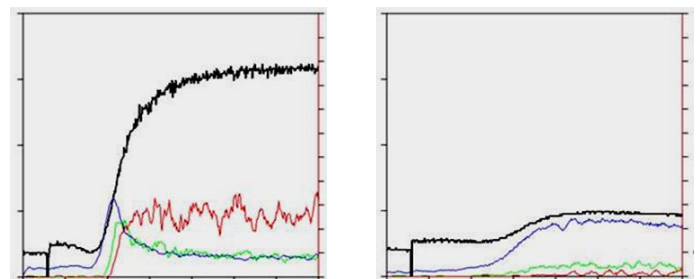
血小板凝集能の測定は PA 200 (Kowa, Japan) を用いた。キュベットに多血小板血漿を入れ PA 200 に挿入し攪拌開始後、コラーゲン (凝集惹起物質 : 最終濃度 2 µg/mL) を添加し、7 分間凝集を観察さひた。測定原理は透過光法による測定とした。多血小板血漿中にフィブリノゲンを惹起物質として投与し凝集、血小板凝集に伴い、透明度が上昇することを利用して、経時的に凝集を定量化した。

多血小板血漿 = 100 %, 乏血小板血漿 = 0 % として校正した。散乱光法による測定は半導体レーザーで励起した光がガラスキュベットに照射し、散乱光を検出した。散乱光強度により凝集塊のサイズを決定した。大 (50 ~ 70µm), 中 (25 ~ 50µm), 小 (9 ~ 25µm)



【血小板凝集能の評価】

透過度 (T) および大 (L)・中 (M)・小 (S) 凝集塊の経時変化について
投与前 投与後



【結果】

フルルピプロフェン投与前後の血液検査所見についてはフルルピプロフェン投与前、投与後に統計学的有意差は見つからなかった。

	投与前	投与後	P 値
血小板数	18.4 (15.4; 24.6)	17.3 (14.6; 19.1)	0.44
フィブリノゲン (mg/dL)	282.8	220.2	0.63
Hb (g/dL)	10.3 (9.6; 10.9)	10.2 (9.5; 10.7)	0.06
PT (%)	84.7 (80.1; 85.9)	80.1 (78.5; 81.8)	0.19
PT - INR	1.02 (1.01; 1.05)	1.05 (1.04; 1.07)	0.16
APTT (秒)	35.4 (33.5; 40.4)	36.4 (32.4; 43.7)	0.31
PRP (×10/mL)	13.1 (11.6; 19.9)	14.6 (13.0; 17.7)	0.94

【投与前後の透過率の変化】

フルルビプロフェン投与後 3 分値以降に有意な透過率の低下を認めた。

透過率 (%)	投与前	投与後	P 値
1 分後 (%)	5	5	0.38
3 分後 (%)	43	8	0.02
5 分後 (%)	67	16	0.02
7 分後 (%)	71	18	0.02

中央値を示す。

【投与前後の大, 中, 小凝集塊の変化】

フルルビプロフェン投与後 7 分値において、小及び中凝集塊の変化は認めなかったが、大凝集塊の有意な低下を認めた。

サイズ	投与前	投与後	P 値
小凝集塊	10.6	15.6	0.22
中凝集塊	5.5	3.0	0.11
大凝集塊	14.4	1.6	0.02

中央値を示す。

【考察】

1. 凝集塊サイズと血小板凝集反応

散乱光法により検出される血小板凝集塊サイズによる意義について。小凝集塊は一次凝集を反映し、血小板の活性化、粘着・凝集による血小板血栓を示す。一方大凝集塊は二次凝集を反映し、活性化血小板の膜上で凝固カスケードが活性化され、フィブリノゲンを介して強固な止血血栓が形成 (Cardiovasc Res 1998;40:223-229) を起こしていると考えられる。フルルビプロフェン投与後はコラーゲン惹起による血小板凝集能低下、大凝集塊の抑制を示し、二次凝集抑制による血栓形成を抑制したことを示す。

2. フルルビプロフェンによる血小板凝集抑制の作用機序について

ASA は COX 1 選択性が高く (低用量) 血小板において TXA₂ を阻害し、凝集を不可逆的に抑制する。一方、血管内皮細胞は PGI₂ を産生し、PGI₂ の機能は保たれる。

NSAID においては非選択性・COX 2 選択的阻害剤するため、血小板の TXA₂ 阻害による血小板凝集抑制が起こる。血管内皮の COX 2 阻害が強い場合には PGI₂ 阻害による血小板凝集抑制の抑制が起こる。そのため、COX1,2 阻害程度で血小板凝集能が亢進する可能性が示唆される。フルルビプロフェンは COX 1 選択性が高いと報告されており、本研究では血小板凝集は抑制したため COX1, COX2 活性を検討する必要性が今後検討課題として上がる。

3. 血栓形成における血小板凝集について透過光法の限界として、多血小板血漿を使用しているため全血での血小板凝集能を評価したわけではない。全血ではないために低い応力が与える影響も考える必要がある。また抗凝固剤としてクエン酸ナトリウムの使用を使用しているため、Ca イオン濃度の低下による反応の修飾がどの程度であり、血小板凝集抑制に与える影響も考慮する必要がある。

今回、血小板凝集惹起物質としてコラーゲン惹起による評価のみを施行した。血小板を活性化する物質は他にも存在し、また血管内皮など血小板以外の作用の評価がなされていない。

【今後の検討課題】

フルルビプロフェンの血小板凝集抑制作用の持続時間、ASA 内服の血小板凝集抑制作用との比較が必要となる。

【結語】

1. 全身麻酔下でフルルビプロフェンを静脈内投与し血小板凝集能を評価した。
2. 投与前と投与 15 分後を比較すると、透過光法により血小板凝集能の低下が認められた。
3. 散乱光法により大凝集塊の低下を認め、血小板凝集能低下には二次凝集の抑制の関与が考えられた。

The effects of intraoperative administration of Flurbiprofen on the platelet functions in patients undergoing General Anesthesia.

Asuka Ito, Seiji Watanabe, Yasunori Mishima, Shuhei Niiyama, Kazuo Ushijima
Department of Anesthesiology, Kurume University School of Medicine, Kurume, Japan.
Department of Dental Anesthesiology, Kyusyu Dental University, Kokura, Japan

【Introduction】Antiplatelet therapy is often discontinued 7-10 days before surgery when the risk of surgical bleeding is considered although current guidelines suggest that at least aspirin should not be interrupted. However, the patients under these circumstances may be exposed to a risk of thrombotic events such as acute coronary syndrome, ischemic stroke, or ischemia of the lower extremities. Temporary replacement for aspirin may be considered for perioperative strategy. The aim of this study is to evaluate

the antiplatelet effect of flurbiprofen with recommended doses in patients who underwent surgery under general anesthesia.

【Methods】

This study included 9 adult patients scheduled for elective surgery under general anesthesia. All patients were not received antiplatelet agent therapy. A single dose of 50mg of flurbiprofen was administered intravenously during surgery to reduce postoperative pain. Blood samples were obtained before and 15 minutes after administration of flurbiprofen. Platelet aggregation function was measured with a PA-200 instrument (Kowa Co. Ltd., Tokyo, Japan), which determines the size and number of platelet aggregates using laser-light scattering. Collagen (2 μg/mL, final concentration) was used as agonists to induce aggregation in this study. Intensity of small, medium and large-sized platelet aggregates were measured before and after the administration of flurbiprofen. Wilcoxon signed-rank test was used to compare the intensity of platelet aggregates before and after the drug administration. Data were presented as median ± SE. Significance was set at p < 0.05.

【Results】

Before administration of flurbiprofen, nine patients showed almost a normal pattern of platelet aggregability induced by collagen measured with the laser light scattering method (Fig.1). The intensity of small-sized platelet aggregates significantly increased from $2.25 \pm 0.34 \times 10^4$ to $6.13 \pm 0.56 \times 10^4$ after flurbiprofen administered (p < 0.05). In contrast, the intensity of large-sized platelet aggregates was higher at pre-flurbiprofen point ($3.78 \pm 0.56 \times 10^4$) than those at post-flurbiprofen point ($0.87 \pm 0.19 \times 10^4$, p < 0.05). All patients showed a weak pattern of platelet aggregability after administration of flurbiprofen (Fig.2). There were no embolic complications and side effects of flurbiprofen.

【Discussion】

Our preliminary data demonstrated that flurbiprofen inhibited platelet aggregation induced by collagen, suggesting that flurbiprofen, as same as aspirin, led to cyclooxygenase inhibition followed by the inhibition of thromboxane synthesis. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs may include the possibility of temporary replacement of aspirin.

【Conclusion】

Our findings showed that the administration of flurbiprofen with recommended doses can inhibit platelet aggregation induced by collagen in patients undergoing general

anesthesia.

◆ Table 1. Study Population

age/gender	Disease	Operation	Anesthesia
1. 84yo M	Abdominal Aortic Aneurysm	Y graft	GA (GOS)
2. 62yo M	Lung Cancer	Lobectomy	GA (GOS), Epi
3. 61yo M	Ascending Colon Cancer	Colonectomy	GA (GOS), Epi
4. 80yo M	Hepatocellular Carcinoma	Hepatectomy	GA (GOS), Epi
5. 86yo M	Sigmoid Colon Cancer	Colonectomy	GA (GOS), Epi
6. 51yo F	Hepatocellular Carcinoma	Hepatectomy	GA (GOS), Epi
7. 56yo M	Lung Cancer	Lobectomy	GA (GOS), Epi
8. 69yo M	Cervial Spondylosis	Laminectomy	GA (GOS)
9. 25yo M	Compartment Syndrome	Debridement	GA (GOS)

Patients had not been treated with anti-platelet agents.

◆ Table 1. Study Population

age/gender	Disease	Operation	Anesthesia
1. 84yo M	Abdominal Aortic Aneurysm	Y graft	GA (GOS)
2. 62yo M	Lung Cancer	Lobectomy	GA (GOS), Epi
3. 61yo M	Ascending Colon Cancer	Colonectomy	GA (GOS), Epi
4. 80yo M	Hepatocellular Carcinoma	Hepatectomy	GA (GOS), Epi
5. 86yo M	Sigmoid Colon Cancer	Colonectomy	GA (GOS), Epi
6. 51yo F	Hepatocellular Carcinoma	Hepatectomy	GA (GOS), Epi
7. 56yo M	Lung Cancer	Lobectomy	GA (GOS), Epi
8. 69yo M	Cervial Spondylosis	Laminectomy	GA (GOS)
9. 25yo M	Compartment Syndrome	Debridement	GA (GOS)

Patients had not been treated with anti-platelet agents.

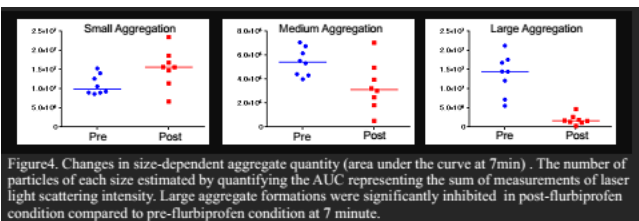


Figure4. Changes in size-dependent aggregate quantity (area under the curve at 7min). The number of particles of each size estimated by quantifying the AUC representing the sum of measurements of laser light scattering intensity. Large aggregate formations were significantly inhibited in post-flurbiprofen condition compared to pre-flurbiprofen condition at 7 minute.

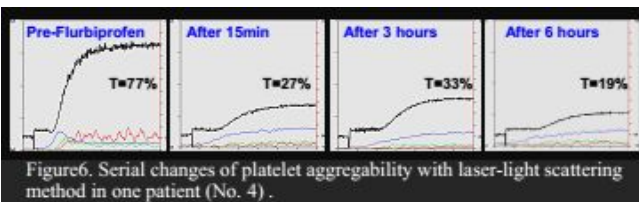


Figure6. Serial changes of platelet aggregability with laser-light scattering method in one patient (No. 4).

◆ Discussion

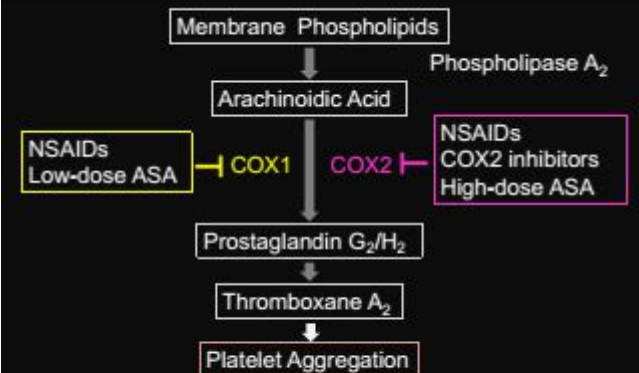


Figure5. Pathways of thromboxane biosynthesis. Abbreviations: NSAIDs; nonsteroid antiinflammatory drugs, ASA: aspirin, COX; cyclooxygenase

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2件)

1.全身麻酔中のフルルビプロフェン投与による血小板凝集能変化(優秀演題) 伊藤明日香、渡邊誠之、牛島一男、日本麻酔科学会第61回学術集会、2014.5.15 - 17、横浜

2.The Effects of Intraoperative Administration of Flurbiprofen on The Platelet Functions In Patients undergoing General Anesthesia. A Ito, S Watanabe, Y Mishima, S Niiyama, K Ushijima, ASA, 2013, Oct.12-16, San Francisco

〔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

渡邊 誠之(WATANABE, Seiji)
九州歯科大学歯科侵襲制御学分野・教授
研究者番号：10201196

(2)研究分担者

三島 康則(MISHIMA, Yasunori)
久留米大学医学部麻酔学講座・准教授
研究者番号：30258476

(3)連携研究者

()

研究者番号：