

氏 名 (本籍) 安 村 幹 央 (岐阜県)
 学 位 の 種 類 博 士 (医学)
 学位授与番号 乙第 1325 号
 学位授与日付 平成 15 年 1 月 15 日
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当
 学位論文題目 Experimental model to estimate intestinal viability using charge-coupled device microscopy
 審 査 委 員 (主査) 教授 廣 瀬 一
 (副査) 教授 恵 良 聖 一 教授 清 島 満

論文内容の要旨

背景と目的

日常生活しばしば遭遇する嵌頓ヘルニアや絞扼性イレウスを解除した後、腸管のviabilityが保たれているか否かの判定は困難なことがある。これら疾患の手術にあたり、術後合併症、消化吸収能等を考慮した場合、可能な限り広範囲の腸管を温存したいものの、虚血腸管の状態によっては、切除せざるを得ない場合もある。従って、術中の決断のよりどころとなるべき虚血腸管のviability の評価法は重要な問題であり、腸管の色調、蠕動、動脈拍動といった臨床所見からの推定ばかりでなく、客観的に評価すべく、これまで様々な方法が考案されてきた。しかしながら、臨床上、切除の必要性、切除範囲の決定には、これら客観的な評価法は信頼性に乏しいとされ、虚血時間、患者の全身状態、そして虚血解除後の腸管の色調、蠕動、動脈拍動等から、経験的な判断基準をもとに行われている。そこで、臨床応用するに際して携帯性が生かせるCCD生体顕微鏡を用いて微小循環血流を可視化し、得られた画像の解析から新たな判定基準を確立する事を本研究の目的とした。

対象と方法

雄性 Wistar系ラットを用いた。回腸遠位部の約20cmを観察区間 experimental segment (ES)とし、空腸起始部の20cmを対照区間 reference segment (RS)とした。ESの腸管、腸間膜を支配血管とともにシリコンラバーで一定時間絞扼し、ラバーを外すことで絞扼を解除した。

実験 1. 絞扼時間を45分とし、絞扼中、解除直後、解除15, 30, 45, 60, 90, 120分の各時点にESおよびRSの各部位で、CCD生体顕微鏡 (KEYENCE社: VH6200C型: 倍率1000倍) を、観察する腸管の漿膜面に接触させ、観察した(各n=6)。

実験 2. 絞扼時間を15, 30, 45, 60, 90, 120分 (各n=3) とした。絞扼解除30分後に実験1 と同様にCCD生体顕微鏡で観察し、観察終了後は直ちに閉腹し、7日以上生存したラットを1群、4日以内に死亡したラットを2群とした。測定は観察区間、対照区間それぞれ、腸間膜対側で各々10箇所行った。再生画像で血球の移動距離とそれに要するフレーム数から血球移動速度 V を計算した。各画面における最速値を V_{max} 、観察区間(ES)10画面中の最大値を $V_{max}(E)$ 、対照区間(RS)10画面中の最大値を $V_{max}(R)$ とし、 $V_{max}(E)$ の $V_{max}(R)$ に対する比を $V_{max} \text{ ratio}$ とした。再生画像から測定対象を含む画面をRGBの静止画像として保存した。NIHイメージで2値化し、画面中の総血管床面積を算出した。同じ静止画像で、再生画像を参照しながら血流の確認できない血管を削除し、血流が確認できる血管床面積 (有効血管床面積) を求め、各画面での総血管床面積に対する有効血管床面積を S とし、観察区間(ES)、対照区間(RS)各々10画面ずつの S の平均値から、 $S \text{ ratio}$ を観察区間の対照区間に対する比とした。 $V_{max} \text{ ratio}$ に関しては、測定対象をGoreらの分類による第4分枝細静脈とし、 $S \text{ ratio}$ に関しては、第5分枝細動脈、第4分枝細静脈とそれより末梢の分枝を対象とした。

結果

実験 1. Vmax ratioは絞扼解除後の各時間における値に有意差を認めなかった。S ratioは絞扼解除直後はそれ以降に対し有意に低値であったが、絞扼解除15分後以降は、経時的に低下傾向を認めるものの、有意差は認めなかった。

実験 2. 1群10例, 2群8例であった。2群の死亡後開腹所見では、全例で絞扼部腸管の壊死と腹膜炎を認めた。組織学的にも絞扼部腸管の壊死を認めた。また、絞扼時間別にみると絞扼時間が45分未満の個体は全例1群であり、90分以上の個体は全例2群であった。Vmax ratio, S ratioを両群間で比較すると、各々1群が2群に比べ有意に高値を示した ($p<0.01$)。Vmax ratioを縦軸に、S ratioを横軸にとった散布図から生存/死亡の境界値を求めると、Vmax ratio : 0.76, S ratio : 0.61以上では死亡例は認めず、Vmax ratio : 0.54, S ratio : 0.51以下では生存例を認めなかった。

考察

我々はfluorescein assessmentにおける微小血管の開存度の細動静脈レベルでの詳細な評価と同等なものとして、生体顕微鏡を用いた。これによって、同時に、各微小血管内の血球動態を定量的に評価する事も可能となった。Vmax ratioは血球速度の指標であり、S ratioは、再灌流後の血流低下を助長させる血管抵抗の増大の要因である有効血管面積の低下を示す指標である。Vmax ratio 0.76以上かつS ratio 0.61以上では死亡例は認めず、Vmax ratio 0.54以下かつS ratio 0.51以下では生存例を認めなかった。従って、術中、絞扼腸管の絞扼解除後に、Vmax ratio 0.54以下かつS ratio 0.51以下に対しては絞扼腸管の切除が絶対適応であり、Vmax ratio 0.76以上かつS ratio 0.61以上に対しては切除が不要であるとの判断が可能である。その間の部分では二期的手術も考慮する必要があるが、Vmax ratio, S ratioは生存を予測しうる指標である。

結論

ラット絞扼性イレウスモデルを用い絞扼解除後の腸管のviabilityをCCD生体顕微鏡を用いて観察し得られたVmax ratio, S ratioは絞扼解除後の生存を予測しうる指標である。この指標を用いて絞扼解除後の腸管のviabilityが判定され、術式の決定に際しての判断基準となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者 安村幹央は、ラット絞扼性イレウスモデルを用い、絞扼解除後の腸管のviabilityをCCD生体顕微鏡を用いて観察し、得られたVmax ratio, S ratioが絞扼解除後の生存を予測する指標となりうることを明らかにした。

本研究は消化器外科学、特に虚血腸管に対する外科治療の進歩に少なからず寄与するものと認める。

[主論文公表誌]

Experimental model to estimate intestinal viability using charge-coupled device microscopy

Brit J Surg in press