



Embolism bubble adhesion force in excised perfused microvessels

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 鈴木, 明 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1661

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 384号	学位授与年月日	平成16年 2月20日
氏 名	鈴木 明		
論文題目	Embolism bubble adhesion force in excised perfused microvessels (摘出灌流細動脈における血管内気泡の接着力)		

博士 (医学) 鈴木 明

論文題目

Embolism bubble adhesion force in excised perfused microvessels

(摘出灌流細動脈における血管内気泡の接着力)

論文の内容の要旨

[はじめに]

空気塞栓症は、人工心肺を用いた心臓外科手術、座位で行われる脳神経外科手術、心臓に対して術野を高位にした肝切除術その他、ダイビング時の減圧に伴い発生すると言われている。しかし、現状ではその発生を予測することは難しく、治療法は高圧酸素療法等限られていて、新たな予防法、治療法の確立が望まれている。

[材料ならびに方法]

(1) 血管摘出および灌流装置へのセッティング

体重200-250 gのWistarラットから血管径 200 μ mの腸間膜動脈を長さ3mmで摘出後、微小血管灌流装置のマイクロピペットにマウントし、血管壁および接合部からの漏れがないことを確認した。血管外を21% 酸素、5% 二酸化炭素及び74% 窒素を含んだ気体でバブリングし37℃に保ったクレブス液で灌流した。フェニレフリン及びアセチルコリンを用い血管反応性が保たれていることを確認した。

(2) 血管内への気泡注入

細胞注入装置に接続した先端を鋭利に(7-10 μ m)研磨したマイクロピペットで血管壁を刺入し、ごく少量(2-3nl)の空気を注入し空気塞栓モデルを作成した。顕微鏡に接続したビデオカメラを用いて気泡の長さ(L)および直径(D)を計測した。

(3) 接着力の測定

気泡が注入された血管の片端を大気に開放した後他端の圧力を徐々に上昇させ、気泡が動いた時点の気泡両端の圧格差を測定し、血管壁と気泡の間の単位接触面積あたりの接着力(K)を $K=\Delta P \cdot D/4L$ から算出した。気泡の血管内留置時間、血管内灌流液、血管内皮の状態を変化させて反復測定した。

[結果]

(1) 気泡留置時間と接着力

血管内灌流液としてクレブス液を用いた場合、留置時間10分での接着力($141 \pm 29 \text{ dyne/cm}^2$)は、5分($56 \pm 22 \text{ dyne/cm}^2$)、20分($46 \pm 29 \text{ dyne/cm}^2$)、30分($16 \pm 5 \text{ dyne/cm}^2$)と比べて大きかった。一方、血清を用いた場合、留置時間10分での接着力($153 \pm 57 \text{ dyne/cm}^2$)は、5分($71 \pm 29 \text{ dyne/cm}^2$)と比べて大きかったが、20分($100 \pm 55 \text{ dyne/cm}^2$)、30分($80 \pm 48 \text{ dyne/cm}^2$)と差はなかった。

(2) 血管内皮の状態と接着力

血管内皮を障害した状態でラット血清を用いると、留置時間の違いによる接着力に差はみ

られなかった(5分:62±9dyne/cm²、10分:60±14dyne/cm²、20分:56±8dyne/cm²、30分:60±13dyne/cm²)が、留置時間10分では内皮が障害されていない群と比べて低下していた。

(3) アルブミン添加と接着力

血管内灌流液にアルブミンを5%加えると、接着力は349±149dyne/cm²に上昇し、添加しない場合と比べ有意差が見られた。血管内皮を障害した場合でも322±101 dyne/cm²に上昇し、内皮を障害しアルブミン添加しない群と比較し有意であった。

(4) 血管内気泡留置の血管反応性への影響

フェニレフリンに対する血管の収縮反応(前 42±6%、後 34±8%)、アセチルコリンに対する拡張反応(前 100±0%、後100±0%)とも血管内に気泡を30分留置した前後で有意差は見られなかった。

[考察]

本研究ではラット腸間膜動脈を用い空気塞栓モデルを作成し、血管内に注入した気泡と血管壁の間の接着力を測定した。

気泡と血管壁の間の接着力は、血管内留置時間10分で最大となりその後減少した。血管内皮と気泡の接触面の状態が時間経過により変化し接着力に変化を与えたことが示唆された。

血管内皮を傷害した状態では接着力が減少したことより、接着力形成に血管内皮表面の構造が関係していることが考えられた。この状態での接着力の値は血管内皮を障害せず気泡を30分留置した前述の値と同様であり、30分の気泡留置は血管内皮表面に何らかの変化を与えているとの考察を支持する結果である。

血管内灌流液としてのクレブス液に5%アルブミンを添加すると接着力が著しく上昇した。気泡表面と血管内皮の境界面でアルブミンが接着力を高める働きをしていると考えられるが、同様にアルブミンが含まれているラット血清を用いた場合と比べても著しく高値であり、血清中のアルブミン以外の成分も接着力に関与していることが示唆された。

30分間の血管内気泡留置後もフェニレフリン、アセチルコリンに対する血管反応性が保たれたことは、気泡留置が血管の収縮、拡張機能を傷害しなかった事を意味すると考えられる。接着力の検討結果と合わせて考えると、気泡留置は血管内皮表面の性状に影響を与えたけれども、血管内皮の機能に影響を与えるほどの侵襲では無かったと推察される。

[結論]

摘出細動脈を用いた空気塞栓モデルにおける血管内気泡と血管壁の間の接着力は、気泡の血管内留置時間、血管内皮の状態、血管内灌流液の組成に影響される。

論文審査の結果の要旨

空気塞栓症は心血管手術やスキューバダイビングの減圧時に発生することがあり、重篤な結果を招くが、その治療法は限られており、新たな予防法や治療法の確立が望まれている。本研究において申請者らはラットの摘出血管を用いた空気塞栓モデルを用い、血管壁と気泡の間の接着力を測定する方法を開発し、空気塞栓の発生機構の解明を試みた。

雌性 Wistar ラット(200-250 g)から血管径200 μmの腸間膜動脈を長さ3mmで摘出後、微小血管

灌流装置に装着した。血管外をクレブス液(37℃、酸素21%、二酸化炭素5%、窒素74%)で灌流し、フェニレフリン及びアセチルコリンに対する血管反応性が保たれていることを確認した。先端を鋭利に(7-10 μ m)研磨したマイクロビペットで血管壁を刺入し、ごく少量(2-3 nl)の空気を注入し空気塞栓モデルとした。顕微鏡に接続したビデオカメラを用いて気泡の長さ(L)および直径(D)を計測した。気泡の片端に徐々に圧力をかけ、気泡が動いた時点の気泡両端の圧格差より血管壁と気泡の間の単位接触面積あたりの接着力(K)を算出した($K=\Delta P \cdot D/4L$)。気泡の血管内留置時間、血管内灌流液、血管内皮の状態を変化させてその接着力に及ぼす影響を観察した。

気泡の血管内留置時間を5、10、20、30分と変化させたが、血管内をクレブス液で灌流したとき、留置時間10分での接着力($141 \pm 29 \text{ dyne/cm}^2$)が最も高く、以後低下した(5分: 56 ± 22 、20分: 46 ± 29 、30分: 14 ± 5)。血管内皮と気泡の接触面の状態が時間経過により変化し、接着力に影響を与えたと考えられた。しかし、30分間の血管内気泡留置後もフェニレフリン、アセチルコリンに対する血管反応性が保たれたことより、気泡留置は血管内皮表面の性状に影響を与えたが、血管内皮の機能は障害しない程度の侵襲と推察される。一方、ラット血清で灌流すると留置時間10分での接着力($153 \pm 57 \text{ dyne/cm}^2$)は、5分(71 ± 29)と比べて大きかったが、20分(100 ± 55)、30分(80 ± 48)と差はなかった。

血管内皮を障害した状態で血清を用いると、内皮が障害のない群における留置時間10分での接着力の亢進がみられなくなり、留置時間の違いによる接着力に差がなくなった(5分: 62 ± 9 、10分: 60 ± 14 、20分: 56 ± 8 、30分: $60 \pm 13 \text{ dyne/cm}^2$)。気泡の留置時間10分では両者間で有意な差があり、接着力形成に血管内皮表面の構造が関係していることが考えられた。血管内皮を障害下での接着力は血管内皮を障害せず気泡を30分留置したときと同様であり、30分の気泡留置は血管内皮表面に何らかの変化を与えていると考察された。

血管内灌流液のクレブス液に5%アルブミンを添加すると、気泡の留置時間10分の接着力は添加しない場合の $156 \pm 50 \text{ dyne/cm}^2$ から $349 \pm 149 \text{ dyne/cm}^2$ に上昇した($p < 0.05$)。血管内皮を障害した場合でも $68 \pm 46 \text{ dyne/cm}^2$ から $322 \pm 101 \text{ dyne/cm}^2$ に上昇した($p < 0.05$)。気泡表面と血管内皮の境界面でアルブミンが接着力を高める働きをしていると考えられるが、同様にアルブミンが含まれているラット血清を用いた場合と比べても著しく高値であり、血清中のアルブミン以外の成分も接着力に関与していることが示唆された。

以上の結果より本空気塞栓モデルにおける血管内気泡と血管壁の間の接着力は、気泡の血管内留置時間、血管内皮の状態、血管内灌流液の組成などに影響されることが明らかになった。本モデルは臨床上的空気塞栓とは未だかけ離れた感のあるモデルであり、また血管内灌流液にも赤血球や血小板などが含まれておらず、本研究の結果を臨床に活かすにはさらに多くの実験が必要であるが、空気塞栓という重篤な合併症に対し科学的なアプローチの第一歩を踏み出したという点を審査委員会は高く評価した。

審査の過程において、申講者に対して次のような質問がなされた。

- 1) 気体における接着力とは何を表しているのか
- 2) 気体と液体では同じ流体力学で論じることができるのか
- 3) 気泡の血管内留置時間が長くなると接着力が落ちる意味について
- 4) 接着能における内皮細胞の役割について
- 5) 接着能における各種血液成分の役割について

- 6) Glycocalyx の生理的役割について
- 7) Glycocalyxは脳血管や冠血管にも存在するのか
- 8) Glycocalyx の電子顕微鏡像について
- 9) 癌細胞の血行性転移における接着能について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	難	波	宏	樹	
	副査	数	井	暉	久	副査 今 野 弘 之