



Impact of peritoneal lavage temperature during laparotomy in a preterm peritonitis mouse model using cecal slurry

吉村，翔平

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2024-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8785号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100490010>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



課程博士関係

学位論文の内容要旨

**Impact of peritoneal lavage temperature during laparotomy
in a preterm peritonitis mouse model using cecal slurry**

糞便懸濁液を用いた早産児腹膜炎モデルマウスの開腹手術時における
腹腔内洗浄液の温度が及ぼす影響の検討

(指導教員：神戸大学大学院医学研究科医科学専攻 尾藤 祐子 特命教授)

吉村 翔平

【背景】

早産児腹膜炎は壊死性腸炎や特発性小腸穿孔、胎便関連性腸閉塞などに起因する消化管穿孔により発症する。近年、新生児集中治療管理や手術手技が向上しているにも関わらず依然として死亡率の高い疾患であり、生存率の改善が世界中の喫緊の課題である。

早産児腹膜炎モデルマウスは 2017 年に Fujioka らによって確立された新しいモデルマウスであり、日齢 4 の新生仔マウスに対して成獣マウスの虫垂内容液を用いて作成した糞便懸濁液 (Cecal slurry: CS) を腹腔内投与して作成する。本研究では、早産児腹膜炎モデルマウスに対する開腹手術中に腹腔内洗浄の治療介入を行うことによる生存率への影響、また腹腔内洗浄液の温度の変化に伴う生存率への影響を検討することとした。

【方法】

日齢 4 の新生仔マウスに対して 7 日間の死亡率が 25 %となるように設定した体重 1.0 gあたり 1.8 mg の CS を腹腔内投与した早産児腹膜炎モデルマウスを作成した。本モデルマウスの作成 2 時間後にセボフルランの吸入麻酔下に 5 mm の上腹部横切開創を加えて開腹手術を行い、1 分間の開腹の後に 6-0 PDS Plus 2 針を用いて閉腹した (Sham 群)。腹腔内洗浄の治療介入を行った群として 1 分間の開腹中に 25 °C (体温より低温), 35 °C (体温と同温), 45 °C (体温より高温) の生理食塩水 500 μ l で腹腔内洗浄を実施し、同様の手順で閉腹したマウスを設定した (PL25, PL35, PL45 群)。

各群の術後 7 日間の生存率と術後 24 時間の体重増減率、開腹手術前後の体温変化、術後 2 時間の 6 種類の血漿中、腹水中の炎症性・抗炎症性サイトカイン (interleukin-6 (IL-6), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor (TNF), interleukin-12p70 (IL-12p70), interferon- γ (IFN- γ)) 濃度の測定を行った。

生存率は Log-rank 検定を用いて、体重増減率と体温変化、サイトカイン濃度は Kruskal-Wallis 検定を用いて解析した。 $p < 0.05$ を統計学的に有意と設定した。

【結果】

Sham 群、PL25 群、PL35 群、PL45 群の術後 7 日目の生存率はそれぞれ 52.9 %, 56.3 %, 33.3 %, 18.2 % ($p = 0.097$) であり、洗浄温度が高くなるにつれて生存率が低下した。術後 24 時間の各群の体重増減率の中央値は -7.4 %, -7.4 %, -10.5 %, -11.5 % ($p = 0.040$) だった。開腹手術前後の各群の体温変化の中央値は -1.85 °C, -2.30 °C, -3.40 °C, -1.80 °C ($p = 0.0065$) であり、PL35 群では Sham 群、PL45 群と比較して優位に低体温だった。血漿中、腹水中の炎症性・抗炎症性サイトカイン濃度は腹水中の MCP-1 のみ有意な相関を示し、各群の腹水 MCP-1 濃度の中央値は 32,432, 16,244, 6,279, 5,100 pg/ml ($p=0.049$) と洗浄温度が高くなるにつれて低下した。

【考察】

本研究では、早産児腹膜炎モデルマウスを用いて開腹手術中の腹腔内洗浄による治療効果と腹腔内洗浄液の温度変化による生存率への影響を検討した。Sham 群と比較して PL25 群では 3.4 %のみ生存率の改善効果を認めるものの、PL35 群では 19.6 %、34.7 %の生存率の低下を来しており、体温と同温もしくは高温の生理食塩水による腹腔内洗浄はむしろ悪影響を及ぼしている可能性が示唆された。術後 24 時間の体重増減率は生存率低下の傾向と一致しており、循環血漿量減少が生存率低下の一因と考えられた。

生存率低下の原因として開腹手術前後の体温変化と血漿中、腹水中の炎症性・抗炎症性サイトカイン濃度に着目して検討を行った。特に早産児では術中の低体温が生存率に関与する報告は多く、開腹手術では術野が大気に触れることによる蒸発や放散による熱損失により更なる低体温を招くことが知られている。したがって、PL35 群での生存率低下は周術期の低体温が原因と考えられた。しかしながら、体温より高温である P45 群では周術期の低体温が抑制されていたにも関わらず、PL35 群よりもさらに生存率が低下する結果だった。体温より高温の腹腔内洗浄液を用いることにより低体温を抑制することは可能であったが、血管拡張による熱損失の増加や腹腔内の臓器への熱損傷、癒着などのその他の要因が生存率低下に関与していると推測された。

血漿中、腹水中の炎症性・抗炎症性サイトカイン濃度を検討すると、生存率が低下するにつれて炎症性サイトカインである腹水 MCP-1 濃度が抑制される結果だった。腹腔内洗浄による治療介入に伴い腹腔内の CS が除去され腹膜炎の程度が改善するために腹水 MCP-1 濃度が抑制されると考えられた。また、血漿 MCP-1 濃度も腹水 MCP-1 と同様に抑制される傾向にあり、腹水中のサイトカイン濃度の低下が全身性のサイトカイン濃度の低下、生存率の低下に繋がっていると推測されるが、サイトカイン抑制と生存率の因果関係の要因を示すことはできなかった。

本研究の限界点として、実臨床での消化管穿孔では腹腔内に持続的に糞便が漏出するのに対して早産児腹膜炎モデルマウスでは一度の CS 腹腔内投与により作成されるため実臨床の消化管穿孔の状態を完全に再現できているとは言えない点が挙げられる。

本研究で得られた 25 %の死亡率の早産児腹膜炎モデルマウスに開腹手術を行うのみで約半数のマウスが死亡するという結果は、早産児の腹膜炎状態での開腹手術の侵襲が無視できないものであることを示唆している。本研究は早産児腹膜炎モデルマウスを応用して小さく脆弱な日齢 4 の新生仔マウスに対する開腹手術の実験手法を確立した最初の研究であり、今後はこの手技を応用し早産児に特有の腹膜炎の病態解明や新しい手術手技の開発に寄与することが期待される。

【結語】

早産児腹膜炎モデルマウスに対する開腹手術中の腹腔内洗浄による有意な生存率上昇効果を示す結果は得られず、35 °C、45 °Cの腹腔内洗浄ではむしろ生存率が低下した。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 3356 号	氏名	吉村翔平
論文題目 Title of Dissertation	<p>Impact of peritoneal lavage temperature during laparotomy in a preterm peritonitis mouse model using cecal slurry</p> <p>糞便懸濁液を用いた早産児腹膜炎モデルマウスの開腹手術時における腹腔内洗浄液の温度が及ぼす影響の検討</p>		
審査委員 Examiner	<p>主査 <u>野津 寛人</u> Chief Examiner</p> <p>副査 <u>掛地 吾郎</u> Vice-examiner</p> <p>副査 <u>小谷 稔治</u> Vice-examiner</p>		
	(要旨は1,000字～2,000字程度)		

【背景】

早産児腹膜炎は壊死性腸炎や特発性小腸穿孔、胎便関連性腸閉塞などに起因する消化管穿孔により発症する致死的な疾患であり、生存率の改善が世界中の喫緊の課題である。腹腔内洗浄は成人領域の細菌性腹膜炎に対する一般的な治療法であるが、早産児腹膜炎に対しては低体温や手術時間の延長を理由に腹腔内洗浄が行われていないことが多く科学的根拠に裏付けされたものではない。

本研究では、早産児腹膜炎モデルマウスを用いて開腹手術中に腹腔内洗浄の治療介入を行うことによる生存率への影響、また腹腔内洗浄液の温度の変化に伴う生存率への影響を検討することとした。

【方法】

日齢4の新生仔マウスに対して7日間の死亡率が25%となるように設定した体重1.0gあたり1.8mgのCSを腹腔内投与した早産児腹膜炎モデルマウスを作成した。本モデルマウスの作成2時間後に吸入麻酔下に5mmの上腹部横切開を行い、1分間の開腹後に6-0 PDS 2針を用いて閉腹した(Sham群)。腹腔内洗浄の治療介入を行った群として1分間の開腹中に25°C(体温より低温)、35°C(体温と同温)、

45 °C (体温より高温) の生理食塩水 500 μ l で腹腔内洗浄を実施し、同様の手順で閉腹したマウスを設定した (PL25, PL35, PL45 群).

各群の術後 7 日間の生存率と術後 24 時間の体重増減率、開腹手術前後の体温変化、術後 2 時間の 6 種類の血漿中、腹水中の炎症性・抗炎症性サイトカイン (interleukin-6 (IL-6), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor (TNF), interleukin-12p70 (IL-12p70), interferon- γ (IFN- γ)) 濃度を検討した。

【結果】

Sham 群、PL25 群、PL35 群、PL45 群の術後 7 日目の生存率はそれぞれ 52.9 %, 56.3 %, 33.3 %, 18.2 % ($p = 0.097$) であり、術後 24 時間の各群の体重増減率の中央値は -7.4 %, -7.4 %, -10.5 %, -11.5 % ($p = 0.040$) だった。

【考察】

Sham 群と比較して PL25 群では 3.4 %のみ生存率の改善効果を認めるものの、PL35 群では 19.6 %、PL45 群では 34.7 %の生存率の低下を来しており、体温と同温もしくは高温の生理食塩水による腹腔内洗浄はむしろ悪影響を及ぼしている可能性が示唆された。術後 24 時間の体重増減率は生存率低下の傾向と一致しており、循環血漿量減少が生存率低下の一因と考えられた。

また、生存率低下の原因として開腹手術前後の体温変化と血漿中、腹水中の炎症性・抗炎症性サイトカイン濃度に着目した。特に早産児では低体温が生存率低下に関与する報告が多く、開腹手術では術野が大気に触れることによる蒸発や放散による熱損失により更なる低体温を招くことが知られる。したがって、PL35 群での生存率低下は周術期の低体温が原因と考えられた。しかしながら、体温より高温である P45 群では周術期の低体温が抑制されていたにも関わらず、PL35 群よりもさらに生存率が低下した。血漿中、腹水中の炎症性・抗炎症性サイトカイン濃度を検討すると、生存率が低下するにつれて炎症性サイトカインである腹水 MCP-1 濃度が抑制される結果だった。腹腔内洗浄による治療介入に伴い腹腔内の CS が除去され腹膜炎の程度が改善するために腹水 MCP-1 濃度が抑制されると考えられた。また、血漿 MCP-1 濃度も腹水 MCP-1 と同様に抑制される傾向にあり、腹水中のサイトカイン濃度の低下が全身性的サイトカイン濃度の低下、生存率の低下に繋がっていると推測されるが、サイトカイン抑制と生存率の因果関係の要因を示すことはできなかった。

【結語】

早産児腹膜炎モデルマウスに対する開腹手術中の腹腔内洗浄による有意な生存率上昇効果を示す結果は得られず、35 °C, 45 °C の腹腔内洗浄ではむしろ生存率が低下した。これまでにない意義深い知見を見出した研究であり、本研究者自身も本病態に精通し、研究内容の重要性を理解している。よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。