



# Intraperitoneal administration of oxygenated perfluorochemical inhibits bacterial translocation associated with severe acute pancreatitis

Shinzeki, Makoto

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2003-03-31

(Date of Publication)

2013-05-17

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲2857

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002857>

※ 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。



【 1 3 1 】

氏 名 ・(本 籍) 新関 亮 ( 兵庫 県 )

博士の専攻分野の名称 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博い第1526号

学位授与の 要件 学位規則第4条第1項該当

学位授与の 日 付 平成15年3月31日

【 学位論文題目 】

Intraperitoneal Administration of Oxygenated  
Perfluorochemical Inhibits Bacterial Translocation  
Associated with Severe Acute Pancreatitis  
(重症急性膵炎に伴うバクテリアル・トランスロケーションに  
対する酸素化perfluorochemical腹腔内投与の阻害効果)

審 査 委 員

主 査 教 授 黒田 嘉和

教 授 佐藤 茂秋

教 授 西尾 久英

## 序論

急性膵炎は軽症例から重症例まで多様な病態を示すが、重症例における死亡率は依然として高い。特に膵および膵周囲の感染による敗血症は治療に抵抗性であり、急性膵炎の主たる死因である。

腸管からのバクテリアル・トランスロケーションは急性膵炎における感染の主な原因と考えられている。腸管腔から膵、膵周囲への腸内細菌の移行経路は明らかにされていないが、腸管壁の透過性亢進が関係していると報告されている。さらに最近では、腸管の微小循環障害が、急性膵炎に伴うバクテリアル・トランスロケーションにおいて重要な役割を果たしていると報告されている。

一方で腸管の虚血は重篤な病態であることは良く知られており、虚血再灌流モデルは壊死性腸炎、non-occlusive mesenteric ischemia の病態生理の解明に用いられている。Perfluorochemical (以下PFC) は生理学的に非活性の液体であり、高濃度酸素の投与により40%以上の酸素溶存能を持っている。明らかな生物毒性はなく、酸素化したPFCにより組織、臓器へ効率良く酸素を運搬可能であると報告されている。酸素化PFCの腸管内、腹腔内投与による腸管の酸素化によって腸管虚血に伴う腸管粘膜のintegrityが保持され、バクテリアル・トランスロケーションが抑制されて、局所および全身の障害が改善されたと報告されている。

今回、PFCの一つであるperfluorodecalinを用いて、重症急性膵炎に伴うバクテリアル・トランスロケーションに対する効果を検討した。さらに急性膵炎において、酸素化PFCが腸管粘膜に及ぼす効果についても検討した。

## 実験方法と結果

### 実験モデルの作製

ウイスター系雄性ラット(9週齢、300~350g)をジエチルエーテル麻酔下に開腹し、胆膵管内に逆行性に3%デオキシコール酸を100 $\mu$ l注入して重症急性膵炎を作成した(膵炎群)。膵炎作製直後に酸素化したPFCを10ml腹腔内に投与し、酸素化PFC投与群とした。対照群として単開腹群および膵炎作製直後に酸素化していないPFCを10ml腹腔内投与した非酸素化PFC投与群を作製した。モデル作製8、12、24時間後に犠死させ、以下の検討を行った。

#### 1. 腸間膜リンパ節へのバクテリアル・トランスロケーション

腸間膜リンパ節を摘出して嫌気、好気条件下に細菌培養し、バクテリアル・トランスロケーションを検討した。単開腹群では膵炎作製12時間後のリンパ節培養は全例陰性であったのに対し、膵炎群では培養陽性率60%と増加していた。一方、酸素化PFC投与群では培養陽性率37%と低下していた。非酸素化PFC投与群では61%と膵炎群と同等であった。膵炎作製24時間後のリンパ節培養においては、単開腹群以外では全例が培養陽性であったが、膵炎群、非酸素化PFC投与群に比べて酸素化PFC投与群では有意に菌量が減少していた。

#### 2. 回腸粘膜絨毛高の計測

膵炎作製12時間後に回腸末端を摘出し、H.E.染色を行って粘膜絨毛高を計測した。いずれのモデルにおいても有意な差は認めなかった。

#### 3. 回腸粘膜上皮TUNEL染色

膵炎作製12時間後に回腸末端を摘出し、TUNEL染色を行った。粘膜上皮細胞におけるTUNEL陽性細胞の割合は単開腹群(16.7 $\pm$ 1.3%)に比べ、膵炎群(30.7 $\pm$ 3.5%)で有意に増加していた。一方、酸素化PFC投与群では有意に減少(19.7 $\pm$ 1.6%)していたが、非酸素化PFC投与群では減少していなかった(25.7 $\pm$ 2.3%)。

#### 4. 回腸粘膜上皮におけるDNAの断片化

肺炎作製8時間後に回腸末端を摘出し、粘膜、粘膜下層を漿膜筋層から剥離して可溶化し、ELISA法によって吸光度を測定して断片化DNAを定量した。断片化DNAは単開腹群に比べて肺炎群で有意に増加していた。この変化は酸素化PFC投与群で有意に抑制されており、非酸素化PFC投与群では抑制されなかった。

#### 考察

本研究により、ラット重症急性肺炎モデルでは、発症早期から回腸粘膜上皮細胞のアポトーシスが加速され、腸間膜リンパ節へのバクテリアル・トランスロケーションが惹起されること、さらに酸素化PFCの腹腔内投与により、アポトーシスの加速とバクテリアル・トランスロケーションとが抑制されることが判明した。

一方、非酸素化PFCの投与はバクテリアル・トランスロケーション、腸管粘膜上皮細胞のアポトーシスともに抑制することが出来なかったことから、腸管の酸素化が有効であったと考えられた。

腸管粘膜におけるアポトーシスは急性肺炎において加速され、この変化は腸管壁のintegrityを低下させると報告されている。今回、重症急性肺炎モデル作製8時間後において、すでに腸管粘膜のアポトーシスが加速しており、酸素化PFCの投与によってこれを抑制できる事が確認された。

酸素化PFCの腹腔内投与は、重症急性肺炎に伴う腸管粘膜のアポトーシスの加速を抑制することによって腸管壁のintegrityを保持したと考えられた。

腸管虚血再灌流モデルに対する酸素化PFCの有用性が報告されており、その多くは腸管内投与による報告である。酸素化PFCの投与経路としては、腸管内投与が腹腔内投与よりも低侵襲であり、腸管粘膜の酸素化という観点からも腸管内腔

への投与は合理的である。一方、急性肺炎においては腸管麻痺により腸管運動能の低下が起こることは広く知られており、本実験モデルにおいても腸管内投与ではPFCを遠位の腸管腔へと到達させることが困難であることが予想された。バクテリアル・トランスロケーションは主に回腸、結腸の粘膜から高頻度に発生すると報告されており、腸管内投与では酸素化PFCを遠位の腸管に到達させる事が困難であることが予想されたため、今回は腹腔内投与について検討した。

腸管運動の改善は急性肺炎に伴うバクテリアル・トランスロケーションを抑制するとされており、今後は急性肺炎における腸管運動低下の治療法を開発して、酸素化PFCの腸管内投与との併用効果の解析が必要であろう。

酸素化PFCの投与は重症急性肺炎に伴う腸管粘膜のアポトーシスの加速を抑制し、バクテリアル・トランスロケーションを減少させた。投与方法についてはさらなる検討が必要であるが、酸素化PFCによる腸管壁integrityの保持は、重症急性肺炎における感染予防に有効であると考えられた。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲第 1527 号	氏名	新開 亮
論文題目	Intraperitoneal Administration of Oxygenated Perfluorochemical Inhibits Bacterial Translocation Associated with Severe Acute Pancreatitis (重症急性膵炎に伴うバクテリアル・トランスロケーション に対する 酸素化perfluorochemical腹腔内投与の阻害効果)		
審査委員	主 査	黒田 嘉和	
	副 査	佐藤 茂秋	
	副 査	西尾 久英	
審査終了日	平成 15 年 3 月 24 日		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

重症急性膵炎では、腸内細菌のバクテリアル・トランスロケーションから膵および膵周囲の壊死巣へ感染を併発し、敗血症から致命的経過をたどることが問題となっている。バクテリアル・トランスロケーションにおける腸管腔内から腸管外への腸内細菌の移行機序には、腸管壁の透過性亢進現象や腸管の微小循環障害が関与していることが報告されている。そこで、本研究では、高濃度酸素供与体である Perfluorochemical (以下PFC) を用いた腸管酸素化が急性膵炎におけるバクテリアル・トランスロケーション防止に有効かどうかを検討している。PFCは生理学的に非活性の液体であり、高濃度酸素の投与により40%以上の酸素溶存能を持っており、明らかな生物毒性はなく、酸素化したPFCにより組織、臓器へ効率良く酸素を運搬可能であると報告されている。

本研究では、ウイスター系雄性ラットを麻酔下に開腹し、胆膵管内に胆汁酸を注入して重症急性膵炎を作成し、その直後に酸素化した PFC を 10ml 腹腔内に投与している。対照群として単開腹群および膵炎作製直後に酸素化していない PFC を 10ml 腹腔内投与した非酸素化 PFC 投与群を作成し、モデル作成後経時的に犠死させ、酸素化 PFC 投与の効果解析し、以下の結果を得ている。

すなわち、腸間膜リンパ節への腸内細菌移行率で見ると、酸素化PFC投与は膵炎作成12時間後での細菌移行率を減少させ、24時間後におけるリンパ節への移行菌量を有意に減少させた。一方、膵炎作成12時間後には回腸粘膜上皮細胞中のTUNEL陽性細胞が有意に増加していたが、酸素化PFC投与により有意に減少した。さらに、膵炎作製8時間後の回腸粘膜における断片化DNA量は膵炎群で有意に増加したが、酸素化PFC投与群で有意に抑制された。さらに、このような効果は非酸素化PFC投与群

では認められなかったと報告している。

以上の結果から、ラット重症急性膵炎モデルでは、発症早期から回腸粘膜上皮細胞のアポトーシスが加速されることにより、腸間膜リンパ節へのバクテリアル・トランスロケーションが惹起されると推論している。さらに、酸素化PFCの腹腔内投与によって、重症急性膵炎に伴う腸管粘膜のアポトーシスが抑制され、腸管壁の integrity が保持された結果、バクテリアル・トランスロケーションが抑止されたと考察している。一方、急性膵炎における腸管麻痺の存在から、今回は腹腔内投与について検討したが、酸素化PFCの投与経路としては腸管内投与が低侵襲で合理的であると述べている。腸管運動の改善が急性膵炎に伴うバクテリアル・トランスロケーションを抑制することも報告されていることから、急性膵炎における腸管麻痺に対する治療と、酸素化PFCの腸管内投与と併用が理想的治療法となると将来の展望についても考案している。

本研究は、重症急性膵炎における感染源と目されるバクテリアル・トランスロケーションを実験的に解析し、酸素化PFCの腹腔内投与が腸管粘膜上皮のアポトーシスを抑制してバクテリアル・トランスロケーションを抑止することをはじめて見出したものであり、従来まったく行われていない重症急性膵炎における感染機構とその対策について重要な知見を得たものとして価値ある集積と認める。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。