Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Prediction of Reversibility of Intestinal Mucosal Damage after Ischemia-Reperfusion Injury by Plasma Intestinal Fatty Acid-Binding Protein Levels in Pigs

Kano, Hiroya

(Degree)
博士（医学）

(Date of Degree)
2015-03-25

(Resource Type)
doctoral thesis

(Report Number)
甲第6273号

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006273

※ 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

Prediction of Reversibility of Intestinal Mucosal Damage after Ischemia-Reperfusion Injury by Plasma Intestinal Fatty Acid-Binding Protein Levels in Pigs

ブタ腸管虚血再灌流時における血漿腸型脂肪酸結合蛋白を用いた腸管粘膜障害の予測

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
心臓血管外科学
（指導教員：大北　裕教授）

加納　寛也

ブタ腸管虚血再灌流時における腸型脂肪酸蛋白を用いた腸管粘膜障害の予測

心臓血管外科
加納　寛也

目的

心臓血管外科周術期において腸管壊死は非常に致死率の高い合併症であるが的確な診断は難しい。小腸上皮細胞に特異的に存在する 15kDa の腸型脂肪酸結合タンパク（Intestinal Fatty Acid-Binding Protein: I-FABP）は、脂質並びに脂溶性栄養素の吸収・輸送に関わる一方、粘膜上皮が傷害を受けると細胞外に逸脱し血中に移行する事が知られている。血中 I-FABP 値が腸管循環障害の指標に成り得ると仮定し、虚血再灌流後の I-FABP 値の変化と病理組織学的変化の関係を明確にするため腸管虚血モデルを作成し実験を行った。

方法

40～41 kgのブタ（ヨークシャ）を用い、耳動脈から動脈ラインを測定し同部位より血液サンプルを採取した。直腸温を測定し、全身麻酔下に胸骨正中切開を行い下行大動脈露出した。腹部小切開を加え小腸を愛護的に露出した。腹腔動脈分岐部直上にて下行大動脈を遮断し腸管虚血モデルを作成した。15 分虚血(short-interval) n=3、30 分虚血(middle-interval) n=3、60 分虚血(long-interval) n=3 の 3 群を実施した。手術開始時コントロールとして(T1)、下行大動脈遮断解除し腸管再灌流 15 分後(T2)、30 分後(T3)、45 分後(T4)、及び 60 分後(T5)で動脈血を採取した。動脈血 pH、Base excess、乳酸値を血液ガス測定装置で測定し、I-FABP 値を ELISA 法にて測定した。また、小腸腸管組織の一部を同時間帯で採取し、Hematoxyn-Eosin(HE)染色、I-FABP 染色、細胞の増殖活性の指標として Ki-67 免疫染色および細胞接着因子の E-cadherin 染色を行った。

結果：

Short-interval 群の I-FABP 値は T3 で 1859pg/ml とピークを認めた。Middle-interval 群の I-FABP 値は T5 で 5053pg/ml とピークを認めた。Long-interval 群で I-FABP 値は、T3 で 10734pg/ml と再灌流後より急激に上昇を示しその後血行動態が破綻し死亡した。I-FABP 値で middle-interval 群と long-interval 群の間に有意差を認めた（p=0.01）。

臨床において腸管循環の指標として pH、Base excess、乳酸値が用いられているが、いずれのパラメーターにおいても 3 群とも T2 をピークとした変化を認めた。T1 における動脈血 pH は 7.4、T2 において short-interval 群 7.3、middle-interval 群 7.12、long-interval 群 7.05 と低下した。T1 における Base excess は 3.12、T2 において short-interval 群-0.4、middle-interval 群-7.2、long-interval 群-12.7、T1 における乳酸値は 16mg/dl、T2 において short-interval 群 46mg/dl、middle-interval 群 85mg/dl、long-interval 群 122mg/dl と変化したが BE（p=0.007）以外有意差は認めなかった。

T3 において long-interval 群の 1 頭が再灌流後から血行動態を維持できず死亡した。

病理組織学的検討では、HE 染色において short-interval 群では軽度の炎症性変化に留まった。middle-interval 群では T4 で炎症は強く粘膜上皮の部分的脱落を認めたが、T5 では上皮細胞の再生を認めた。一方、long-interval 群における組織傷害は高度であり腸管壊死を認めた。I-FABP 免疫染色強度は血中 I-FABP 値に比例し染色された。

また、Ki-67 免疫染色では、short-interval 群では、細胞増殖活性に変化を認めなかった。しかし、middle-interval 群では T3 から T4 にかけて増殖活性を認めたが、T5 の時点では short-interval 群と同様に増殖活性は認めなかった。

E-cadherin 染色は Ki-67 同様 short-interval 群では経過中の変化は軽微であったが、middle-interval 群では T2 で発現亢進、T3 で一過性に発現低下を認めるも T4 で再度発現亢進を認め、T5 でほぼ正常の発現に復した。

考察：

腸管虚血の安全限界時間は明確ではない。従来から用いられている動脈血 pH、Base excess、乳酸値は様々な要因で変動するため腸管障害の特異的指標ではない。本研究により病理組織学的に粘膜障害の程度に応じ血中 I-FABP 値は増加し、血中 I-FABP 値が腸管循環障害の指標となることが示唆された。

結語：

I-FABP 値は病理組織学的腸管粘膜上皮障害の程度に相関した。常温状態で 30 分間の腸管虚血による I-FABP 値 5000pg/dl 付近をピークとする腸管障害では腸管粘膜上皮の一時的な部分的脱落を認めるが可逆的な状態であることが病理組織学的検討で判明した。I-FABP 値は腸管虚血・再灌流時の腸管障害の指標となることが示唆された。

神戸大学大学院医学(系)研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2473号	氏　名	加納　寛也
論文題目 Title of Dissertation	Prediction of reversibility of intestinal mucosal damage after ischemia-reperfusion injury by plasma intestinal fatty acid-binding protein levels in pigs. ブタ腸管虚血再灌流時における血漿腸型脂肪酸結合蛋白を用いた腸管粘膜障害の予測		
審査委員 Examiner	主　査 Chief Examiner 副　査 Vice-examiner 副　査 Vice-examiner	掛地吉弘 伊藤壽一 杉本幸司	

（要旨は１，０００字～２，０００字程度）

目的：

心臓血管外科周術期において腸管壊死は非常に致死率の高い合併症であるが的確な診断は難しい。小腸上皮細胞に特異的に存在する15kDaの腸型脂肪酸結合タンパク（Intestinal Fatty Acid-Binding Protein: I-FABP）は、脂質並びに脂溶性栄養素の吸収・輸送に関わる一方、粘膜上皮が傷害を受けると細胞外に逸脱し血中に移行する事が知られている。血中I-FABP値が腸管循環障害の指標に成り得ると仮定し、虚血再灌流後のI-FABP値の変化と病理組織学的変化の関係を明確にするため腸管虚血モデルを作成し実験を行った。

方法：

40～41 kgのブタ（ヨークシャ）を用い、耳動脈から動脈ラインを測定し同部位より血液サンプルを採取した。直腸温を測定し、全身麻酔下に胸骨正中切開を行い下行大動脈露出した。腹部小切開を加え小腸を愛護的に露出した。腹腔動脈分岐部直上にて下行大動脈を遮断し腸管虚血モデルを作成した。15 分虚血(short-interval)n=3、30 分虚血(middle-interval)n=3、60 分虚血(long-interval)n=3 の 3 群を実施した。手術開始時コントロールとして(T1)、下行大動脈遮断解除し腸管再灌流 15 分後(T2)、30 分後(T3)、45 分後(T4)、及び 60 分後(T5)で動脈血を採取した。動脈血 pH、Base excess、乳酸値を血液ガス測定装置で測定し、I-FABP 値を ELISA 法にて測定した。また、小腸腸管組織の一部を同時間帯で採取し、Hematoxyn-Eosin(HE)染色、I-FABP 染色、細胞の増殖活性の指標として Ki-67 免疫染色および細胞接着因子の E-cadherin 染色を行った。

結果：

Short-interval群のI-FABP値はT3で1859pg/mlとピークを認めた。Middle-interval群のI-FABP値はT5で5053pg/mlとピークを認めた。Long-interval群でI-FABP値は、T3で10734pg/mlと再灌流後より急激に上昇を示しその後血行動態が破綻し死亡した。I-FABP値でmiddle-interval群とlong-interval群の間に有意差を認めた（p=0.01）。

臨床において腸管循環の指標として pH、Base excess、乳酸値が用いられているが、いずれのパラメーターにおいても 3 群とも T2 をピークとした変化を認めた。T1 における動脈血 pH は 7.4、T2 において short-interval 群 7.3、middle-interval 群 7.12、long-interval 群 7.05 と低下した。T1 における Base excess は 3.12、T2 において short-interval 群-0.4、middle-interval 群-7.2、long-interval 群-12.7、T1 における乳酸値は 16mg/dl、T2 において short-interval 群 46mg/dl、middle-interval 群 85mg/dl、long-interval 群 122mg/dl と変化したが BE（p=0.007）以外有意差は認めなかった。

T3においてlong-interval群の1頭が再灌流後から血行動態を維持できず死亡した。

病理組織学的検討では、HE 染色において short-interval 群では軽度の炎症性変化に留まった。middle-interval 群では T4 で炎症は強く粘膜上皮の部分的脱落を認めたが、T5 では上皮細胞の再生を認めた。一方、long-interval 群における組織傷害は高度であり腸管壊死を認めた。I-FABP 免疫染色強度は血中 I-FABP 値に比例し染色された。

また、Ki-67免疫染色では、short-interval群では、細胞増殖活性に変化を認めなかった。しかし、middle-interval群ではT3からT4にかけて増殖活性を認めたが、T5の時点ではshort-interval群と同様に増殖活性は認めなかった。

E-cadherin染色はKi-67同様short-interval群では経過中の変化は軽微であったが、middle-interval群ではT2で発現亢進、T3で一過性に発現低下を認めるもT4で再度発現亢進を認め、T5でほぼ正常の発現に復した。

考察：

腸管虚血の安全限界時間は明確ではない。従来から用いられている動脈血pH、Base excess、乳酸値は様々な要因で変動するため腸管障害の特異的指標ではない。本研究により病理組織学的に粘膜障害の程度に応じ血中I-FABP値は増加し、血中I-FABP値が腸管循環障害の指標となることが示唆された。

結語：

I-FABP 値は病理組織学的腸管粘膜上皮障害の程度に相関した。常温状態で 30 分間の腸管虚血による I-FABP 値 5000pg/dl 付近をピークとする腸管障害では腸管粘膜上皮の一時的な部分的脱落を認めるが可逆的な状態であることが病理組織学的検討で判明した。I-FABP 値は腸管虚血・再灌流時の腸管障害の指標となることが示唆された。

以上、本研究は、腸管虚血モデルを作成し、血漿 I-FABP 値が病理組織学的腸管粘膜上皮障害の程度に相関することを明らかにしており、腸管粘膜上皮の可逆的な状態をも示唆する指標になるという重要な知見を得たものと認める。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。