



Effect of local application of transcutaneous carbon dioxide on survival of random pattern skin flaps

Saito, Izumi

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2018-09-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7290号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007290>

※ 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

Effect of local application of transcutaneous carbon dioxide on survival of random pattern skin flaps

局所的炭酸ガス投与による皮弁壊死抑制効果

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

口腔外科学

(指導教員: 古森 孝英教授)

齊藤 泉

【緒言】

皮弁再建術は皮膚や軟組織欠損に対して広く使用されており、十分な血流供給の欠如によって生じる皮弁壊死は重大な術後合併症の一つである。皮弁壊死は再手術や入院期間の延長、治療費の増大を要する可能性がある。皮弁壊死は多くの研究者が効果的な薬物を開発しているが、いまだに議論の余地がある問題である。薬物動態は複雑であり、満足した結果を得るために高容量の薬物を使用すると、多くの副作用を引き起こす可能性がある。したがって、皮弁壊死の発症は外科的に非常に重要な問題であり、副作用なく皮弁生着範囲を増大させるための新たな方法を見つけることは重要である。古くからヨーロッパでは炭酸泉の効果が知られており、炭酸ガス療法は心臓病や皮膚疾患に有効な治療法と考えられている。これらの療法は、局所の酸素分圧を増加させることで、血流を増加させ、血管新生の促進が生じると考えられている。われわれは以前に、局所的炭酸ガス投与が骨折治癒における低酸素状態を改善することを確認し、血管新生、血流の促進に関連して骨折治癒が促進することを確認した。したがって、この度局所的炭酸ガス投与による低酸素状態の改善は、皮弁の血流を改善し、血管新生を促進すると考え、局所的炭酸ガス投与による皮弁壊死抑制効果について検討を行った。

【材料と方法】

6週齢雄のSDラットをコントロール群(6匹)とCO₂群(6匹)に分け、各ラット背部にMacFarlene法に準じた8×3cmの皮弁術を鎮静下で施行した。CO₂群は皮弁作成後より毎日、20分間、計5日間経皮的に炭酸ガス投与を行った。コントロール群も同様に行なうが、CO₂ガスを空気で置き換えて行った。皮弁作成後1, 3, 5日目の皮弁生着範囲を測定し、レーザードップラー血流計を用いて炭酸ガス投与前後の血流変化を確認した。実験終了後に生着した皮弁組織から標本を採取し、Real-time PCR法で血管新生因子(VEGF)および線維芽細胞増殖因子(bFGF)、低酸素誘導因子(HIF-1α)を評価し、免疫染色法を用いて VEGF、HIF-1α評価した。

【結果】

ドップラー血流計で局所的炭酸ガス投与後、投与前と比較し投与後の血流の上昇を認めた。また、皮弁作成後3日目と5日目では有意に皮弁生着範囲が増大した。

Real-time PCR法では線維芽細胞増殖因子であるbFGFおよび血管新生促進因子であるVEGFはCO₂群で有意に増加していた。一方で低酸素誘導因子であるHIF-1αは有意に減少していた。免疫染色法ではコントロール群と比較して、CO₂群の血管分布が増大したことを確認した。また、VEGF陽性細胞やisolectinB4陽性細胞の増加認めるとともに、HIF-1α陽性細胞の減少を認めた。

【討論】

皮弁による再建術は形成外科医において有用な手段であり、皮弁壊死をできる限り回避できるよう尽力している。血流は皮弁の大きさを決定する上でもっとも重要な問題であり、血管新生とともに皮弁生着範囲におけるもっとも重要な因子であると考えられる。

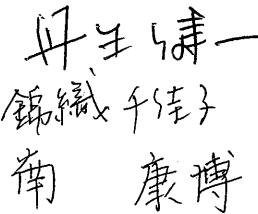
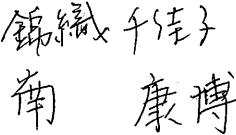
今回の研究で、われわれは局所的炭酸ガス投与による皮弁生着部の血管新生と VEGF の増加、ドップラー血流計を用いて投与前後の血流増加を確認した。炭酸ガス療法の治療効果は、血流や微小循環の増加、毛細血管の新規形成、さらに局所における酸素分圧の上昇(Bohr 効果)によってもたらされている。Bohr 効果は血中炭酸ガス濃度の上昇や pH の減少によりヘモグロビン酸素解離曲線の右方移動を示しており、我々はこれまでに局所的炭酸ガス装置を開発し、ラットやヒトの下肢へ経皮的炭酸ガス投与を行い、ラット筋組織でのミトコンドリア数の増加や、ヒトで「人工的な Bohr 効果」が生じることを報告している。今回の研究でも、局所的炭酸ガス投与による Bohr 効果が生じ、血管新生、血流増加、および組織内の酸素分圧上昇によって、皮弁壊死抑制効果を認めたことがわかった。また CO₂群では HIF-1 α が有意に減少していた。HIF-1 α は血管新生を促進する転写カスケードでの低酸素環境において重要な因子である。したがって、局所的炭酸ガスによる低酸素環境の改善は血管新生促進に関与することが示唆された。

多くの研究者が皮弁の血管新生および血流改善のためにさまざまな薬剤を用いて報告しているが、われわれの研究と比較し侵襲的であり、副作用を伴うものであると思われる。過去のわれわれの報告ではラット骨折モデル、筋損傷モデルを用いて、遅発型副作用が生じないことを確認し、現在ヒトにも安全に局所的炭酸ガス投与を行っている。

しかしながら、今回の研究ではラットを使用しており、ヒトとラットでは皮弁の大きさが異なっている点で直接的な比較は難しい。適正回数や適正量を決定するには、今後追加の研究が必要である。また、頭頸部領域での炭酸ガスの応用は困難であることより、この度炭酸ガスを用いない製剤を開発中であり、適応範囲の拡大を目指している。

【結論】

今回の研究で、局所的炭酸ガス投与は副作用なく、皮弁の血流を改善し、血管新生を促進することが明らかになり、皮弁壊死の抑制効果が示唆された。この研究が今後、治療やガイドラインの発展、さらに患者の利益に寄与することを願っている。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2812号	氏名	齊藤 泉
論文題目 Title of Dissertation	Effect of local application of transcutaneous carbon dioxide on survival of random pattern skin flaps 局所的炭酸ガス投与による皮弁壊死抑制効果		
審査委員 Examiner	主査 Chief Examiner  副査 Vice-examiner  副査 Vice-examiner 		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

【背景と目的】

皮弁再建術は皮膚や軟組織欠損に対して広く使用されており、十分な血流供給の欠如によって生じる皮弁壊死は重大な術後合併症の一つである。皮弁壊死は多くの研究者が効果的な薬物を開発しているが、いまだに議論の余地がある問題である。皮弁壊死の発症は外科的に非常に重要な問題であり、副作用なく皮弁生着範囲を増大させるための新たな方法を見つけることは重要である。以前に申請者らは、局所的炭酸ガス投与が骨折治癒における低酸素状態を改善することを確認し、血管新生、血流の促進に関連して骨折治癒が促進することを確認した。本研究では、局所的炭酸ガス投与による低酸素状態の改善が、皮弁の血流を改善し血管新生を促進すると考え、局所的炭酸ガス投与による皮弁壊死抑制効果について検討を行った。

【研究方法】

研究方法としては、6週齢雄のSDラットをコントロール群(6匹)とCO₂群(6匹)に分け、各ラット背部にMacFarlene法に準じた8×3cmの皮弁術を施行した。CO₂群は皮弁作成後より毎日、20分間、計5日間経皮的に炭酸ガス投与を行った。皮弁作成後1, 3, 5日目の皮弁生着範囲を測定し、レーザードップラー血流計を用いて炭酸ガス投与前後の血流変化を確認した。実験終了後に生着した皮弁組織から標本を採取し、Real-time PCR法で血管新生因子(VEGF)および線維芽細胞増殖因子(bFGF)、低酸素誘導因子(HIF-1 α)を評価し、免疫染色法を用いて VEGF、HIF-1 α 評価した。

【結果】

ドップラー血流計で局所的炭酸ガス投与後、投与前と比較し投与後の血流の上昇を認めた。また、皮弁作成後3日目と5日目では有意に皮弁生着範囲が増大した。Real-time PCR法ではbFGFおよびVEGFはCO₂群で有意に増加していた。一方でHIF-1 α は有意に減少していた。免疫染色法ではコントロール群と比較して、CO₂群の血管分布が増大したことを確認した。また、VEGF陽性細胞やisolectinB4陽性細胞の増加認めるとともに、HIF-1 α 陽性細胞の減少を認めた。

【考察】

皮弁による再建術は形成外科において有用な手段であり、皮弁壊死をできる限り回避できるよう尽力している。血流は皮弁の大きさを決定する上でもっとも重要な問題であり、血

管新生とともに皮弁生着範囲におけるもっとも重要な因子であると考えられる。

今回の研究で、局所的炭酸ガス投与による皮弁生着部の血管新生と VEGF の増加、ドップラー血流計を用いて投与前後の血流増加を確認した。炭酸ガス療法の治療効果は、血流や微小循環の増加、毛細血管の新規形成、さらに局所における酸素分圧の上昇(Bohr 効果)によってもたらされている。Bohr 効果は血中炭酸ガス濃度の上昇や pH の減少によりヘモグロビン酸素解離曲線の右方移動を示しており、これまでに局所的炭酸ガス装置を開発し、ラットやヒトの下肢へ経皮的炭酸ガス投与を行い、ラット筋組織でのミトコンドリア数の増加や、ヒトで「人工的な Bohr 効果」が生じることを報告している。今回の研究でも、局所的炭酸ガス投与による Bohr 効果が生じ、血管新生、血流増加、および組織内の酸素分圧上昇によって、皮弁壊死抑制効果を認めた。多くの研究者が皮弁の血管新生および血流改善のためにさまざまな薬剤を用いて報告しているが、申請者らの研究と比較し侵襲的であり、副作用を伴うものであると思われる。

今回の研究ではラットを使用しており、ヒトとラットでは皮弁の大きさが異なる点で直接的な比較は難しい。適正回数や適正量を決定するには、今後追加の研究が必要である。また、頭頸部領域での炭酸ガスの応用は困難であることより、炭酸ガスを用いない製剤を開発中であり、適応範囲の拡大を目指している。

【結論】

本研究は、皮弁再建術の重大な合併症である皮弁壊死について、局所的炭酸ガス投与による壊死抑制効果を研究したものであるが、従来ほとんど知られていなかった皮弁の血流改善や血管新生の促進について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。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。