

Fluorescein-Na を用いた虚血腸管の生存性の 判定に関する実験的研究 — 蛍光強度測定器を用いた客観的な判定について —

東京大学第1外科 (指導: 森岡恭彦教授)

佐々木勝海

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE EVALUATION OF THE VIABILITY OF THE ISCHEMIC BOWEL USING FLUORESCIN-NA AND FLUOROMETER

Katsumi SASAKI

1st Department of Surgery, Tokyo University

(Director: Professor Yasuhiko Morioka)

Thiry-Vella loop型の低血流量虚血腸管モデルを作製し、Fluorescein-Na 10mg/kg 静注後の腸管壁の蛍光発光形態の観察と蛍光強度測定器を用いた蛍光強度の測定により、虚血腸管の生存性および吻合の安全性を検討した。腸管壁蛍光発光形態は蛍光の強さによりI型・II型a・II型b・III型と分類された。蛍光強度は血流量と対応する傾向がみられ、正常腸管壁蛍光強度との比である Fluorescent index value (以下 F.I.値と略す) はそれぞれ 0.88 ± 0.15 , 0.67 ± 0.16 , 0.37 ± 0.12 , 0.11 ± 0.08 を示し、慢性実験および腸管吻合実験にてI型・II型aの部位およびF.I.値0.5以上を示す部位には、生存性と吻合に際しての安全性のあることが判明した。

索引用語: Fluorescein-Na, Fluorescent index value, 虚血腸管, 腸管吻合術

I. はじめに

虚血腸管の生存性の確実な判定は、その治療方針の決定および予後の判定に関連して重要であり、事実現在では腹部大動脈瘤切除後や、腹部大動脈、腸骨動脈領域の閉塞性動脈硬化症のバイパス再建術後に発生する虚血性腸炎^{1)~4)}、絞扼性イレウスや腸管の有茎あるいは遊離移植後に発生する腸管の壊死⁵⁾⁶⁾などの診断に関して必要となることが多い。しかしながら、現在までに施行されてきた多くの虚血腸管の生存性の判定法は、経済性、簡便性、確実性、侵襲性などの点で一長一短があった。近年、Fluorescein-Na 静注後の腸管壁の蛍光発光形態を紫外光線照射下に観察し、その変化により虚血腸管の生存性の判定を試みる報告^{7)~10)}がみられ、その有用性について著者も検討を重ねてき

た¹¹⁾。

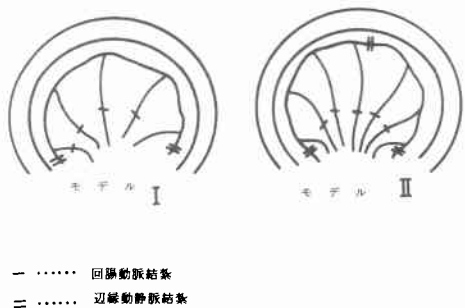
これまで発光する蛍光の強度を測定して、虚血腸管の生存性の判定に客観性と確実性を与えた研究はない。著者は実験的に低血流量虚血腸管モデルを作製し、蛍光強度測定器を用いて、虚血腸管の生存性の判定に関する研究を行った。

II. 対象と方法

24時間絶食(水分のみ可)とした体重10~20kgの雑種成犬を用い、ネブタール麻酔下(0.5ml/kg 静注)に気管内挿管し、従量式レスピレーターを装着し、room air 下に以下の実験モデルを作製し、実験を行った。

実験モデル; 図1左のように回腸末梢側約40cmを使用し、それを栄養する3~4本の回腸動脈および両端の辺縁動脈を結紮した後、1本の回腸動脈のみで栄養される、いわゆる Thiry-Vella loop 型の低血流量虚血腸管を作成した。

図1 虚血腸管モデル (I・II)



一 回腸動脈結紮
 二 辺縁動静脈結紮

実験モデル II；図1右のように回腸末梢側約60cm を使用し、それを栄養する5～6本の回腸動脈を結紮し、辺縁動静脈を口側、肛門側および中央部で結紮して、両端の回腸動脈のみで栄養される Thiry-Vella loop 型の低血流量虚血腸管が並列するモデルを作成した。

1. 腸管壁蛍光発光形態と粘膜側および組織内発光形態との関連の検討

実験モデル I を使用し、虚血腸管作成後、末梢静脈より Fluorescein-Na (小林製薬)10mg/kg を急速静注した後、1分後より BLB 管球 (東芝20～60W) より発せられる近位紫外光線下で、腸管壁蛍光を観察するとともに、Canon AE-1カメラを用いてコダックエクタクロームフィルム ASA400にて写真撮影を施行し、腸管壁の発光形態を観察、記録した。同時に、各型虚血腸管を切除摘出し、粘膜面からの発光形態を同じ手法で観察、記録した。また、摘出腸管を直ちに凍結包埋し、蛍光顕微鏡 (オリンパス落射蛍光顕微鏡装置 BH-RFL-LB) を用いて、組織の発光形態と Fluorescein-Na の組織内分布について観察し、漿膜側から観察される腸管壁蛍光発光形態との関連を検討した。

2. 腸管壁蛍光発光形態と局所腸管血流量との検討

実験モデル I の作製前後に、UH メーター (ユニークメディカル PHG201) を用いて水素ガスクリアランス法にて、約8カ所の粘膜下層局所組織血流量を測定した。続いて Fluorescein-Na 10mg/kg を末梢静脈より急速注入し、紫外光線下で腸管壁発光形態を観察、写真撮影を施行し、発光形態との腸管局所組織血流量との関連を検討した。

3. 腸管壁蛍光発光形態と組織学的変化との検討

実験モデル I を作製し、Fluorescein-Na 10mg/kg を静注後、腸管壁蛍光発光形態により分類された虚血腸管を、48時間後に再開腹して摘出し、各型虚血腸管

の組織学的変化を、肉眼のおよび顕微鏡的に観察、検討した。また、マイクロバリウムを開存回腸動脈から注入して、摘出虚血腸管の血管構築像の変化を検討した。

4. 腸管壁蛍光発光形態と虚血腸管の予後との検討

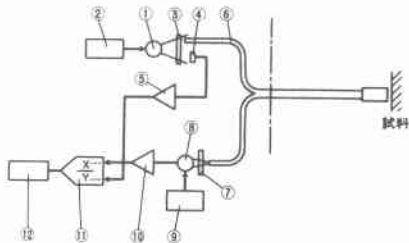
雑種成犬10頭を使用し、実験モデル I を作製した後、Fluorescein-Na 10mg/kg を静注し、虚血腸管の壁発光形態を観察、分類した後閉腹し、1カ月間虚血腸管の予後を観察した。なお、感染予防のため術後 AB-PC lgr の投与を3日間行った。

5. 腸管壁蛍光発光形態と蛍光強度測定器による蛍光強度測定法との関連の検討

腸管壁蛍光強度を測定するために、蛍光強度測定器 (日本分光) を考案作成した。

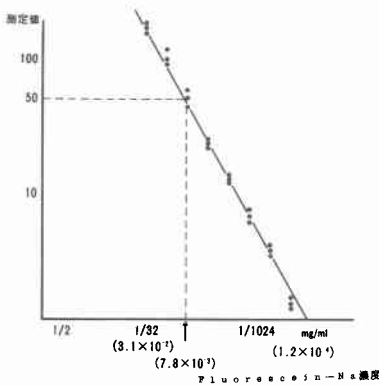
蛍光強度測定器の電気系、化学系のブロックダイアグラムは図2のごとくであり、光源①より照射された紫外光線はフィルター③を通してファイバー⑥と検知器④に入る。フィルター③は、その透過特性のため、水銀ランプのスペクトル線のうち313nmと365nmこみを透過させる。ファイバー⑥に入った光線は試料に照射され、励起光線となる。一方、試料からの蛍光は、ファイバーを通りフィルター⑦より検知器⑧に入る。このフィルター⑦の透過特性は、400nm以下の光線はカットされるようになっているため、励起光による試料からの反射光はカットされる。また、検知器の分光感度波長範囲は約300～650nm (最高感度波長は400nm) であるため、蛍光として検知する波長範囲は

図2 蛍光強度測定器の電気系・光学系ブロックダイアグラム



- ① 光源 Hg ランプ30W
- ② 光源電源
- ③ フィルタ U-340 (Hg スペクトル線 313nm, 365nm を透過)
- ④ 検知器 シリコンフォトセル (光源の変動をモニタ)
- ⑤ アンプ シリコンフォトセル用アンプ
- ⑥ ファイバー
- ⑦ フィルタ L-42 (励起光カット用。400nmより長波長を透過)
- ⑧ 検知器 ホトマルチプライヤ
- ⑨ 検知器電源
- ⑩ アンプ ホトマルチプライヤ用アンプ
- ⑪ 計算器 光源の変動を除去
- ⑫ デジタル表示

図 3 Fluorescein-Na 濃度と蛍光強度測定器の測定値との関連



400~650nm となる。蛍光検知器によって検知された信号は、アンプ⑩で増幅される。一方、励起光をモニターしている検知器④によって検知された信号はアンプ⑤で増幅され、両信号ともそれぞれ割算器⑪の分子と分母に入り、光源のふらつきによるノイズは蛍光信号から消去される。また、既知の Fluorescein Na 濃度の溶液と蛍光強度測定器の示す値との関連は図 3 のごとく半対数グラフ上直線化を示し、 $7.8 \times 10^{-3} \text{mg/ml}$ の濃度で蛍光強度測定器の示す値が約 50 となるように調整した。

実験モデル I を使用し、Fluorescein-Na 10mg/kg を静注する前の腸管壁自然組織蛍光を測定した。すなわち、暗室内で長波長の光線が入らないようにして、腸管壁の自然組織蛍光を数カ所において測定し、補正用を使用した。つづいて Fluorescein-Na 10mg/kg を静注し、静注後 3~5 分間に正常部位と各型虚血腸管壁の蛍光強度を測定し、補正蛍光強度を算出し、正常腸管壁補正蛍光強度と虚血腸管壁補正蛍光強度から Fluorescent Index Value (以下 F.I. 値と略す) を求め、肉眼的発光形態分類との関連を検討した。

Fluorescent Index Value

$$= \frac{\text{虚血腸管壁補正蛍光強度 (I)}}{\text{正常腸管壁補正蛍光強度 (N)}}$$

I = 虚血腸管壁蛍光強度 - 腸管壁自然蛍光強度

N = 正常腸管壁蛍光強度 - 腸管壁自然蛍光強度

6. F.I. 値からみた虚血腸管の生存性の判定に関する検討。

実験モデル I と II を使用し、異なる F.I. 値を持つ腸管を、3-0 Vicryl 糸を用いて Olsen 変法(連続一層内翻吻合法)にて吻合し、吻合部の変化を肉眼的、組

織学的に 1 カ月後まで観察、検討した。

III. 結 果

1. 腸管壁蛍光発光形態と粘膜側および組織内発光形態との関連

Fluorescein-Na 10mg/kg の静注後、約 10 秒後より腸間膜血管および正常腸管壁の蛍光発光が始まり、次第に虚血腸管へ蛍光発光が進展した。腸管壁の発光形態から、虚血腸管を次のように分類した(図 4)。

I 型；均一に蛍光を発する部分。

II 型 a；不均一ではあるが蛍光発光部分が 1/2 以上を占める部分。

II 型 b；不均一であり蛍光発光部分が 1/2 以下の部分。

III 型；蛍光発光がみられない部分。

粘膜面からの発光形態は図 5 のごとくであり、不均一で蛍光の強弱のある部分はみられなかったが、II 型 a から II 型 b にかけて蛍光発光部分の面積が減少しており、それは腸管壁蛍光発光形態分類とよく相関していた。また、蛍光顕微鏡写真でみた組織内発光形態は図 6 のごとく Fluorescein-Na の組織内分布に明らかな相違がみられ、I 型では粘膜まで十分に Fluorescein-Na がとり込まれ発光するのに対して、III 型では粘膜下層および筋層の一部の血管にとり込まれて発光しているのみであった。

2. 腸管壁蛍光発光形態と腸管壁局所血流量との関連(表 1)

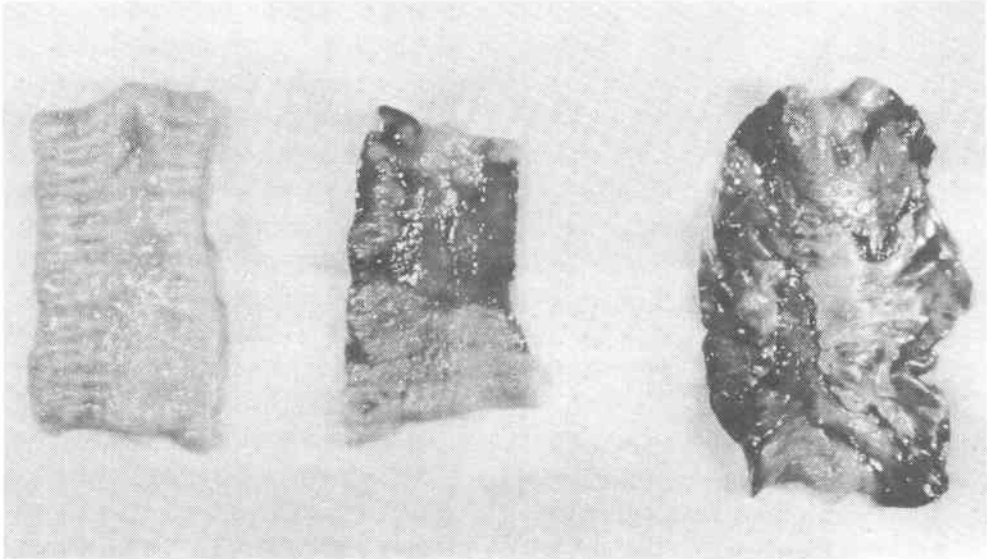
腸管壁蛍光発光形態から分類された虚血腸管各型の局所血流量は、I 型； $0.54 \pm 0.16 \text{ml/min/g}$ 、II 型； $0.27 \pm 0.09 \text{ml/min/g}$ 、II 型； $0.22 \pm 0.07 \text{ml/min/g}$ 、III 型； $0.04 \pm 0.06 \text{ml/min/g}$ であった。また、モデル作製前値からの血流下降率を算出すると、それぞれ I 型； $62 \pm 11\%$ 、II 型； $78 \pm 7\%$ 、II 型； $86 \pm 4\%$ 、III 型； $97 \pm 5\%$ となり、各型虚血腸管の各数値の間で、t 検定にて有意差を認めた ($p < 0.01$)。

3. 腸管壁蛍光発光形態と組織学的変化との関連

表 1 モデル作製前後における各型虚血腸管の局所腸管血流量と血流下降率 (Mean ± SD)

	PRE-ISCHEMIC INSULT ml/min/100g	POST-ISCHEMIC INSULT ml/min/100g	DECLINING RATE %
I (45)	3.49 ± 2.1	3.4 ± 1.4	4.2 ± 1.1
IIa (21)	3.34 ± 2.2	2.7 ± 0	7.8 ± 7
IIb (8)	1.60 ± 2.4	2.2 ± 7	8.6 ± 4
III (30)	3.42 ± 2.6	4 ± 8	8.7 ± 3

図7 48時間後の虚血腸管の肉眼的変化
(左側よりI型, II型a, b, III型)



48時間後の各型虚血腸管の変化を図7に示した。I型部位においては軽度の浮腫を認めたのみであった。II型部位では腸間膜附着部対側を中心に、出血、びらん、潰瘍などを認め、II型a部位からII型b部位にかけて虚血深度に応じた変化が認められた。III型部位では、腸管壁の菲薄化・出血・潰瘍・壊死・穿孔などの所見がみられた。

光学顕微鏡による組織学的変化を図8に示した。I型部位では軽度の粘膜びらんや細胞浸潤を部分的に認めた。II型a部位ではI型部位でみられた変化が広範となり、多核白血球浸潤も中等度に認められた。II型b部位では、粘膜の脱落壊死、毛細管レベルでのうっ血、多核白血球の浸潤が高度となり、その変化は固有筋層にまで及んでいた。III型部位では、粘膜、固有筋層ともに壊死におちいていた。

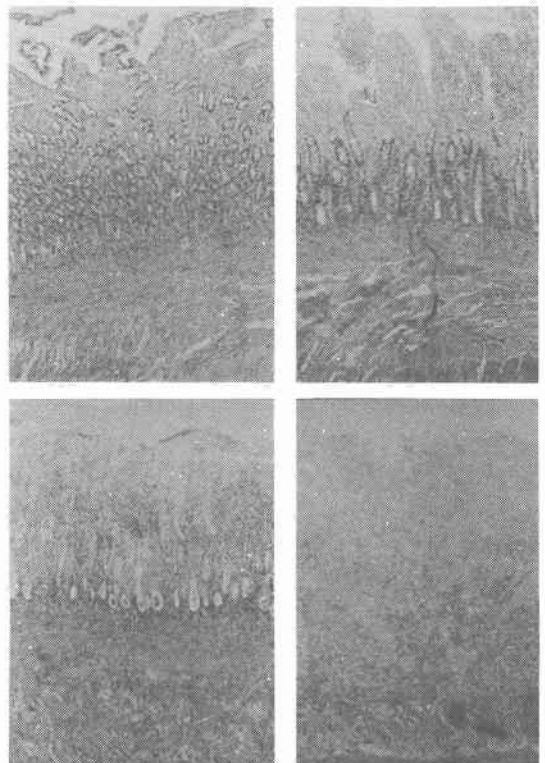
開存回腸動脈よりマイクロバリウムを注入した摘出腸管の血管造影像では、I型領域においては腸管壁の動静脈は良好に造影されているが、II型a領域よりII型b領域に移行するにつれ、壁動静脈の不整、閉塞の程度が進行し、III型領域では、回腸動脈は造影されず、壁動静脈の変化も高度であった。

4. 腸管壁蛍光発光形態と虚血腸管の予後との関連

腸管壁蛍光発光形態から分類されたI型, II型, III型腸管を有するGroup A(4頭)と、I型, II型(a, b)腸管を有するGroup B(6頭)の予後を1カ月間観

図8 48時間後の虚血腸管の組織学的変化 HE染色×40

(上段左側よりI型, II型a, 下段左側よりII型b, III型)



第17卷第8号 佐々木勝海論文(1557頁)中の図5, 6に印刷ミスがありましたので下記に訂正します.

図4 蛍光発光形態による虚血腸管分類 (左側より I型 II型a II型b III型)

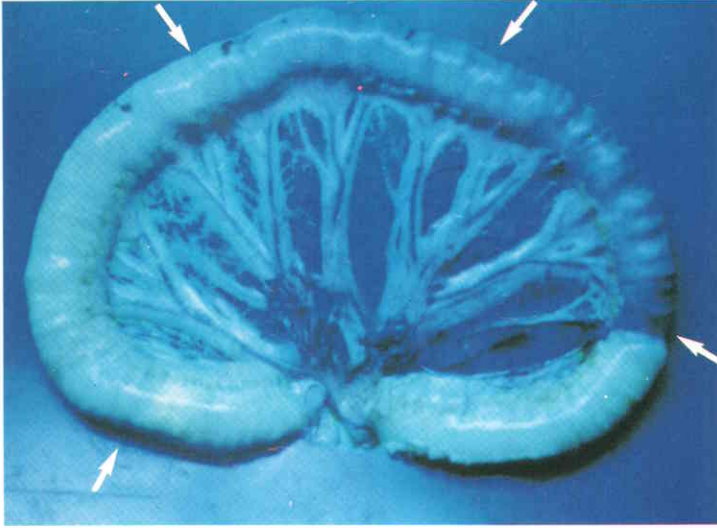


図5 粘膜側よりみた虚血腸管の蛍光発光形態 (左側より I型 II型(a, b) III型)

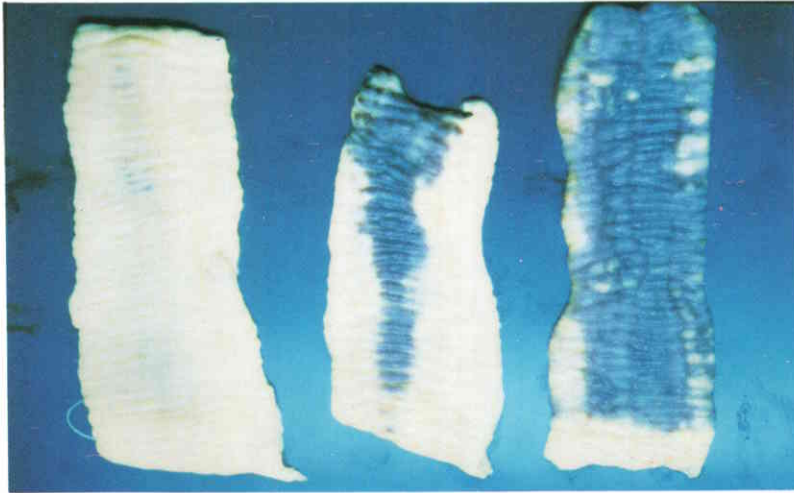


図6 各型虚血腸管の蛍光顕微鏡写真 (左側より I型 II型 III型)×80



察した。Group A では、全例 4 日までに死亡した。Group B では、2 頭が 7 日目と 10 日目に死亡した。死因は、Group A では III 型部位の壊死穿孔による腹膜炎、Group B では II 型 b 部位の壊死穿孔による腹膜炎であった。

5. 腸管壁蛍光発光形態と蛍光強度測定器による測定値および F.I. 値との関連

蛍光強度測定器による各型虚血腸管壁の蛍光強度は、補正值にて I 型； 81.6 ± 26.2 、II 型 a； 54.2 ± 13.8 、II 型 b； 30.0 ± 10.1 、III 型； 9.0 ± 6.0 であり、腸管壁局所血流量とよく対応する傾向がみられた。また、F.I. 値はそれぞれ、I 型； 0.88 ± 0.15 、II 型 a； 0.67 ± 0.16 、II 型 b； 0.37 ± 0.12 、III 型； 0.11 ± 0.08 であり、各数値の間で有意差がみられた ($p < 0.01$) (表 2)。

6. F.I. 値と虚血腸管の生存性との関連。

F.I. 値を基準にした吻合実験の結果を図 9 に示した。これを次の 5 群に分類して検討を加えた。

A 群；正常腸管と 0.5 以上の F.I. 値を持つ腸管間の吻合

4 例全例良好な治癒過程を示し、吻合部の肉眼的所見では潰瘍性変化を認めず、吻合部は良好に治癒し、線維化による狭窄も認められなかった。顕微鏡所見では、粘膜の連続性が保たれ、粘膜下層以下も良好な線維組織で修復され、炎症性細胞浸潤は認められなかった。

B 群；正常腸管と 0.5 から 0.3 の F.I. 値を持つ腸管間の吻合

術後死亡例はなかったが、一過性の水様性下痢や下血を認めた。吻合部肉眼所見では F.I. 値 0.5 から 0.3 を持つ腸管側の腸間膜付着部対側に、潰瘍が 4 例中 3 例 (75%) に認められた。顕微鏡所見では、粘膜層の欠損がみられ、固有筋層には炎症性細胞浸潤が認められた。

C 群；0.5 以上の F.I. 値を持つ腸管間の吻合

吻合部の肉眼所見では、3 例中 1 例 (33%) に腸間膜付着部対側に潰瘍が認められたが、他の 2 例は良好に治癒していた。顕微鏡所見では、潰瘍のない例では粘膜の連続性も比較的良好に保たれ、粘膜下層以下の炎症性細胞浸潤も軽度で、固有筋層の線維化も良好であった。

D 群；0.5 以上の F.I. 値を持つ腸管と 0.5 から 0.3 の F.I. 値を持つ腸管間の吻合

4 例全例に吻合部に潰瘍が存在し、吻合部縫合不全による死亡例を 4 例中 1 例 (25%) に認めた。顕微鏡所見では、粘膜および粘膜下層は壊死におちいり、固有筋層以下の組織および線維化された肉芽にも炎症性細胞浸潤が高度にあった。

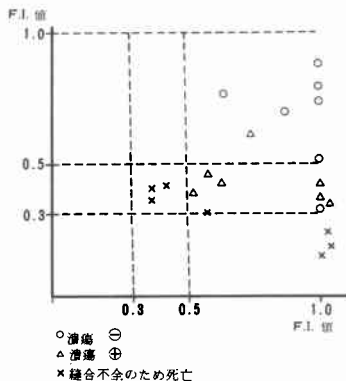
E 群；0.5 から 0.3 の F.I. 値を持つ腸管間の吻合

3 例全例 4 日以内に死亡した。吻合部肉眼所見は腸管の全層壊死であり、吻合部は完全に離開していた。顕微鏡所見でも同様に全層壊死の所見であり、組織の同定が困難であった。

表 2 各型虚血腸管の蛍光強度と F.I. 値 (Mean \pm SD)

	I (21)	IIa (20)	IIb (25)	III (16)
INTENSITY OF FLUORESCENCE	81.6 ± 26.2	54.2 ± 13.8	30.0 ± 10.1	9.0 ± 6.0
FLUORESCENT INDEX VALUE (F.I. value)	0.88 ± 0.15	0.67 ± 0.16	0.37 ± 0.12	0.11 ± 0.08

図 9 異なる F.I. 値を持つ腸管間吻合実験の結果



IV. 考 察

虚血性の腸疾患に関しては、1921年 Klein ら²⁾により消化管の慢性虚血が報告されて以来、数多くの報告¹⁾⁻⁴⁾がみられる。しかしながら虚血の証明や虚血腸管の生存性の判定は困難なことが多い。特に動脈造影では明らかな血管閉塞のない、いわゆる non-occlusive type の虚血性腸疾患症例の多いことが認識され、低血流状態における腸管の生存性の判定が重要と考えられつつある³⁾。

腸管の組織血流状態は腸管の生存性を決定する重要な因子であるが、それを客観的に術中に判定する方法についての報告は少ない。最近、水素ガスクリアランス法による局所血流量の測定¹²⁾、超音波ドプラー法による血流の判定¹³⁾、サーモグラフィーによる腸管壁温度変化の画像化¹⁴⁾、Fluorescein-Na 静注による腸管壁蛍光形態からの血流状態の判定⁷⁾⁻¹⁰⁾などの方法が試みられている。しかしながら臨床的には、水素ガスクリアランス法には測定手技が繁雑であり、測定に時

間を要すること、超音波ドップラー法は定量的に血流量を測定しえず、静脈閉塞モデルにおいては組織の生存性の判定が不正確であること、サーモグラフィーによる画像診断は装置が大きく一定の測定条件を必要とすること、などの欠点があり、現状においては、Fluorescein-Na 静注による腸管壁蛍光観察法が、虚血の判定および虚血腸管の生存性の判定に最もすぐれているという報告が多い^{8)~10)}。

Fluorescein-Na は分子量約376を持つ低分子の水溶性物質であり、静注後直ちに血液中に高濃度で出現し、容易に血管外へ漏出し、再び生細胞より流血中に取り込まれ、腎および肝にて尿中、胆汁中に24~72時間で排出される。すなわち、Fluorescein-Na 静注後の組織内の Fluorescein-Na 濃度は、その組織への血流量と血管壁透過性により規定されると考えられるが、Fluorescein-Na は分子量376と小さく、また、albumin と結合していない free fraction の部分は約15~20%とも言われ、容易に血管外へ漏出する¹⁵⁾。また、albumin と結合している fraction もその結合力は弱くすぐ解離するといわれており、したがって組織内 Fluorescein-Na 濃度は主にその組織への血流量を強く反映しているものと考えられる。Aplebaum¹⁶⁾によると、Fluorescein-Na 40mg/kg 静注においてその血中濃度は15秒後から上昇し、 1.34×10^{-2} mg/ml の最高濃度を示した後、7.5分間急速に下降し、ついでゆっくり消失していく傾向にあり、その半減時間は平均35分であったと報告されている。これは流血中の Fluorescein-Na が急速に組織内へ漏出した後、再度流血中よりゆっくり clearance されることを示している。また、Fluorescein-Na の特徴は蛍光作用にあり、約360nm を中心とした紫外光線の照射により、520nm 前後の黄緑色の蛍光を発生する。この蛍光の観察・測定により種々の臓器の血流状態が判定可能となるが、赤色筋肉、出血した腸管、色素に強く染まった皮膚に対しては、蛍光の肉眼的判定が困難であるとされている。

Fluorescein-Na の応用は、1882年に Ehrlich らがうさぎの前房水の研究に使用したのが最初とされているが、その臨床的応用は Lange ら¹⁷⁾により一般化され、循環時間の測定、移植皮膚の生着性や絞扼性腸管の生存性の判定、末梢血流状態の判定などが報告されている。しかしながらこれらはすべて蛍光の肉眼的観察法であり、客観性に乏しい。

蛍光強度の定量化は、1943年 Lange¹⁸⁾らにより始められ Dermofluorometer を作製し循環時間をより正確

に計測したり、background fluorescence を除いた値を算出して、下肢の血流状態の判定に応用している。最近 Silverman ら¹⁹⁾は Fiberoptic Dermofluorometer を作製し、皮膚蛍光強度を数値化し、正常部位と虚血部位との比を算出する方法や、蛍光強度の時間的変化などから実験的移植皮膚の生着性を判定し、良好な結果を得ている。日本でも、三輪らにより1964年に蛍光内視鏡の試みが報告され、荒川ら²⁰⁾は難治性胃潰瘍を内視鏡的に蛍光観察し、内視鏡フィルムから蛍光強度を測定している。著者らの考案作成した方法は、Silverman らと同様に直接的な蛍光強度測定法であり、組織の微小循環の状態を客観的に認識する有効な手段と考えられる。

一方、紫外光線 (Ultra violet radiation) はその波長により UVA (波長400~315nm)、UVB (波長315~280nm)、UVC (波長260~100nm) に分類され、それぞれのエネルギーにより作用は異なっている²¹⁾。著者らの使用する紫外線源は、肉眼的観察法ではブラックライト蛍光ランプ (BLB 管球)、蛍光強度測定法では水銀ランプであり、前者は1903年 Robert Wood により初めて用いられたことにちなんで Wood' lamp とも呼ばれ、320~380nm の波長、特に360nm の波長を中心とする近紫外光線を照射するランプである。また後者は、フィルターにより遠紫外光線はカットされ近紫外光線のみを通過させるようになっており、皮膚、腸管、眼に対する有害な作用は少ない。また、Daniels²²⁾らは皮膚への透過性を検討し、300nm の波長の紫外光線では2.0mm の深さに達するのは0%、400nm の波長の紫外光線では1%のみであると述べており、著者らの方法により腸管壁の蛍光発生源は、表面より2.0nm 程度の深さの組織と考えられる。腸管壁の厚さは約4~5mm であり、したがって粘膜下層より漿膜側の組織が蛍光発生源と考えられる。しかしながら虚血性変化が粘膜層にとどまるものでは腸管の壊死穿孔に進展することはない、Robinson²³⁾らも報告しているよう、一時間の虚血で絨毛の剝離・浮腫・うっ血・細胞浸潤などが認められるが、翌日にはほとんど粘膜 Villi は回復し、2時間の虚血でも、7日以内には完全に回復するとされている。したがって虚血性腸管の生存性の判定に関しては、粘膜下層より漿膜側の組織の血流状態の判定が最も重要と考えられる。

Fluorescein-Na による虚血性腸管の生存性の判定は、1942年 Lange¹⁷⁾らにより始められた。彼らは絞扼性イレウスモデルを作り、絞扼時間の長さにより絞扼

腸管の生存性に相違がみられ、これは Fluorescein-Na 静注による腸管壁の蛍光発光形態と関連を有し、均一に蛍光を発する部分には生存性が存在したと報告している。また、同年に Herrlin²⁴⁾らにより臨床応用がなされ、同様な結果を報告されている。しかしながら、不均一に蛍光を発する部分に対する解析はなされず、原因として血管の挛縮や血栓の存在が推測されているが、その部分の生存性に関しては詳しく言及されていない。最近、Stolar²⁵⁾らは同様の絞扼モデルを作り、動静脈クランプを4~12時間後に解除し Fluorescein-Na を静注後腸管壁発光形態により虚血腸管を分類して、その生存性を検討している。それによると、均一に蛍光を発した部分 (Type I) は全例生存性があり、不均一な蛍光発光形態を示した部分 (Type II) をさらに24時間後に再開腹して分類し、蛍光が残存している部分を Type III と定義し、Type II は15例中10例が生存したが、Type III は8例全例死亡したと報告している。これは Fluorescein-Na が生細胞と血流により wash out されるという事実を示しており、蛍光が残存している部分は完全に生存性がないと判定されること、不均一に発光する部分に対する術中肉眼的判定法には限界があることを示している。Bulkley⁹⁾らは同様のモデルを用いて虚血腸管の蛍光発光形態をより細かく6型に分類し、Hyperemic, Normal, Fine granular の pattern を示す3型は生存性があるが、Patchy (non-fluorescence area \geq 5), Perivascular, non-fluorescent の pattern を示す3型には生存性がないと判定し、動脈拍動、腸管色調、腸蠕動運動を根拠とする臨床的判定法や、Doppler 法と比較して有意にすぐれていたと報告している。

このような蛍光発光形態は、基本的には腸管壁の血管構築像の変化を反映しており、細動静脈および毛細血管レベルでの動静脈の閉塞、挛縮・シャントの程度により異なる。Gorey⁸⁾はシリコンラバーを血管より注入し、腸管壁の血管構築像を検討しており、それによると腸管壁ではまず辺縁動静脈より腸管壁の表面を動静脈が一对になって走行し、それが腸間膜付着部対側で吻合しており、さらにその動静脈間をより小さな血管が連絡し、その連絡血管の間に小血管網がみられるとされ、それらの血管系の造影上の豊富さにより動静脈の filling score を算定し、1時間から14時間までの絞扼実験により filling score は、1.0から0.3に低下したと述べている。著者の実験でも、マイクロバルウム注入にて、II型部位よりIII型部位にかけて腸管壁

を走る血管系の閉塞や減少がみられ、血流はそれによりさらに低下するものと考えられた。以上のように、腸管の生存には動脈および静脈の開存が必要であり、その開存の程度、すなわち、inflow の低下と outflow の障害の程度により、腸管壁蛍光発光形態は種々の変化をきたすものと考えられる。絞扼実験モデルには、outflow の障害の程度の問題が大いに含まれており、絞扼解除後の静脈閉塞の程度と経過により、判定時の発光形態が強く変わる可能性が示唆され、Doppler 法などと同様に静脈閉塞モデルにおいては、静脈閉塞の早期における腸管の生存性の判定は確実性の点で疑問が残る。著者の実験モデルは静脈を結紮しない outflow の障害の少ない低血流量虚血腸管モデルであり、inflow の低下による血流量の変化、とくに血流量下降率と、腸管壁蛍光発光形態、蛍光強度、とくに F.I. 値および組織の変化などを対比させたという点が特徴であり、形態分類もより簡明となっており、相互の関係がより明瞭となっている。

腸管吻合部の治癒過程に関する報告は数多くみられるが、虚血腸管の切除範囲や、虚血腸管吻合部の治癒過程に関する報告は少ない。丸山²⁵⁾、北島²⁶⁾によると、血行の良好な場合には吻合部は一期的治癒が期待でき、約4~5日で粘膜下層および筋層において毛細血管の再生が起り、約14日で粘膜の再生が完了し、全層治癒には約30日かかる報告されている。しかしながら虚血の際最も影響を受けるのは粘膜および粘膜下層であり、したがって八坂²⁷⁾、松本²⁸⁾らの述べているように、漿膜、筋層での血流状態のいかに虚血時における吻合の安全性を規定しており、ゆえに、腸管壁蛍光観察法および蛍光強度測定法が虚血性腸管の生存性の判定には、理論的にも正しいことが証明される。著者は血中の Fluorescein-Na 濃度も考慮して蛍光強度測定器の調整を行い、F.I. 値を算出して虚血腸管の切除範囲の決定および吻合部の生存性を検討したのであるが、F.I. 値が0.5以上ある部分は、吻合に使用しても重大な変化は起こさないことが判明した。事実、F.I. 値が0.5以上の部分で腸管切除術が施行された際、切除腸管断端部の粘膜の変化は、腸間膜付着部対側に軽度存在するのみで、F.I. 値が低下するにつれ断端部の変化は、びらん、浮腫、出血が高度となっていた。これは粘膜および粘膜下層の血流の低下の程度を表わしており、吻合部治癒機転に及ぼす血流の影響が重大と考えられた。

Fluorescein-Na による副作用は3~17%と報告さ

れている。岡²⁹⁾らは2,567例の蛍光眼底検査施行例中218例、85%に副作用が認められ、嘔気、嘔吐、蕁麻疹などの軽症例が大部分ではあるが、中に14例(0.5%)のショック例があり、5例に救急処置を要したと報告している。しかしながら、アナフィラキシーと考えられる例は少なく、このような副作用は術前の患者の状態、すなわち、高齢、糖尿病、高血圧、アレルギー疾患、心疾患、空腹、脱水状態などを有する者に多く発生し、血管運動神経の関与が考えられ、事実、十分な呼吸、循環の管理がなされている手術中には、副作用の報告はみられない³⁰⁾。

V. 結 語

1. Thiry-Vella loop型低血流量虚血腸管モデルにおいて、Fluorescein-Na 10mg/kg 静注により虚血腸管はI型、II型、III型に分類され、II型はさらに発光程度によりII型a、II型bと分類された。

2. 各型虚血腸管は、水素ガスクリアランス法による局所腸管組織血流量測定にて有意の血流下降率を示し、血流下降率62%以上の部位で虚血性腸炎が発生するものと考えられた。

3. 肉眼的腸管壁蛍光発光形態観察法では、腸管生存性の判定に限界性があるものの、II型aの部位までに生存性があると考えられた。

4. 蛍光強度測定器による蛍光強度測定法では血流量に対応する値が得られ、この方法とくにF.I.値は血流量をよく反映するものと考えられた。

5. 正常腸管壁蛍光強度との比であるF.I.値が種々の値を有する部位にて吻合実験を施行したところ、0.5以上のF.I.値を持つ腸管は生存性が存在し、0.3以下のF.I.値しか持たない腸管には生存性がないことが判明し、F.I.値を判定基準にする方法の正しさが証明された。

本論文の要旨は第20回、第22回日本消化器外科学会お会、第8回微小循環研究会、XVI World Congress of the International Society for Cardiovascular Surgeryにて発表された。

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を賜った恩師森岡恭彦教授に深甚なる謝意を表します。また、直接御指導をいただいた大橋重信博士、重松宏博士および研究室諸兄に感謝致します。

文 献

- 1) Rogers OM, Thompson JE, Garret WV et al: Mesenteric vascular problems. *Ann Surg* 195: 554-565, 1982
- 2) Rob C: Surgical diseases of the celiac and

- mesenteric arteries. *Arch Surg* 93: 21-32, 1966
- 3) Haglund U, Lundgren O: Non-occlusive acute intestinal vascular failure. *Br J Surg* 66: 155-158, 1978
- 4) 重松 宏: 血行再建術後の腸管虚血についての臨床的実験的研究. *日外会誌* 82: 1268-1279, 1981
- 5) Wilkins EW: Long-segment colon substitution for the esophagus. *Ann Surg* 192: 722-725, 1980
- 6) Nakamura, T., Inokuchi K, Sugimachi K et al: Use of revascularized jejunalum as a free graft for cervical esophagus. *J J Surg* 5: 92-102, 1975
- 7) Charls JH, Stolar CJH, Randolph JG: Evaluation of ischemic bowel viability with a fluorescent technique. *J Pediatr Surg* 13: 221-225, 1978
- 8) Gorey TF: The recovery of intestine after ischaemic injury. *Br J Surg* 67: 699-702, 1980
- 9) Bulkley GB, Zuidema GD, Hamilton SR et al: Intraoperative determination of small intestinal viability following ischemic injury. *Ann Surg* 193: 628-637, 1981
- 10) Mann A, Fazio VW, Lucas FV: A comparative study of the use of fluorescein and the doppler device in the determination of intestinal viability. *Surg Gynecol Obstet* 154: 53-55, 1982
- 11) 佐々木勝海, 重松 宏, 森岡恭彦ほか: 蛍光強度測定による客観的な腸管 Viability の判定について. *日消外会誌* 16: 744-000, 1983
- 12) Mishima Y, Shigematsu H, Horie Y et al: Measurement of local blood flow of intestine by hydrogen clearance method: Experimental study. *Jpn J Surg* 9: 63-70, 1979
- 13) Hobson RW, Write CB: Assesment of colonic ischemia during aortic surgery by doppler ultrasound. *J Surg Res* 20: 231-235, 1976
- 14) Moss AA, Kressel HY, Brito A: Use of thermography to predict intestinal viability and survival after ischemic injury: A blind experimental study. *Thermography* 16: 24-29, 1981
- 15) Palestine AG, Brubaker RF: Phalmacokinetics of fluorescein in the vitreous. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 21: 542-549, 1981
- 16) Applebaum EL: Fluorescein kinetics in perilymph and blood blood: A fluorophotometric study. *Laryngoscope* 92: 660-671, 1982
- 17) Lange K, Boyd LJ: The use of fluorescein to determine the adequacy of circulation. *M Clin North America* 26: 943-952, 1942
- 18) Kurt Lange M, Krewer SE: The

- dermofluorometer. *J Lab Clin Med* 28 : 1746—1750, 1943
- 19) Silverman DG, Cedrone FA, Hurford E et al : Monitoring tissue elimination of fluorescein with the perusion fluorometer : A new method to assess capillary blood flow. *Surgery* 90 : 409—417, 1981
- 20) 荒川哲男, 小野時雄, 小林絢三ほか : 上部消化管における Fluorescein 蛍光内視鏡検査—難治性潰瘍の検討—. *Gastroenterol Endosc* 20 : 1124—1129, 1978
- 21) Diffey BL : Ultraviolet radiation physics and the skin. *Phys Med Biol* 25 : 405—426, 1980
- 22) Daniels F : The biologic effects of ultraviolet radiation with emphasis on the skin. F Urbach, Oxford, Pergamon, p151, 1969
- 23) Robinson JW, Mircovitch V, Winestorfer B et al : Responce of the intestinal mucosa to ischemia. *Gut* 22 : 512—527, 1981
- 24) Herrine JO, Glasser ST, Lange K : New methods for determining the viability of bowel. *Arch Surg* 45 : 785—791, 1942
- 25) 丸山圭一, 河井敏幸, 阿部令彦ほか : 血管構築像からみた吻合法の検討. *臨外* 30 : 943—960, 1975
- 26) 北島政樹 : 胃腸吻合創の治癒経過に関する実験的研究 (微細血管構築像を中心に). *日外会誌* 75 : 538—553, 1974
- 27) 八坂 朗 : 消化管吻合補強法としての遊離腹膜パッチの効果に関する実験的研究—とくに阻血腸管吻合に対する効果について. *日外会誌* 81 : 264—280, 1980
- 28) 松本考一, 勝見正治, 浦 伸三ほか : 血液量と腸吻合. *最新医* 35 : 1740—1742, 1980
- 29) 岡 義裕 : 蛍光眼底撮影法の副作用に関する検討. *眼臨医報* 72 : 35—39, 1978
- 30) McCran JB, Myers B, Shanklin KD : The value of fluorescein in predicting the viability of arterialized flaps. *Plast Reconstr Surg* 60 : 710—719, 1977