二次元レーザー血流計による胃粘膜組織微小循環計測

三浦総一郎、福村 大

慶應義塾大学医学部消化器内科

Measurement of Gastric Blood Flow by Two Dimensional Laser Doppler Perfusion Imager.

Soichiro Miura and Dai Fukumura

Department of Medicine, School of Medicine, Keio University, Tokyo

Abstract: Mucosal blood flow is supposed to show a considerable heterogeneity among different sites in organs, however, there has been no good tool for evaluating this. In this study, using rat stomach, we examined the temporal and spacial alteration of blood flow during the development of ischemia-reperfusion-induced gastric damage by using two dimensional laser Doppler perfusion imager. Male Wistar rats 200-250g were used for the experiments. Under pentobarbital anesthesia, stomach was carefully pulled out and exposed under laser Doppler perfusion imager PIM 1.0 (Lisca Development AB) and scanned from the serosal and the mucosal sides. One ml of 0.1N HCl was instilled into the gastric lumen. Systemic arterial pressure was continuously monitored and blood was stepwisely withdrawn from the femoral artery to 80,60,40 and 20% of the control pressure. After that the mean systemic pressure was maintained about 20mmHg for 20min. The shed blood was then reinfused and the stomach was removed at 30 min later. CV-6209, a PAF receptor antagonist, was intravenously administered at the dose of 0.1mg/kg 30 min before the experiment. In control condition, the blood perfusion was uniformly good showing more than 7-8 P.U. throughout the stomach. During the process of gradual decrease in systemic pressure, the blood perfusion of body and antral portion was almost equally decreased, but the perfusion of area along the left gastric artery and prepyloric region was comparatively well preserved. Perfusion detected from mucosal side was more vulnerable to ischemia than the serosal perfusion. After reperfusion, transient hyperemia was observed, and then the hypoperfused area started to appear in the middle body portion of the stomach near the greater curvature, well corresponding to the formation of gastric mucosal damage. CV-6209 well prevented the decreased perfusion as well as the formation of mucosal damage. From these observations, it is concluded that gastric mucosal blood flow shows heterogeneity among different portion of stomach which may closely relate to the occurrence of mucosal damage.

Key words: two dimensional laser Doppler perfusion imager, gastric mucosal blood flow, ischemia-reperfusion injury, microcirculation, platelet-activating factor

I 緒言

胃粘膜病変の発生機序には多数の攻撃因子、防御因子の異常が関与している。従来の実験的検討の大多数は、胃粘膜全体における各因子の変動を対象としたものであった。しかし臨床的には病変は局所的に点在するものであり、この

形成機転を解明することを試みた報告は比較的少ない。一方、消化管の粘膜血流の測定には酸素ガスクリアランス法とレーザードップラー flow meter を一般的に用いている。しかしこの手法では一次元的な情報しか得られない。今回、二次元 laser Doppler perfusion imager を用いて二次

元的な血流の組織灌流分布につき画像解析をおこない胃微小循環と病変分布との関連につき検討した。

II 方法

Wistar系雄性ラット(200-250g)を用いた。ラットをネンブタール麻酔下に開腹し、胃をステージ上に展開した。ラットの胃は漿膜側または粘膜側より laser Doppler perfusion imager PIM(Lisca Development, Sweden) を用いてスキャンした。レーザーとしてヘリウム-ネオン 632.8nm, 1mW を用い、サンプリング時間は 50msec/point の条件で測定した。本装置ではレーザービーム自体が動くことにより、著者らの用いている実験条件では約 8×10 mm のエリア内の胃全域を網羅できる。そして同部を 2000 の site に分け測定しており、一回のスキャンに全部で 90 秒を要することとなる。

実験モデルとしては阻血-再灌流モデルを用いた。すなわち漿膜側よりスキャンする場合、胃内に 0.1N 塩酸を 1 ml 注入し、粘膜側よりスキャンする場合、0.1N 塩酸を superfusion した。頸動脈に脱血用のカニユーレを、大腿動脈に血圧測定用のカニユーレを挿入し、全身血圧を段階的に 20 mmHg ずつ脱血する。各血圧を 5 分間ずつ維持した後、20 mmHg で約 20 分間維持し、その後 10 分間かけ脱血した血液をゆっくり戻し再灌流した。再灌流後、10 分おきに 30 分後まで観察し、これらの変化を二次元的に画像解析した。また再灌流後 30 分の胃粘膜について障害部位の面積を測定し ulcer index として表現した。さらに、platelet-activating factor の拮抗剤である CV-6209(武田薬品)を 0.1 mg/kg の濃度で 30 分前に投与し、阻血-再灌流障害に対する抑制効果についても検討した。

III. 成績・結論

Control 状態のラットの胃を漿膜側より観察した。胃の組織の血流イメージはテレビ画面左側に青より暗赤色まで 6 段階にカラー表示できるようになっており、どのような血流分布になっているか、一目で認識できる。また取り込んだ画像上に任意の四角で囲んだエリアを設定できるようになっており、その部位内の組織における perfusion を計測できるようになっている。

このようにして得られた tissue perfusion のイメージで得られる数値と、従来より用いているレーザードップラー flowmeter で計測した数値との相関をとると、この両者は非常に良く相関することが示された。

胃漿膜側のイメージを経時的に観察するとコントロールの画像は血圧が 100 mmHg の場合であるが、全体にわたり均等な血流分布が得られている。血圧を 80、60、40 mmHg と下げてゆくと、流れの悪くなっている部位が見られるようになってくる。すなわち、血圧を 60 mmHg まで下げた場合は、左胃動脈の胃内へ入ってくる胃角小弯の部位と大弯側の大網動脈に沿った部位は、比較的血流が良く保たれているが、その他の部位は血流の低下している部位が出現することが、明瞭に描出できた。血圧を

20 mmHg に下げると tissue perfusion は胃の全域にわたり下降する様子が観察できた。これらを胃体上部と下部の 2ヶ所のエリアで計測すると、コントロールラットでは胃体上部で 8.2 perfusion unit (P.U.)、下部で 7.6 P.U. の値を示すが、血圧を 20 mmHg ずつ下げ計測してゆくと perfusion unit は段階的に下降し、血圧 20 mmHg では、体上部で 2.4 P.U.、体下部で 2.9 P.U. へとともに減少することが示された。

脱血した血液を再灌流した直後には、漿膜側よりの血流分布はコントロールよりもむしろ高い数値を全体に示し、reactive hyperemia という状態を生じていると考えられる。しかし、再灌流後、徐々に灌流不全の領域が出現したあと広がってゆくのが観察される。この灌流不全のエリアは再灌流後20分より胃体下部を中心として現われ始め、30分後には左胃動脈が入ってくる部位はスベアされているが、胃体中部から下部にかけて非常に広範囲に灌流不全のエリアが広がってくることがわかり、微小循環障害の二次元分布が可視化されたわけである。また胃体上部で左胃動脈の流入する部位と体下部の二ヶ所のエリアを選択し定量的に経過観察した。再灌流直後の perfusion unit は両者ともコントロール値に比べ上昇するが、約20分、30分と経過するにつれてとくに体下部においてより顕著に血流が低下してゆくことが示された。

組織障害により密接に結び付いていると考えられる粘膜側の血流を測定した。この際ラットの胃は大弯側で切開しステージ上に展開し温生食にて表面灌流を施した。この場合、大弯側の切開により体部の組織血流はコントロール状態でも漿膜側からの観測に比して多少低下していた。脱血により血圧を60mmHgへ下降させるとすでにperfusionが非常に悪くなるのが観察され、20mmHgへ低下させると、画面上ほとんど組織血流がゼロに近くなることがわかる。したがって、血圧の下降に伴う組織perfusionの低下については、粘膜側のほうが漿膜側に比較してより敏感に反応することが明らかとなった。腺胃の体部小弯側近傍と体部大弯側を選んで粘膜側よりスキャンすると、血圧20mmHgでは両者ともにP.U.は1.0以下に大きく低下することが示された。再灌流時に血流はほぼ脱血前の値に戻る

が、やはり20-30分経過すると灌流不全のエリアが出現した。この際、画面中央の胃の小弯側や幽門部は比較的血流は良く保たれるのであるが、胃体部の特に大弯に近いところが非常に血流の減少が激しく、この灌流不全の部分は肉眼的に出現する出血びらの発生部位と良く一致していた。

このような脱血-再灌流障害による血流低下における血小板活性化因子(platelet-activating factor: PAF) の関与を明らかにするために、PAFのreceptor拮抗剤であるCV-6209(0.1mg/kg)を前投与した。脱血時の血流低下は同様に認められるが、再灌流後20分-30分と経過してゆくとつれ、CV-6209を投与しない群で生ずる perfusion unitの低下は有意差をもって抑制された。

以上、二次元 laser Doppler perfusion imager を用いて、胃における虚血-再灌流障害に基づく血流分布の変化を二次元的な画像を用いて表現しえた。すなわち、血流障害の部位による多様性がこの手法により明確に定量化することができた。

IV. 参考文献

1. 三浦総一郎：血流の新しい測定法—実験的観点から。消化器血流の研究 vol 9. 消化器血流研究会編、アサヒメディカル、13-19, 1993.
2. 永田博司ほか：急性胃粘膜病変の局在と微小循環障害の関連。日消誌 87:1357-1363, 1990.
3. Kurose I, Miura S et al. Role of platelet-activating factor on the fibrinolytic activation in the pathogenesis of gastric mucosal damage induced by endothelin-1. Gut 33: 861-871, 1992.

図1 二次元レーザードップラー flow meter による再灌流後の胃組織血流の経時的変化
(ラット漿膜側よりの観察)

A: 胃体上部、B: 胃体下部-前庭部、C: 幽門部

図2 再灌流障害による胃組織血流低下は PAF拮抗剤 CV 6 2 0 9 投与にて抑制された