

令和 2 年 5 月 16 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11404

研究課題名(和文) 蘇生後肺傷害に対する細胞膜透過性をターゲットとした新しいショック早期鎮静治療戦略

研究課題名(英文) The sedation treatment strategy targeting cell membrane permeability on lung injury induced by hemorrhagic shock and resuscitation

研究代表者

井上 一由 (INOUE, KAZUYOSHI)

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：10624413

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ショックに対する蘇生時の輸液療法が細胞膜透過性を原因とする合併症を引き起こすことが知られているが、中でも、急性肺傷害/急性呼吸促進症候群(ALI/ARDS)は一旦発症すると治療に難渋することが多い。本研究では、出血性ショック蘇生後の肺傷害モデルを用い、出血性ショックの初期蘇生に用いられる輸液製剤が蘇生後のALI/ARDS発症に対して影響することを解明し、出血性ショック時より投与する鎮静剤(デクスメトミジン)が蘇生後のALI/ARDS発症に対して保護効果があることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、出血性ショック蘇生後の肺傷害のメカニズムが、蘇生に起因する炎症反応による内皮細胞障害であり、初期投与に使用する輸液製剤による肺傷害の程度の差のメカニズムが解明することができ、出血性ショック時における輸液製剤を用いた肺保護戦略の可能性が明らかとなった。また、デクスメトミジンの肺保護効果のメカニズムとして、抗炎症効果を介した内皮細胞保護効果が示され、ショック時における新たな鎮静戦略として鎮静による臓器保護効果を期待できると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Hemorrhagic shock and resuscitation (HSR) sometimes induces pulmonary complications that lead to acute lung injury. In initial stage of HSR, fluid therapy is frequently performed so as to maintain the circulatory blood volume. In this study, we examined that the fluid's choice in early stage of HSR may have an impact on respiratory status and Dexmedetomidine could have a protective role against HSR induced lung injury.

研究分野：集中治療学

キーワード：ショック蘇生 輸液療法 急性肺傷害/急性呼吸促進症候群 デクスメトミジン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年の周術期管理学の進歩、薬物療法、人工呼吸法の発達にも関わらず侵襲の大きな手術や出血性ショック蘇生後に発生する ALI/ARDS の死亡率は依然として高く、ALI/ARDS に対して決め手となる治療法は未だ確立されていない。現在までに様々な治療法が試みられているが、現時点で有効な治療法は、鎮静下に行われる人工呼吸器を用いた肺保護戦略のみである。(N. Engl. J. Med., 2000) 出血性ショック・蘇生のような虚血再灌流では、nuclear factor- κ B (NF- κ B) の活性化を介して reactive oxygen species (ROS) が発生し、過度の炎症を躍起させ肺胞上皮細胞、肺血管内皮細胞が傷害されるため血管透過性亢進がおり非心原性肺水腫をきたす。内皮細胞上に存在する glycocalyx は、size filter、size filter の役目をはたして、血管内外の水分移動に関与しているが、炎症時の血管透過性の亢進は glycocalyx が傷害され、size filter、size filter の機能低下が原因と考えられるようになってきた。また、ショック時に循環血漿量を維持するために投与された、輸液、血液が glycocalyx 機能に影響を与え、肺血管内皮細胞の血管透過性を亢進させ、蘇生後の ALI/ARDS の発症に影響を与えることが考えられるようになり、ショック時に投与される輸液、血液の種類、投与量、投与方法などが重要視されてきている。

一方で、ショック蘇生時には鎮静を必要とする。集中治療領域では鎮静の種類が患者の予後に影響を与えてくることが報告されているが(JAMA, 2012)、ショック蘇生早期に使用した鎮静剤が予後に影響されるかどうかは不明であり、蘇生後に発生する過剰な炎症反応に影響を及ぼす可能性がある。鎮静により、交感神経を抑制され副交感神経が優位となるが、副交感神経は炎症を抑制するため交感神経が優位である重症患者では、副交感神経系を優位にするような治療が予後を改善する可能性がある。(Nat Med, 2004) 現在集中治療領域で使用されているデクスメトミジンは優れた鎮静効果があり、抗炎症作用、抗アポトーシス作用などを有する鎮静剤である。このような鎮静剤を出血性ショック早期より投与することにより、蘇生後に発症する ALI/ARDS を予防でき、臨床使用におけるショック早期よりの鎮静による臓器保護効果を期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、出血性ショック蘇生後の肺傷害モデルを用い、出血性ショックの初期蘇生に用いられる輸液製剤が、蘇生後の ALI/ARDS 発症に対する影響とメカニズムを解明するとともに、出血性ショック時より投与する鎮静剤が ALI/ARDS の新しい治療的戦略となることを検討していくことを目的とする。

3. 研究の方法

ラット出血性ショック蘇生後 ALI/ARDS モデルにおいて、

(1) 蘇生時に使用する初期輸液を、晶質液、膠質液を用い、蘇生に伴う肺傷害への影響が輸液製剤の種類で異なるかを肺組織傷害で検討し、至適製剤を検討する。

(2) 肺組織における炎症反応と血管内皮細胞障害のメカニズムを解明する。

(3) ショック時よりデクスメトミジンを投与し、肺傷害の程度の変化を検討し、デクスメトミジンの抗炎症効果、血管内皮細胞保護作用について分子生物学的手法を用いて検討する。

(4) 鎮静剤の種類を変化させて、適切な鎮静剤の効果を検討し、臨床応用に向けての足掛かりとする。

ラット ALI/ARDS モデルの作製

雄性 Sprague-Dawley ラット (350~400g) に pentobarbital (50mg/kg) の腹腔内投与で麻酔を行い、自発呼吸下に左鼠径部を切開、動脈ラインと中心静脈ラインを確保しモニターする。中心静脈ラインより脱血を行い、平均動脈血圧を正常値の 100mmHg から 30mmHg まで下げ 1 時間維持しショック期とする。ショック期後、脱血した全血、晶質液もしくは膠質液で血圧を 1 時間かけて回復させ蘇生期とする。その後を観察期とし経時的に肺を採取する。

実験群とショック後の輸液投与方法

ラットは出血させる以外の手術を施した sham 群、蘇生時に脱血した全血を投与した HSR 群、蘇生時に晶質液を投与した HS/Crystalloid 群、膠質液を投与した HS/Colloid 群の 4 群に分ける。

それぞれのモデルにおいて、肺への抗炎症効果を炎症性シグナル伝達のカスケードすなわち、転写因子 NF- κ B の DNA 結合活性、炎症性メディエーター tumor necrosis factor- α (TNF- α), inducible nitric oxide synthase (iNOS) mRNA 遺伝子発現、接着因子 intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), E-selectin の組織局在で検討する。また、肺傷害を肺水腫の指標 Wet/Dry ratio, 好中球集積の指標・myeloperoxidase (MPO) 活性、HE 染色による組織所見で評価する。さらに、肺内皮細胞障害における glycocalyx 障害の評価として、透過型電子顕微鏡を用いた組織評価、血液中のヘパラン硫酸とシンデカン-1 を ELISA を用いて計測、肺組織でのシンデカン-1 mRNA 遺伝子発現、蛍光抗体染色を用いて局在を検討する。

以上の結果より、ラット出血性ショック蘇生後 ALI/ARDS モデルにおける、蘇生製剤の炎症反応と肺内皮細胞障害の差異を明らかにする。

4. 研究成果

最初に、蘇生時に使用する初期輸液を、晶質液、膠質液で投与し、蘇生に伴う肺傷害への影響が輸液製剤の種類で異なるかを検討した。出血性ショック蘇生ラットに対して、晶質液を投与することによりラットは蘇生可能であることが確認でき、蘇生ラットでの肺の炎症性メディエーター、TNF- α 、iNOS mRNA 遺伝子発現の増強が認められ、肺水腫の指標である Wet/Dry ratio の上昇、HE 染色による組織所見では炎症細胞の集積、浮腫、出血などの肺傷害の所見が認められ、出血性ショック後の晶質液による蘇生により ALI/ARDS が発生することが確認できた。そこで、初期輸液を膠質液にすることにより肺傷害への影響を検討し、TNF- α 、iNOS mRNA 遺伝子発現の増強の低下、肺水腫の指標である Wet/Dry ratio の改善、HE 染色による組織所見では炎症細胞の集積、浮腫、出血などの肺傷害の所見の改善が得られることが分かった。これらの結果より、出血性ショック後の晶質液による蘇生により ALI/ARDS が発生し、初期輸液を膠質液にすることにより ALI/ARDS の程度が改善することが確認できた。しかしながら、肺内皮細胞障害における glycocalyx 障害のとしてヘパラン硫酸とシンデカン-1 を評価したが、初期輸液による差は得られなかった。

次に、出血性ショック蘇生ラットを晶質液で蘇生することにより発症する ALI/ARDS に対して、デクスメドミジンを投与することにより改善が得られるかを確認した。デクスメドミジンを投与することにより蘇生ラットでの TNF- α 、iNOS mRNA 遺伝子発現の増強の低下、肺水腫の指標である Wet/Dry ratio の改善、HE 染色による組織所見では炎症細胞の集積、浮腫、出血などの肺傷害の所見の改善が得られた。これらの結果より、鎮静剤であるデクスメドミジンを投与することにより ALI/ARDS が改善することが確認できた。しかしながら、転写因子 NF- κ B の DNA 結合活性や、接着因子 ICAM-1、E-selectin の組織局在は結果が得られなかった。また、ヘパラン硫酸とシンデカン-1 の蛍光抗体染色を用いた局在評価は、デクスメドミジン投与による差は得られなかった。

次に、出血性ショック蘇生ラットを晶質液で蘇生することにより発症する ALI/ARDS に対して、蘇生に伴う肺傷害への影響が鎮静剤の種類で異なるかを検討した。しかしながら、デクスメドミジン以外の鎮静剤では、肺傷害への効果、影響は確認することはできなかった。

結果のまとめ

- (1) 蘇生時に使用する初期輸液を、晶質液、膠質液を用い、蘇生に伴う肺傷害への影響が輸液製剤の種類で異なっていた。
- (2) 肺組織における炎症反応と血管内皮細胞障害が肺傷害に関与していた。
- (3) ショック時よりのデクスメドミジン投与が蘇生後肺傷害を軽減させる可能性が示唆されたが、メカニズムの解明には至らなかった。
- (4) 蘇生時使用する鎮静剤の種類を変化させたが、蘇生後肺傷害への効果、影響は確認することはできなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中村 龍, 井上一由, 熊田雄太, 清水裕子, 高橋 徹, 森松博史
2. 発表標題 出血性ショック蘇生時に投与したDexmedetomidineがラット蘇生後肺傷害に与える影響
3. 学会等名 第44回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ryu Nakamura, Kazuyoshi Inoue, Yuta Kumada, Hiroko Shimizu, Toru Takahashi, Hiroshi Morimatsu
2. 発表標題 The effect of Dexmedetomidine on lung injury induced by hemorrhagic shock and resuscitation induced lung injury in rats
3. 学会等名 SCCM 46th Critical Care Congress
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	森松 博史 (MORIMATSU HIROSHI) (30379797)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	
研究分担者	清水 裕子 (SHIMIZU HIROKO) (80423284)	岡山大学・医学部・客員研究員 (15301)	