

平成30年 5月30日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20382

研究課題名(和文)重症軟部組織損傷に対する高気圧酸素療法の応用と解析

研究課題名(英文)Analysis of hyperbaric oxygen therapy for severe soft tissue injury

研究代表者

神田 倫秀 (Kanda, Norihide)

岐阜大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40421177

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：重症軟部組織損傷は現在でも壊死や感染の合併は依然高い。高気圧酸素治療(HBO)による軟部組織損傷に対する効果が報告されているが、その機序は不明である。本検討では敗血症モデルマウス、創傷モデルラットを用いてHBO(100%酸素、90分、2ATA)を単独で施行し対象群と比較した。いずれもHBOによる生存率、創傷治癒期間に有意な差を認めずHBOの直接的な作用は認められなかった。次いで薬物動態について検討し、HBO治療後にメロペネムの組織濃度が上昇を確認できた。以上より、軟部組織損傷時におけるHBOの治療効果はHBOによる薬物の組織濃度の増加が軟部組織損傷の治癒に寄与している可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：Recently, a new trauma management for soft tissue injury is in progress. However, it often causes necrosis and wound infection due to ischemia. Previous reports suggested that hyperbaric oxygen therapy (HBO) had anti-infection and wound healing effects for soft tissue injury. Conversely, its mechanism is still unknown. In this study, HBO-treated group was conducted HBO (100%, 2ATA) for 90 minutes. In septic mouse and wound healing rat, direct anti-infection and wound healing effects for soft tissue injury could not be observed using HBO. However, we confirmed that tissue concentration of a meropenem in HBO-treated mouse was more increased compared no-treated mouse. In conclusion, our data suggested that increasing tissue concentration of a medicine after HBO may contribute to the healing of the soft tissue injury

研究分野：救急医学

キーワード：高気圧酸素 薬物血中濃度 軟部組織損傷

### 1. 研究開始当初の背景

救急科領域においては広範な軟部組織損傷を伴う開放性骨折や汚染・挫滅創を伴う外傷はしばしば経験する。その創傷治癒機転の解明や新しい管理技術は閉鎖陰圧療法をはじめとして進歩してきているが、現在でも二次感染や創傷治癒遅延は発症する。合併症を併発すると、増悪する局所循環不全より抗菌薬はさらに感染部位まで届かないという悪循環に至り、四肢切断や時には死に至ることさえある。それらは特に糖尿病などの基礎疾患を有する傷病者や高齢者に多くみられ、予後がさらに悪化する要因となっている。その機序は組織破壊が著しいことによる血液灌流の障害に由来する酸素供給の不足と、それに続発する組織修復機転の障害及び生体防御機構の機能不全である。

高気圧酸素治療 (Hyperbaric Oxygenation: HBO) とは、チャンパー内に患者を収容し、大気圧より高圧環境の中で酸素を吸入させることで病態改善を図る治療である。1950年代よりその有用性が認識され、技術的に確立された治療として種々の疾患に臨床応用されている。有名なところでは潜水医学の減圧症における適応であるが、他にも一酸化炭素中毒、慢性創傷など適応疾患は多い。とりわけ、救急外傷学分野においては、HBOによる感染症予防・治癒効果と創傷治癒効果に注目が集まっており、その機序も明らかとなってきている。我々はすでに広範な軟部組織損傷を伴う開放骨折に対する感染症予防・治癒効果と創傷治癒効果について報告しており、過去のHBOを導入する前後の症例で比較検討を行った。その結果、HBO施行群では対照群と比較し、有意に感染率、再手術率は低下し、創傷被覆術はHBO群において93.7% (15/16) で生着良好であり、HBOの有効性を示すには十分な結果であった(Yamada N, Kanda N et al. Undersea Hyperb Med. 2014)。しかし、軟部組織損傷に対するHBOのEvidenceは難治性潰瘍などで培われてきた臨床的な経験則が主で、それら難治性潰瘍での基礎医学データによって裏付けられている部分が多いことは否めない。そして救急外傷分野で扱う高度損傷における基礎医学的な裏付けが不十分であり、これが結果的に臨床的な



当研究室の動物実験用高気圧酸素治療タンク

Evidenceの確立を阻んでいる。

### 2. 研究の目的

感染予防・治癒と創傷治癒が同時に起こっていると考えられるHBOによる重症軟部組織損傷の治癒過程を説明するには依然基礎医学的解析が不十分である。本研究では、重症軟部組織損傷に対するHBOの基礎医学的検討を新たな視点より解析し、確かな治療戦略として確立することである。

### 3. 研究の方法

HBOの治療効果を創傷治癒効果、殺菌効果、毒素中和・抗炎症効果、抗菌薬作用増強に分類し、多角的に検討した。

実験1：創部感染機序、創傷治癒効果の検討  
SD系雄性ラット(200-250g)に吸入麻酔薬イソフルランを用いて麻酔し、腹臥位に固定。剃毛後、イソジンで消毒し、スキンパンチを用いて深さは表皮より筋膜に達する皮膚欠損層を作製した。HBO治療群には2ATA、60分のHBOを連日行い、非治療群との創傷治癒効果を比較検討した。

実験2：殺菌効果、毒素中和・抗炎症効果の検討

細菌モデルはC57BL6マウスに大腸菌などの腸内細菌を腹腔内投与することで作成した。腸内細菌はマウスの糞便より採取した腸内細菌を培養し、吸光度計で測定して細菌濃度を均一化したものを用いた。炎症モデルはグラム陰性桿菌細胞壁の構成成分であるリポ多糖を細菌モデル同様、C57BL6マウスに腹腔内投与することで作成した。これら2モデルマウスを用いて、作成後3時間後から治療群にはHBO治療を開始し、連日HBO治療を行い、その治療効果をHBO非治療群と比較検討した。

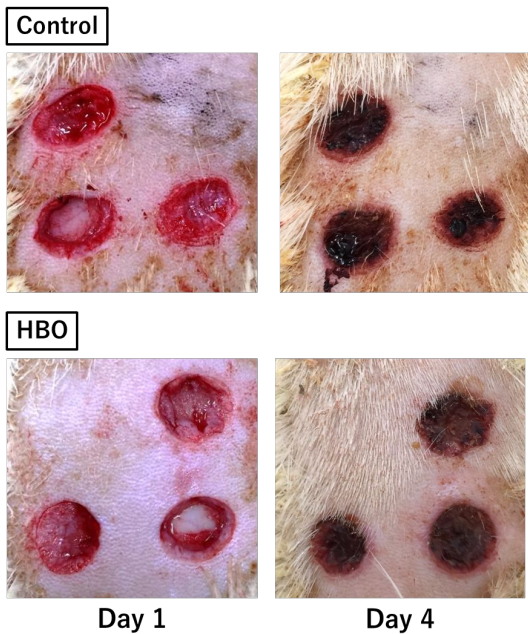
実験3：抗菌薬作用増強効果の検討

C57BL6マウスをHBO治療群と非治療群の2群に分け、HBO治療後にカルバペネム系抗菌薬メロペネムを25mg/kg静脈内投与し、投与後5、15、30分後に全血と肝臓、肺を採取。全血は遠心分離し、血清を採取。肝臓と肺については、採取後ホモジネート施行し、エチルパラベン溶液に浸透させた。血清、肺、肝臓いずれも、Liquid Chromatography Mass Spectrometerを用いて濃度測定を行い、非治療群と比較検討した。

### 4. 研究成果

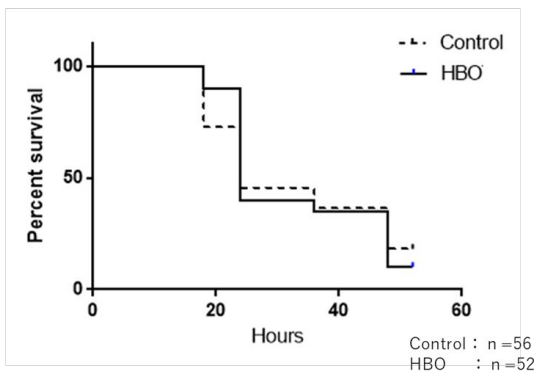
結果1：

連日HBOを施行し、創傷治癒効果を検討するも、治療群と非治療群に肉眼的な創傷治癒効果は認められなかった。

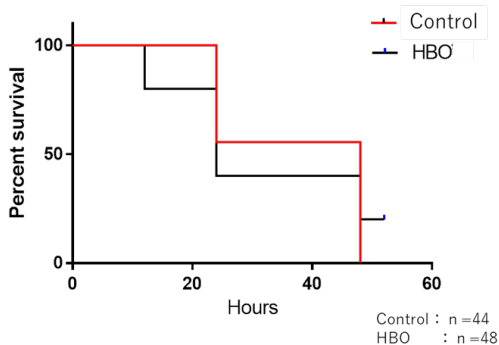


結果 2 :  
細菌モデル、炎症モデルいずれの敗血症モデルにおいても、HBO 治療群、HBO 非治療群に有意な差を見出すことはできなかった。

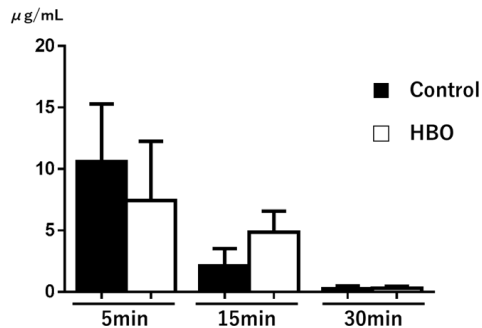
細菌モデル



炎症モデル

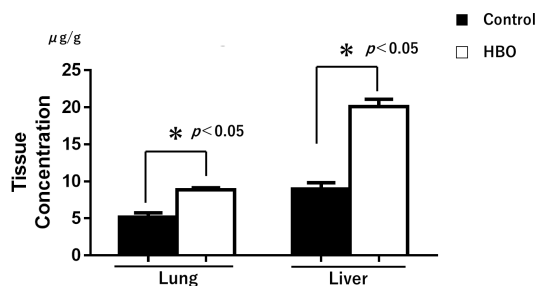


結果 3  
血清中のメロペネム濃度に関しては投与後 15 分値では傾向は認められたものの、いずれも HBO 治療群、非治療群に有意な差を認めなかった。



群	血中濃度	p値
Control 5min	10.6 ± 4.7	0.31
HBO 5min	7.4 ± 4.8	
Control 15min	2.1 ± 1.4	0.064
HBO 15min	4.9 ± 1.7	
Control 30min	0.24 ± 0.25	0.74
HBO 30min	0.31 ± 0.15	

肝臓、肺いずれの組織濃度においても、投与後 15 分値において、HBO 治療群では非治療群と比較して、有意に組織濃度は高値であった。5 分値、30 分値においては有意な差は認められなかった。



当初、我々の仮説では、創傷治癒効果、感染予防・治療効果にまず何らかの治療効果を認められると予想していた。だが、その仮説に反し、本実験系では結果に差異を見出すことができなかった。

しかしながら、薬物濃度の検討により、HBO は抗菌薬作用増強効果に影響を及ぼすことが明らかとなり、この効果が軟部組織感染症の治療効果に寄与していた可能性が考えられた。今後は、マイクロアレイ解析を行い、pathway 解析により変動する遺伝子の中で薬物動態、薬力学に関わる遺伝子をピックアップし、解析を行っていく予定である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 1 件)

鈴木浩大、神田倫秀、岡田英志、岡本遥、山田法顕、土井智章、熊田恵介、吉田省造、牛越博昭、小倉真治. 高気圧酸素条件下における薬物動態の解析. 第 45 回日本集中治療医学会学術集会, ホテルニューオータニ幕張, 2018 年 2 月

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

神田 倫秀 (KANDA NORIHIDE)

岐阜大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 40421177