

令和 元年 6 月 18 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20395

研究課題名（和文）無気肺における肺組織低酸素がARDSの病態に与える影響についての前臨床的研究

研究課題名（英文）Atelectasis-induced alveolar hypoxia in experimental acute respiratory distress syndrome

研究代表者

吉田 輔（Yoshida, Tasuku）

横浜市立大学・医学研究科・共同研究員

研究者番号：80722694

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円

研究成果の概要（和文）：リポポリサッカライド誘導性肺傷害モデルラットを用いて、人工呼吸中に含気のない無気肺そのものが肺傷害を助長する作用をもつことを明らかにし、無気肺を減らすような人工呼吸法がDriving Pressure（人工呼吸において呼吸毎に肺に加わる圧力）に依存せずに肺保護効果を示すことを明らかにした。また、人工呼吸中の吸入酸素濃度を増加させても、無気肺における組織の低酸素を改善することはできず、肺傷害を軽減することはできない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

本研究によって、ARDS患者の人工呼吸中に無気肺を減らすことそのものがDriving Pressureの減少とは独立して肺保護効果を持つことが初めて示された。一方で、吸入酸素濃度を増加させても無気肺に伴う肺胞低酸素及び組織傷害を軽減できないことが示唆された。以上から、ARDSの人工呼吸管理においては、無気肺を減少させるとともに、吸入酸素濃度はできる限り減らすことが有益である可能性が示唆され、今後の臨床研究の方向性に示唆を与えることができたと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We demonstrated that open lung approach during mechanical ventilation protects lungs of lipopolysaccharide-induced experimental ARDS model independently from reduction of driving pressure. Moreover, increasing oxygen concentration during mechanical ventilation could not alleviate the atelectasis-induced lung tissue hypoxia and lung tissue injury.

研究分野：集中治療医学

キーワード：ARDS 人工呼吸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急性呼吸促迫症候群 (Acute Respiratory Distress Syndrome: ARDS) ARDS 患者の肺の含気は不均一であり、背側部の無気肺では肺胞酸素分圧が 30mmHg 程度まで低下している。近年、様々な組織において低酸素は炎症を引き起す刺激となりうること (低酸素誘導性炎症) が知られるようになった。申請者のグループでは肺に注目し、分離肺換気による不均換気ラットモデルを確立した上で、無気肺に伴う肺胞低酸素が健常ラットにおいて、肺の炎症を引き起こすことを見出した (Tojo et al. Intensive Care Med Exp, 2015)。この結果から、今まであまり問題視されてこなかった無気肺において、局所的な肺胞低酸素が低酸素誘導性炎症を引き起こし、肺傷害を増悪させる可能性があることがわかってきた。しかしながら、無気肺に伴う局所的な肺胞低酸素が、すでに傷害を受けている ARDS 患者の肺に対しても健常ラットの場合と同様に、炎症、傷害を増悪させるのかは明らかでなかった。

このような無気肺の肺胞低酸素を改善する方法としては、呼気終末陽圧 (PEEP) の付加などにより無気肺を減らす (open lung approach: OLA) 吸入酸素分圧 (F_{iO_2}) を増加させるという二つの方法が考えられる。このうち高い PEEP の付加については、臨床研究により一定の有効性が確かめられている (Briel et al. JAMA 2010)。しかしながら、OLA の肺保護効果は相対的な一回換気量を低下させることによる Driving Pressure の低下に依存しているという報告 (Amato et al. NEJM 2015) も見られ、無気肺を減少させることそのものが肺保護効果をもつのかどうかは明らかになっていない。一方で、ARDS 患者の人工呼吸中の最適な F_{iO_2} についてはわかっておらず、臨床研究が必要だと考えられている (Aggarwal et al. Annals of ATS 2015)。高濃度酸素の毒性への懸念から、ヒト ARDS 患者の人工呼吸管理においては安全上可能な範囲で、 F_{iO_2} を下げることが多い。しかしながら、ヒトにおいて高濃度酸素が肺傷害を増悪させるというエビデンスはなく、無気肺を伴うような重症 ARDS の場合、通常用いられる F_{iO_2} レベルでも、局所的な肺胞低酸素による低酸素誘導性炎症を惹起してしまう可能性がある。動物実験においては、健常ラットに対して無気肺を形成するような条件で人工呼吸を行った際には、吸入酸素分圧を増加させることで肺水腫を軽減できることが報告されている。従って、申請者は ARDS の人工呼吸管理における最適な F_{iO_2} は、高濃度酸素による肺傷害を引き起こさず、一方で低酸素誘導性炎症も引き起こさない中等度の酸素分圧である可能性が高いと考えている。今後、臨床研究を進める上で基盤となる知見を得るために、まず、動物実験レベルで無気肺を伴うより臨床的な ARDS モデルを用いて最適な F_{iO_2} の検討を行うことが必要だと考えられた。

2. 研究の目的

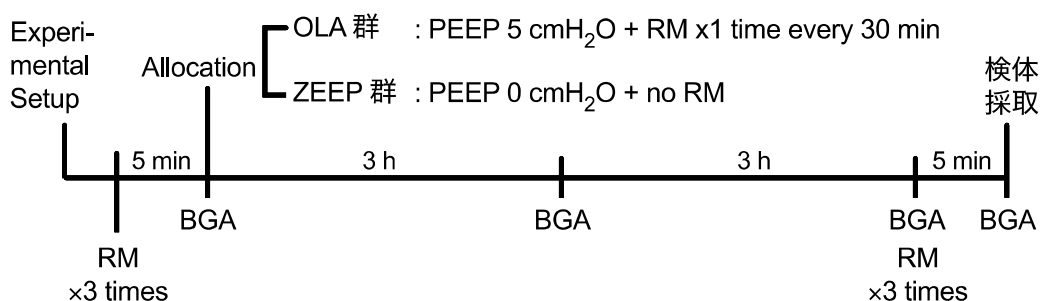
これらの背景を踏まえ、まず、リボポリサッカライド (LPS) 投与によってすでに傷害を受けている ARDS モデル動物の肺に無気肺に伴う肺胞低酸素が与える影響を明らかにしたいと考えた。人工呼吸中の OLA に関する過去の研究では、OLA によって換気される肺領域が大きくなることで、相対的な一回換気量、ひいては Driving Pressure が低下する条件における検討しか行われてこなかった。そのため、OLA が肺保護効果を示したメカニズムとして、無気肺を減らすことそのもの Driving Pressure の低下のうちどちらを介しているのか明らかになっていない。これを踏まえて、Driving Pressure を一定に保った上で OLA を行うことで Driving Pressure から独立した肺保護効果が見られるのか明らかにすることを最初の目標とした。

次に、LPS 誘導性 ARDS モデル動物において無気肺が形成される条件での人工呼吸下で、 F_{iO_2} を増加させることが、肺組織の低酸素を軽減できるのか、肺傷害を軽減することができるのか、を明らかにしたいと考え、研究を行うこととした。

3. 研究の方法

(1) Driving Pressure に依存しない OLA の肺保護効果の検討

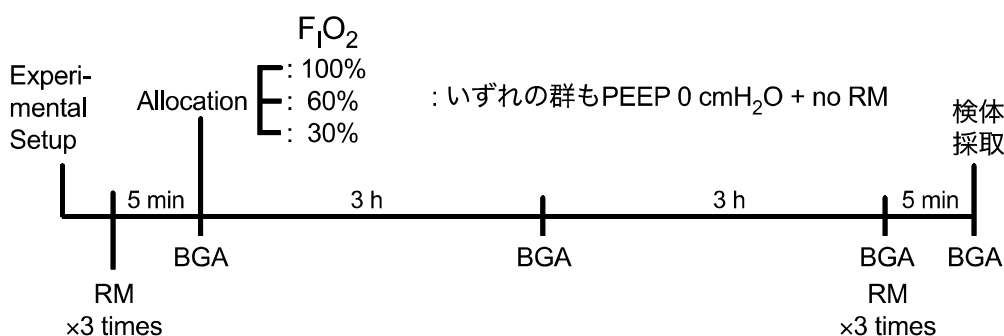
8-9 週齢の Sprague-Dawley ラットに対して 300 μ L の LPS 溶液 (5mg/mL) を経気管投与し、ARDS モデルを作成した 24 時間後に全身麻酔下に気管切開、動脈ライン、静脈ラインを確保し、人工呼吸を行い、リクルートメント手技 (Recruitment Maneuver: RM) を 3 回行った後に動物を OLA 群と ZEEP 群の 2 群に無作為に振り分けた。OLA 群では人工呼吸中 PEEP 5cmH₂O、30 分毎の RM を行い、一方の ZEEP (zero end-expiratory pressure) 群では PEEP 0cmH₂O とした上で RM は一切行わずに 6 時間の人工呼吸を行った。いずれの群においても F_{iO_2} を 40% とし、Driving Pressure が 15cmH₂O となるように一回換気量を調整した。



3時間の人工呼吸後に血液ガス測定, 6時間の人工呼吸後に3回のRMを施行し, 血液ガス測定, 安楽死させた後に気管支肺胞洗浄液(BALF), 肺組織を採取した。気管支肺胞洗浄液中のサイトカイン, タンパク濃度, 組織傷害マーカー濃度を測定した。また, 肺組織をヘマトキシリンエオジン染色し, 傷害の評価を行った。また別の動物を用いて, OLA, ZEEP 群それぞれにおいて3, 6時間の人工呼吸終了後の含気のある肺の容量をCTで評価した。

(2)無気肺形成 ARDS モデルにおける人工呼吸中の吸入気酸素濃度が肺傷害に与える影響の検討

(1)と同様に LPS 誘導性 ARDS モデルラットを作成した上で, 24 時間後に人工呼吸を開始し, $F_{I}O_2$ を 30% ,60% ,100% の 3 群に無作為に振り分けた。人工呼吸は(1)の ZEEP 群と同様に PEEP 0cmH₂O とした上で RM は一切行わず, 背側に無気肺が形成されるようにした。3 時間の人工呼吸後に血液ガス測定, 6 時間の人工呼吸後に 3 回の RM を施行し, 安楽死させ, 気管支肺胞洗浄液(BALF), 肺組織を採取した。気管支肺胞洗浄液中のタンパク濃度, 組織傷害マーカー濃度及びヘマトキシリンエオジン染色した肺組織の評価を行った。また肺組織の低酸素の評価を行うため, ピモニダゾール染色及び, 肺組織中の低酸素誘導性因子(HIF)-1 濃度の測定を行った。

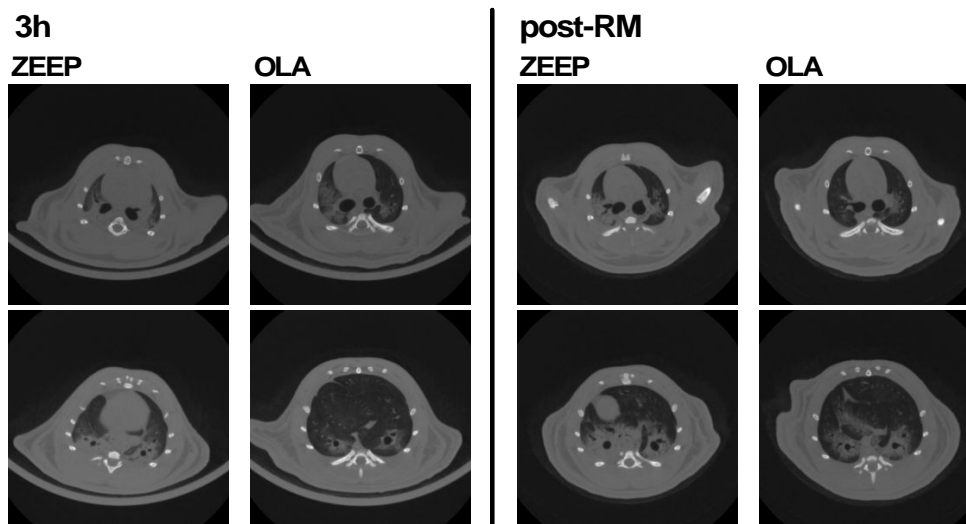


4. 研究成果

(1)Driving Pressure に依存しない OLA の肺保護効果の検討

ZEEP 群において OLA 群と比較し, 同じ Driving Pressure を保つために小さな一回換気量で人工呼吸を行う必要があった。血液ガス上, ZEEP 群では OLA 群と比較し, 著者に動脈血酸素分圧が低く, 二酸化炭素分圧が高かった。しかもその変化は 6 時間の人工呼吸後に両群に対して RM を行った後も維持されたことから, RM ではもとに戻すことができないような呼吸不全の増悪が ZEEP 群で生じていることが示唆された。

3 時間の人工呼吸後, CT 上 ZEEP 群では著大な無気肺が形成されているのが確認され, 含気のある肺の容量が著明に小さかった。6 時間の人工呼吸後に RM を 3 回行った後も, 含気が完全には回復しなかった。



BALF 中の遊走白血球や肺胞バリアー透過性の指標であるタンパク濃度は有意に ZEEP 群で増加しており, 肺胞上皮, 血管内皮細胞の傷害マーカーである RAGE, ICAM-1 の濃度も ZEEP 群で高かった。サイトカインの中では血小板から分泌される好中球遊走因子である CXCL-7 の濃度が ZEEP 群で有意に増加しており, 肺傷害の増悪に関与している可能性が示唆された。さらに, はい組織像の評価においても ZEEP 群で OLA 群よりも強い傷害を認めた。

以上から, Driving Pressure を一定に保った条件でも, 無気肺が形成されることで肺傷害が増悪し, OLA によって無気肺を減らすことそのものが肺保護効果を持つ可能性が示された。

(2)無気肺形成 ARDS モデルにおける人工呼吸中の吸入気酸素濃度が肺傷害に与える影響の検討
人工呼吸中の動脈血酸素濃度は F_{iO_2} が 30%, 60%, 100% の順で低くなったが二酸化炭素分圧には有意な違いは見られなかった。低酸素領域を検出するピモニダゾール染色では背側肺に陽性所見を認め、 F_{iO_2} を増加させても明らかな陰性化は見られなかった。また、組織中の HIF-1 は F_{iO_2} 30%, 60%, 100% すべての群において(1)における OLA 群と比較して有意に増加していた。以上から、 F_{iO_2} を増加させても無気肺における組織低酸素に明らかな改善が見られないことが明らかになった。次に BALF 中のタンパク濃度、ミエロペルオキシダーゼ濃度、RAGE 及び ICAM-1 濃度にも 4 群間で明らかな差は見られなかった。さらにヘマトキシリンエオジン染色した肺組織の評価においても明らかな傷害の差は見られなかった。

以上から LPS 誘導性 ARDS モデルにおいて、人工呼吸中に F_{iO_2} を増加させても、無気肺に伴う肺胞低酸素、及び炎症や肺組織傷害を軽減することはできないことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Tojo K, Yoshida T, Yazawa T, Goto T. Driving-pressure-independent protective effects of open lung approach against experimental acute respiratory distress syndrome. Crit Care. 2018 Sep 23;22(1):228. (査読有り)

〔学会発表〕(計 1 件)

東條 健太郎, 吉田 輔, 矢澤 卓也, 後藤 隆久. Open Lung Approach は Dynamic Driving Pressure とは独立して 肺保護効果を示す -Preclinical Animal Study- 第 65 回日本麻酔科学会総会. 2018.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。