

令和 2 年 6 月 23 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11599

研究課題名(和文)敗血症ショックに対する 受容体機能調整を利用した新しい循環制御法の開発

研究課題名(英文)Development of a novel strategy of circulatory management of septic shock with modulation of beta adrenergic stimulation.

研究代表者

鎌方 安行(KUWAGATA, Yasuyuki)

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：50273678

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)：敗血症ショック時にノルアドレナリン(NAD)が臓器血流に及ぼす影響を明らかにするため、ウサギLPSショックモデルを用いて血行動態と血流分布の経時変化を観察した。LPSで誘発された低血圧はNAD(2.0)投与で抑制されたが、同時に空腸粘膜血流低下が持続し、NAD投与により改善をみなかった。LPS投与後90分から180分後ではNADとLPSの三元配置分散分析の結果、NADとLPSの有意な交互作用の存在が示唆された。ランジオロールの適正持続投与量を決定するための試行を行ったが、期待された腸管循環系への作用は観察されず、選択的 遮断薬の治療薬としての可能性は今回の研究機関において見いだせなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

LPS誘導ウサギ敗血症ショックモデルにおいて、現在血管作動薬として第一選択であるNAD持続静脈内投与は腸管循環系の血管抵抗を是正し、体循環系の動脈圧を是正する効果を有することが明らかとなった。一方でNAD投与は、腸管粘膜血流低下を是正せず、あるいはさらに低下させる効果を有し、むしろ腸管虚血を来す可能性が示唆された。本モデルは臨床を禁じたマクロ生理学モデルとして敗血症時の腸管循環系血行動態異常や、ひいては非閉塞性腸管虚血症をきたす機序を解明するための格好のツールとなり得ることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The present study was designed to evaluate the effect of continuous infusion of noradrenaline (NAD) or landiolol on systemic hemodynamics and mucosal blood flow in gut during experimental sepsis in rabbits. Single intravenous administration of LPS (1mg/kg body weight) reproduced hemodynamic change in human sepsis, characterized by decreased systemic vascular resistance (SVR) and consistent cardiac output. LPS also significantly increased blood flow in superior mesenteric vein (SMV), in the presence of paradoxical decrease in mucosal blood flow. Continuous infusion of NAD at a dosage of 2.0 microgm/kg/hr restored both SVR and blood flow in SMV to normal level, but ischemia of the intestinal mucosa sustained, or otherwise deteriorated. Various dosage of landiolol was tested to improve hemodynamics and/or abnormal circulatory state in splanchnic circulation occurred in the present animal model. However, no significant effect was observed during the study period at any dosage of landiolol.

研究分野：救急医学

キーワード：敗血症ショック ノルアドレナリン ランジオロール 上腸間膜静脈血流 空腸粘膜組織血流

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

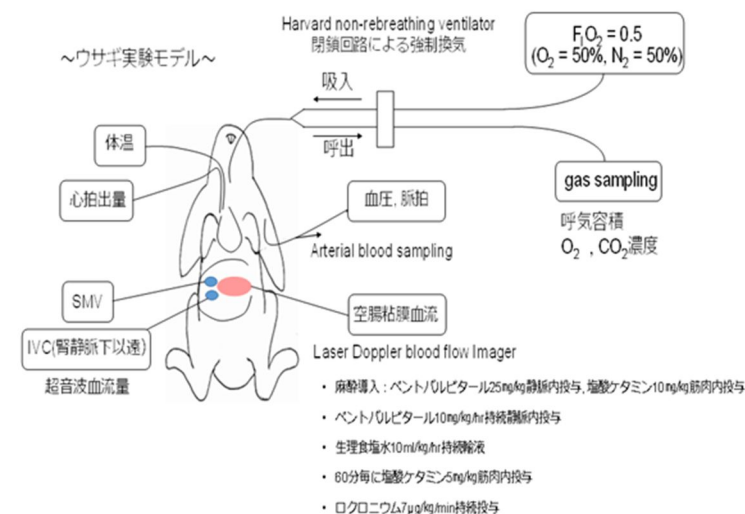
敗血症時に生じる致命的な循環異常の病態生理として、末梢血管抵抗の病的減弱による血圧低下・血流分布異常と、組織酸素代謝異常の発生がある。一部の末梢血管が、血管収縮薬抵抗性の調節麻痺をきたし、昇圧薬全身投与により臓器・組織血流分布の不均衡を来たすためと考えられている。現在の医療では、各種血管収縮薬を持続投与することによって末梢血管抵抗の制御を試みるが、目的とする昇圧効果を得るために要する血管収縮薬の投与量が多くなり、結果としてしばしば意図せぬ臓器虚血の助長をまねき、臓器不全発生を招く悪循環を形成する。2005年頃より心血管作動薬の多量投与を要し頻拍を来たした敗血症ショック例に選択的 1 遮断薬を持続投与することで有害作用なく循環動態を改善する効果があるとする報告が散見されるようになった。近年では、規模の小さい研究ではあるが、刺激薬であるノルアドレナリン(NAD)持続投与を必要とする敗血症ショック臨床例に選択的 1 遮断薬を経静脈的持続投与することで、生命予後を有意に改善したとする報告もみられる。遮断薬には交感神経系亢奮あるいは心血管作動薬過剰による頻脈性心機能障害を抑制する効果以外にも、糖利用障害抑制などによる酸素代謝異常改善効果、副交感神経機能亢進の一部を再現することによる神経系-炎症反応関連作用による効果など様々な薬理学的作用があるが、いかなる機序によって敗血症症例の予後を改善する可能性があるかについては、未だ全く明らかにはなっていない。我々は、ウサギを用いた実験的敗血症ショックモデルにおいて全身性の酸素代謝異常(酸素利用障害)がおり、その主たる場が腸管循環系であることが強く示唆される新知見を明らかにした(Kuwagata Y, et al. SHOCK 14:193-199, 2000) (Kuwagata Y, et al. SHOCK 18:536-541, 2002) (Kuwagata Y, et al. SHOCK 20:558-564, 2003)。大腸菌 0111 由来の endotoxin(LPS)1mg/kg を静脈内投与したウサギは、約 30 分後に心拍出量低下を伴った血圧低下(hypodynamic shock)期を経たのち、90 分後以降約 120 分間以上血圧低下、心拍出量正常～増加の敗血症 hyperdynamic shock 期を再現する。このモデルでは、臓器別の血流分布をリアルタイムに観察可能で、時間的・空間的な血流分布/組織代謝異常の発生がすでに同化されており、敗血症臨床例の臓器不全発症をよく模倣している。この hyperdynamic shock 期に、腸管など腹腔臓器血流を灌流する上腸間膜静脈血流は増加する一方、小腸粘膜血流は逆説的に減少しており、粘膜下組織以下の血管抵抗減弱と、シャント様血流の存在が示唆される。重要なのは、敗血症臨床例の hyperdynamic 血行動態変化と臓器不全発症につながる臓器血流異常を、LPS 単独投与で再現するモデルである点、かつ vasoplegia 発生の主たる場が腸管循環系と推測される傍証が既知である点であり、我々は、本研究の目的を達成するために最適な実験系を備えている。

2. 研究の目的

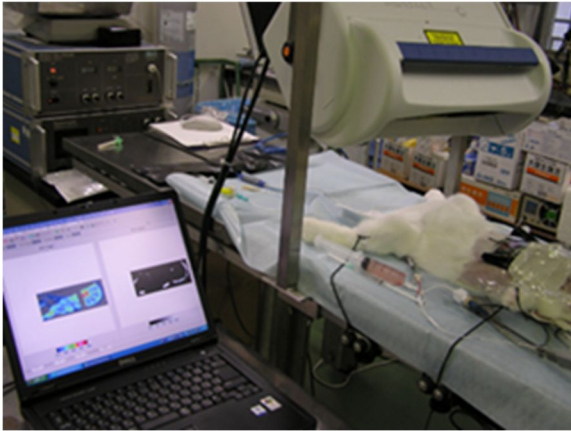
敗血症性ショック時に、各種血管収縮薬を持続投与することによって末梢血管抵抗の制御を試みるが、目的とする昇圧効果を得るために要する血管収縮薬の投与量が多くなり、結果としてしばしば意図せぬ臓器虚血の助長をまねき、臓器不全発生を招く悪循環を形成する。2016年日本版敗血症診療ガイドラインでは、敗血症ショックに対する循環作動薬はNADが第1選択薬とされている。しかし、臨床の現場でNADを必要とする敗血症ショック患者が腸管粘膜血流の低下を来し非閉塞性腸管虚血症の経過をたどることをしばしば経験する。

ウサギ敗血症ショックモデルにおいて、刺激薬であるNADがもたらす変化を平均動脈血圧(mean arterial pressure: MAP)・脈拍(heart rate: HR)・心拍出量(cardiac output)・上腸間膜静脈(superior mesenteric vein: SMV)・空腸粘膜組織血流を測定し、敗血症ショック時にNADが腸管循環系に与える変化を評価することを目的とする。また、選択的 1 遮断薬ランジオロールを投与し同様の評価を行う。

3. 研究の方法



本研究のうち、動物を用いた実験については、関西医科大学動物実験規定第4条に基づいて動物実験委員会に承認を受けた動物実験計画書17-060、18-029、19-054に従って実施した。New Zealand White Rabbitを耳静脈よりペントバルビタール25mg/kg静脈内注射で麻酔導入後、塩酸ケタミン10mg/kg筋肉内投与で麻酔、以降ペントバルビタール10mg/kg/hrの持続投与で鎮静を維持する。鎮痛に関しては塩酸ケタミンを1時間おきに5mg/kg筋肉内注射とする。筋弛緩剤においては、ロクロニウム7µg/kg/minを



静脈内持続投与とする。耳動脈より動脈ラインを確保し動脈圧モニターと採血用とする、気管切開ののち調節呼吸($FiO_2=0.5$, $O_2=50\%$, $N_2=50\%$)とし、一側頸動脈より検出用サーミスタプローブを留置し熱希釈法による心拍出量測定用とする。剣状突起下で横切開に開腹とし、脾静脈合流以遠の上腸間膜静脈を剥離し、超音波血流プローブ 3 mm径を装着し血流量を持続モニタリングする。単位長の小腸を選択、粘膜面を露出し、表面をプラスチックフィルムで被覆し腹壁面で固定、レーザードプラー表面スキャンにより腸粘膜血流スキャンを行う。ノルアドレナリンは $2\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{min}$ で投与を開始し、以下のコントロール群、LPS 群、

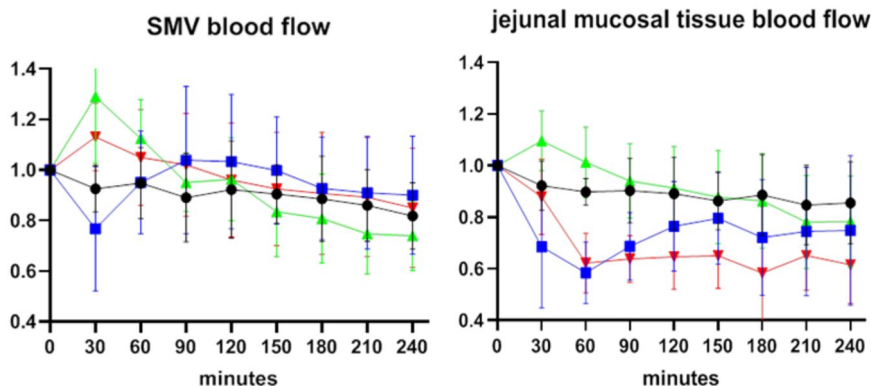
NAD 群、LPS+NAD 群の 4 群をを作成する。($n = 8$, each)。S 群は、上記処置ののち 45 分の stabilization 期間を経て、baseline 値として平均動脈圧、心拍数、心拍出量、上腸間膜静脈血流量、空腸粘膜組織血流量、動脈血ガス分析、小腸 Laser Doppler scan による組織血流量の測定を行う。LPS $1\text{ mg}/\text{kg}$ を静脈内投与する。($\text{time}0$)。240 分まで 30 分毎に各項目を測定し局所血流と酸素消費量との関係性を解析する。ランジオロールに関しては、Baseline 測定後にランジオロール(100)を経静脈的に持続投与するランジオロール群と LPS + ランジオロール群を作成した。実験期間中は、生理食塩水 $10\text{ ml}/\text{kg}/\text{hr}$ を経静脈的に持続投与し、維持輸液とした。実験終了後は、ペントバルビタール過量投与により、安楽死とした。統計に関しては、NAD、LPS、時間での 3 元配置の分散分析を使用し検討した。有意差は $P < 0.05$ とした。

4. 研究成果

主な測定項目の baseline 値から 240 分値までの経過を、baseline 値からの変化比率 (実験測定値 / baseline 値の各群平均値) で図示した。本研究では、LPS 群で認められた MAP の低下は NAD (2.0) 投与で抑制された。CO は 4 群とも時間経過とともに低値を示した。SMV 血流は、LPS 投与で一時的に低下するがその後上昇に転じる。LPS 投与後に NAD を持続静脈内投与することで、一過性に低下した SMV 血流を増加させ、SMV 血流はコントロール群に比べ低値を示さない。空腸粘膜組織血流は、LPS 群で SMV 血流を反映して一過性に低下し、その後上昇に転じるが、LPS+NAD 群では、SMV 血流の低下は認めないが空腸粘膜組織血流は低値が継続した。

LPS + NAD 群では、SMV/CO では上昇し、空腸粘膜組織血流/SMV では低値を示した。また、空腸粘膜組織血流において、90 分から 180 分での NAD と LPS の 3 元配置の分散分析の結果、NAD と LPS の交互作用の結果が P 値 = 0.033 であり、交互作用の存在が示された。

本ウサギ敗血症ショックモデルにおいては LPS の投与により CO が維持されながら 240 分に至るまで遷延する MAP の低下をしめす。すなわち敗血症ショックにおける末梢血管抵抗減弱型血行動態を再現している。この際、SMV 血流は LPS 投与後早期に一過性低下を示すものの 90 分以降は対照値またはそれ以上を示しており、腸管循環系に生じる病的末梢血管抵抗減弱がこのショックモデルの主たる要因の一つを形成している。一方で空腸粘膜血流は LPS 投与後低値で遷延し、SMV 血流変化にかかわらずに粘膜虚血が進行する病態を示唆している。これに対して、MAP 低下を来さない量の NAD 持続静脈内投与を行い、MAP を対照レベルで維持すると、SMV 血流量は LPS 単独時とほぼ同様の推移を示しながら CO が漸減する推移を示した。この際、LPS + NAD 群では、顕著な空腸粘膜組織血流低値を示し、LPS 単独群とほぼ同様であった。すなわち、LPS 投与下のウサギ敗血症性ショックモデルにおいて NAD 持続静脈内投与は、腸管循環系の血管抵抗を是正し、かつ MAP を是正する効果を有するが、空腸粘膜血流低下を是正しない、またはさらに低下させる効果を有し、腸管虚血を来す可能性が示された。



SMV blood flow/CO

jejunal mucosal blood flow/SMV blood flow

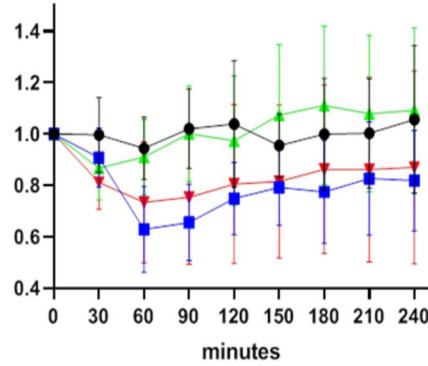
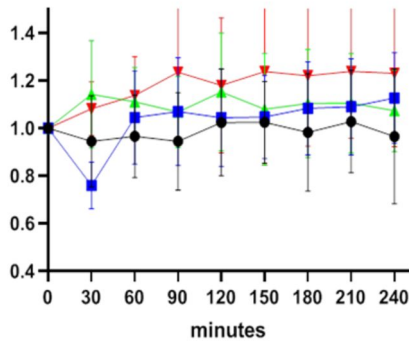
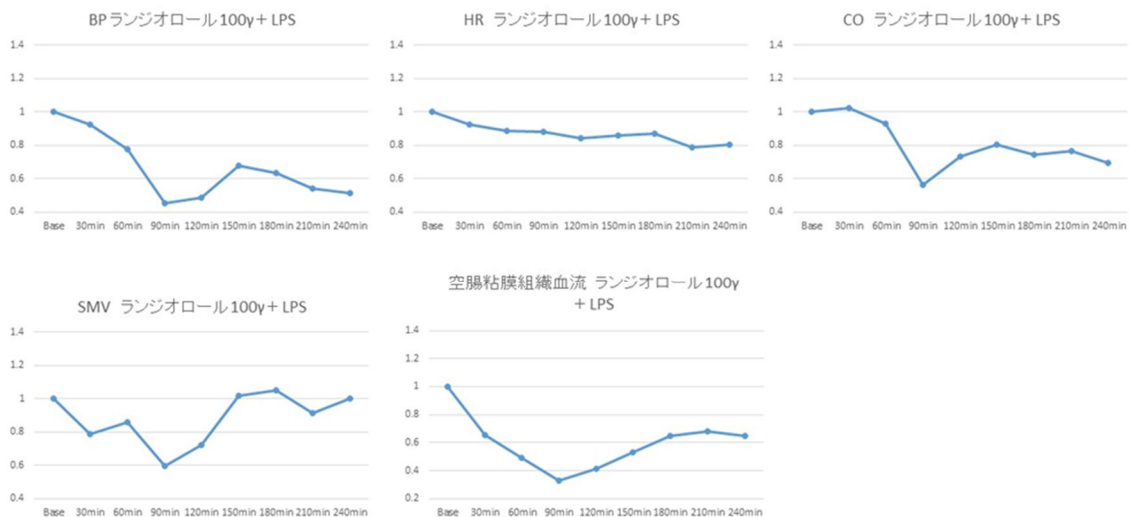


図 ； control group (n=8), ； LPS group (n=8), ； NAD group (n=8), LPS+NAD group (n=8). The error bars represent SD.

2元配置分散分析で NAD の有無、LPS 投与の有無による各群平均値間の有意差を認めなかった。3元配置分散分析では、空腸粘膜組織血流において、LPS 投与後 90 分後から 180 分後にかけて NAD と LPS の有意な交互作用の存在が示唆された ($P=0.033$)。

ランジオロールに関しては、ランジオロールの投与適正量を確認するため 5 から 300 投与し、BP、HR、CO、SMV、空腸粘膜組織血流を測定し NAD の適正量がヒトの 10 倍量の 2 であったため、ランジオロールについても 100 と決め、n=2 で 240 分まで BP、HR、CO、SMV、空腸粘膜組織血流を測定したが、BP の baseline から 240 分まで 85mmHg、77.5mmHg、73.5mmHg、64.5mmHg、56.5mmHg、56mmHg、54mmHg、59.5mmHg、56mmHg と時間経過とともに低下し、HR、CO、SMV、腸管血流についても BP の低下とともに同様に低下を示した。ランジオロール 100 に LPS1 mg/kg を投与すると、BP の baseline から 240 分まで 68mmHg、63mmHg、53mmHg、31mmHg、33mmHg、46mmHg、43mmHg、37mmHg、35mmHg と 90 分で最低値をしめその後いったん回復をしめす。CO、SMV、空腸粘膜組織血流も同様の経過を示した。これらの各経過を以下に図示する。たが、ランジオロールを増量しても BP、HR、CO、SMV、空腸粘膜組織血流に変化は認めなかった。



ランジオロール持続静脈内投与の適正值決定に検討の余地が残るものの、期待された腸管循環系への作用、空腸粘膜血流改善効果などは観察されず、本モデルにおける選択的 遮断薬の治療薬としての可能性は、今回の研究期間において見いだせなかった。

本研究では、残念ながら選択的 遮断薬の治療効果を見いだせなかったが、敗血症ショック例でしばしば見られる深刻な合併症である非閉塞性腸管虚血の成因に、臨床の現場で第一選択となっている昇圧剤 NAD が関与している可能性を指摘した。本モデルは臨床を近似したマクロ生理学モデルであり、敗血症時の腸管循環系血行動態異常や、ひいては非閉塞性腸管虚血症をきたす機序を解明するための格好のツールとなり得ることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakamura Fumiko, Yui Rintaro, Muratsu Arisa, Onoe Atsunori, Nakajima Mari, Takahashi Hiroki, Kishimoto Masanobu, Sakuramoto Kazuhito, Muroya Takashi, Kajino Kentaro, Ikegawa Hitoshi, Kuwagata Yasuyuki	4. 巻 6
2. 論文標題 A strategy for improving the prognosis of non occlusive mesenteric ischemia (NOMI): a single center observational study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acute Medicine & Surgery	6. 最初と最後の頁 365 ~ 370
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ams2.422	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔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 室谷卓、鎌方安行
2. 発表標題 ウサギ敗血症性ショックモデルに対するノルアドレナリンの腸管循環系への作用
3. 学会等名 日本救急医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 室谷卓、鎌方安行
2. 発表標題 ウサギ敗血症性ショックモデルに対するノルアドレナリンの腸管循環系への作用
3. 学会等名 日本救急医学会
4. 発表年 2019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	室谷 卓 (MUROYA Takashi) (20528434)	関西医科大学・医学部・講師 (34417)	
研究分担者	池側 均 (IKEGAWA Hitoshi) (80379198)	関西医科大学・医学部・准教授 (34417)	