様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　元 年　 ５ 月 １５ 日現在

機関番号：２１６０１
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2017～2018
課題番号：１７Ｋ１７０６１

研究課題名（和文）酸素ナノバブルの経気管投与における抗炎症作用に関する検討

研究課題名（英文）Anti-inflammatory effect of transtracheal administration of oxygen nanobubble

研究代表者

吉田　圭佑（Yoshida, Keisuke）

福島県立医科大学・医学部・病院助手

研究者番号：００７６９５７３

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　2,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、急性肺障害モデル（ARDSモデル）ラットに対し、酸素ナノバブルの抗炎症作用を調査するための研究である。当初は経気管的投与の効果を調査したが、経気管投与では、ARDSモデルラットの動脈血酸素飽和度（PaO2）や平均動脈圧（MAP）の有意な改善が見られなかったため、経静脈的投与の検討に移行した。
酸素ナノバブル群、生理食塩水群ともに6匹ずつのデータと血液を採取した。MAPは酸素ナノバブル群で、ARDS作成から約4時間後で高い傾向が見られた。また、炎症性サイトカインを測定したところ、IL-6、TNF-αで酸素ナノバブル群でわずかに低い傾向が見られた。今後は有意差があるかを検討する。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究の独創的な点は、酸素ナノバブルに注目した点である。難治性であるARDS治療において、酸素ナノバブルの使用を試みた研究は現時点でない。今回の研究で、経気管的投与によるARDS改善は見られなかったが、経静脈的投与による改善の可能性は残されていることが分かった。今後経静脈的な酸素ナノバブルの有効性を検討することで、将来的にARDSの治療の選択肢を広げることができる可能性がある。

研究成果の概要（英文）： The aim of this study is to investigate anti-inflammatory effect of oxygen nanobubbles on acute lung injury model (ARDS model) rats. Initially, the effects of transtracheal administration were investigated, however transtracheal administration did not significantly improve arterial blood oxygen saturation (PaO2) or mean arterial pressure (MAP). Therefore, we shifted to investigate the effect of intravenous administration as pilot study.
Data and blood of 6 rats were collected in each of the oxygen nano bubble group and the saline (control) group. The MAP showed a tendency to increase in the oxygen nano bubble group at 4 hours after from ARDS creation. In addition, when inflammatory cytokines were measured, there was a tendency that IL-6 and TNF-α was slightly lower in the oxygen nanobubble group. We will examine whether there is a significant difference in the future.

研究分野：集中治療医学

キーワード：酸素ナノバブル　ARDS

１．研究開始当初の背景

急性呼吸窮迫症候群（以下 ARDS）は現在においても死亡率が高く、決め手となる治療法が確立していない。病因は外傷・感染症・急性中毒・悪性腫瘍など様々であるが、その中でも敗血症によって二次的に発生する ALI/ARDS が重要である。敗血症は感染によって生じる全身性炎症反応症候群であり、サイトカインや炎症性分子の過剰産生により臓器障害を引き起こす。特に肺組織は炎症性物質の標的になりやすい臓器であり、有効な治療が行われなければ致命的な呼吸不全へ進行する。これまでに肺の炎症反応の進行を抑制するための治療法として、ステロイド投与、一酸化窒素吸入などが検討されたが結論には至っていない。Kawamae らは、塩酸投与によるラット急性肺障害モデルを作成し液体換気に使用される perfluorocarbon(PFC)を経気管的に投与したところ、炎症性サイトカイン産生を抑制する働きがあることを示した 4）が、PFC の安全性は未だ確立していないため実用化には至っておらず、生体にとって安全でありかつ強力な抗炎症作用を有する物質の発見が期待されてきた。

ナノバブルは直径 100 nm 前後の極微小な気泡であり、本来物理的に不安定であり長時間安定させることが困難であったが、イオン水のなかで作成することで安定化させることができるようになった。ナノバブルに関する研究の歴史はまだ浅く、その作用は不明な点が多い。どのような物質でナノバブルを形成するかにより作用が異なり、医学の分野では酸素ナノバブルとオゾンナノバブルが期待されている。酸素ナノバブルは抗炎症作用が強く、動脈硬化抑制に関する研究がされているが、ナノバブルを集中治療分野に応用する研究は世界的にもまだされていない。われわれは、酸素ナノバブルの強力な抗炎症作用に着目し、ARDS 治療法としての可能性を検証すべく本研究の着想に至った。

２．研究の目的

急性呼吸窮迫症候群（ARDS）は現在においても死亡率が高く、有効な治療法の確立が望まれている。近年様々な分野で注目されている酸素ナノバブルは、抗炎症作用も有しており、われわれは酸素ナノバブルは ARDS に対して有効であるという仮説を立てた。本研究の目的は、急性肺障害モデルラットに酸素ナノバブル水を経気管投与し、動脈血酸素分圧・サイトカイン濃度の変化・肺の組織学的変化を経時的に観察することによって、酸素ナノバブルの経気管投与が ALI/ARDS の治療に有効か否かを実証することである。酸素ナノバブル水経気管投与の有効性・安全性が実証されれば、ARDS や他の肺疾患治療への応用も期待できると考えている。

３．研究の方法

本研究では ARDS のモデルとして、塩酸を用いた急性肺障害ラットモデルを用いる。麻酔下に気管切開を行って気管挿管し、人工呼吸を行い、塩酸を気管内に投与して ARDS モデルを作成する。対照群とナノバブル群に分け、ナノバブル群には酸素ナノバブル水を経気管的に投与する。

急性実験では、その後経時的に動脈血を採取し、酸素分圧と炎症性サイトカインの測定を行い、2 群間の差を調べる。亜急性実験では、ARDS モデルを作成し、酸素ナノバブル水を投与した後、ラットを覚醒させ人工呼吸を離脱する。1，2，7 日後に肺洗浄を行い、洗浄液中のサイトカインを測定するとともに、肺組織を染色し形態学的変化について評価する。

亜急性実験では、急性期と同様の麻酔導入後、14G 針を使用して気管内挿管を行う。その後、人工呼吸を開始する。呼吸条件は急性期実験と同様である。1 時間人工呼吸した後に塩酸（pH1.5）を経気管投与する。投与方法は急性期実験と同様である。対照群は人工呼吸を継続し、ナノバブル群は急性期実験と同様の方法で酸素ナノバブル水を投与する（対照群は、ナノバブル水と同量の生理食塩水を投与)。両群ともに、自発呼吸が十分に再開し、体動が活発になるまで人工呼吸を継続した後に抜管し人工呼吸から離脱する。24、48 時間、7 日間経過観察した後に、麻酔・気管挿管下に肺洗浄を行い、洗浄液中のサイトカインを測定する。また、肺組織を摘出して形態学的変化を観察する。

４．研究成果

ラットの気管内に塩酸を投与することで急性肺障害モデル（ARDS モデル）を作成し、酸素ナバブルの経静脈的投与の効果を調査するための実験を行った。当初は、酸素ナノバブルの経気管的投与の効果を調査することを目標としたが、経気管投与では、ARDS モデルラットの動脈血酸素飽和度（PaO2）や平均動脈圧（MAP）の有意な改善が見られなかったため、パイロット実験として経静脈的投与の検討に移行した。至適な ARDS モデルを作成するために、気管内に塩酸を投与し、至適な塩酸の量を検討することから始め、最終的にラットの体重あたり 0.4 ml/kg の塩酸を投与し、ARDS モデルとした。

また、経静脈的に酸素ナノバブルまたはコントロールとして生理食塩水を投与することとしたが、輸液速度の条件の検討を行い、最終的に尾静脈から 8ml/kg/h の速度で 1 時間投与し、その後 4 ml/kg/h の速度とした。

上記の条件で、酸素ナノバブル群、生理食塩水（コントロール）群ともに 6 匹ずつのデータと血液を採取した。MAP は酸素ナノバブル群で、ARDS 作成から約 4 時間後で高い傾向が見られた（図 1)。

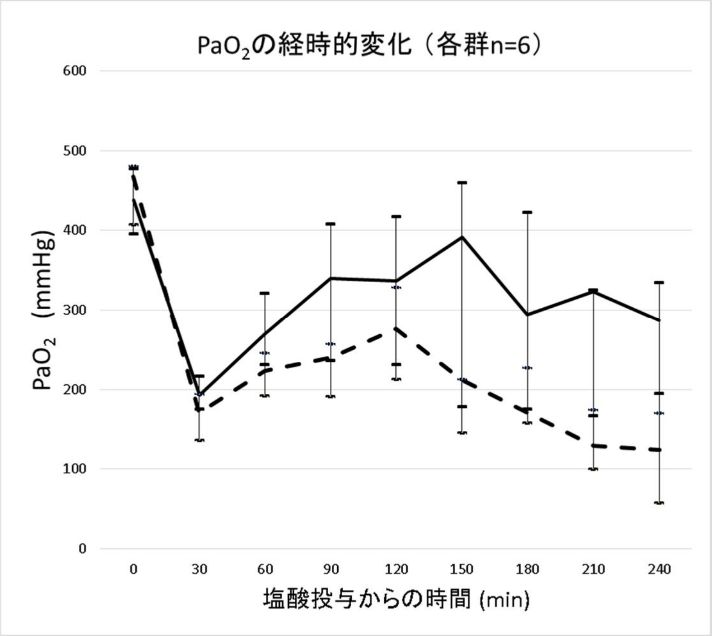

図１：動脈血酸素飽和度（PaO2）の経時的変化

実線のグラフは酸素ナノバブル群、破線のグラフはコントロール群を示す。グラフは中央値、エラーバーは四分位範囲を示す。

また、血清サイトカインの測定として、インターロイキン（IL）１β、IL-10、IL-6、TNF-αの４種類を測定したところ、IL-6、TNF-αでわずかに酸素ナノバブル群で低い傾向が見られた（図 2)。次年度は、より効果的な酸素ナノバブルの投与速度などを検討し、酸素ナノバブル経静脈的投与の有効性を調べていく予定である。

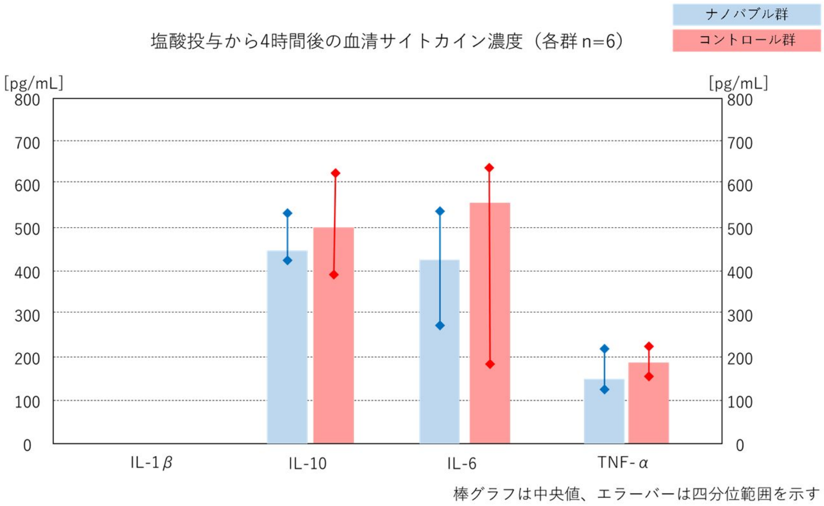

図２：塩酸投与から４時間後の血清サイトカイン濃度

IL-1βは、両群とも低値であった。

当初予定していた亜急性実験の実行までには至らなかった。今後亜急性実験の実行を予定している。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計　０　件）

〔学会発表〕（計　０　件）

〔図書〕（計　０　件）

〔産業財産権〕
○出願状況（計　０　件）

○取得状況（計　０　件）

６．研究組織

(1)研究分担者　なし

(2)研究協力者　なし