

平成 21 年 5 月 5 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2008

課題番号：18591705

研究課題名（和文） 新しい酸化ストレスのバイオマーカー：呼気一酸化炭素濃度

研究課題名（英文） A novel biomarker of oxidative stress: Exhaled CO concentration

研究代表者

松三 昌樹（MATSUMI MASAKI）

岡山大学・医学部・歯学部附属病院・准教授

研究者番号：70219476

研究成果の概要：

医学の発達により心臓や肝臓などに対する侵襲の大きな手術が行われるようになってきた。しかし、手術自体が成功しても、その後、呼吸不全・腎不全などの多臓器不全に陥って死亡する症例が後を絶たない。本研究では、ストレスにより細胞内に誘導される蛋白Heme Oxygenase-1 (HO-1)の酵素反応産物である一酸化炭素 (CO) が呼気に排出され、これが臓器不全の指標となり治療に応用できる可能性を示した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,100,000	0	1,100,000
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	690,000	4,090,000

研究分野：麻酔・蘇生学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：麻酔学・周術期管理学・蘇生学

1. 研究開始当初の背景

周術期管理学の発達にも関わらず術後の多臓器機能不全 (Multiple Organ Dysfunction Syndrome: MODS) の死亡率は依然として高く、しかもその治療には膨大な医療費が費やされる。しかし、MODS に対して現在適切な治療がなされているとは言い難い。その原因の一つとして病態を的確に捉える指標が無いことがあげられる。MODS の病態にはこの活性化された好中球が発生するフ

リーラジカルによる酸化ストレスが細胞傷害の最終攻撃因子大きな役割を果している。一方、酸化的ストレスより全身臓器にストレス蛋白：Heme Oxygenase-1 (HO-1) が誘導される。HO-1 はその酵素反応によりヘムを分解し、一酸化炭素 (CO)、ビリルビンを生成する。したがって生体内では微量ではあるが CO が産生されている。この内因性の CO は細胞から血中に遊離し CO ヘモグロビンとなって肺に

運ばれ、呼気から排出される。以上より、研究者らは呼気 CO 濃度が MODS を含む重症病態における酸化ストレスの新しいバイオマーカーになるのではないかと着想した。

2. 研究の目的

(1). 岡山大学医学部歯学部附属病院集中治療部入室の人工呼吸中の MODS 症例を対象に、新たに開発された呼気 CO 濃度測定装置を用いて呼気 CO レベルを測定し、同時に血中 CO ヘモグロビンと血清ビリルビン濃度を調べる。その結果、これらの指標が MODS 症例で上昇し、かつ呼気 CO レベルと CO ヘモグロビン・ビリルビン間に正の相関があることを明らかにすれば、MODS 症例における呼気 CO レベルの上昇が内因性 HO-1 のヘム分解反応によるものであることが示唆される。

(2). 実際に内因性 HO-1 発現の増加が呼気 CO レベルの増加につながっていることを明らかにするために、MODS 症例の末梢血単球を分離し、HO-1 の発現を調べ、呼気 CO レベルと正の相関を示すことを明らかにする。

3. 研究の方法

(1). 対象：岡山大学医学部・歯学部附属病院集中治療部に入室した SOFA score 6 点以上でかつ人工呼吸中の MODS 30 症例。コントロール群としては、Volunteer の健康成人 30 人とする。

(2). 呼気 CO レベル：連続呼気 CO 濃度測定装置（カーボライザー™mBA-2000）を用い、気管内チューブよりの Side-stream sampling にて測定。コントロール群もマスク CPAP 下にて測定する。

(3). 血中 CO-ヘモグロビン濃度：動脈血を採取し、血液ガス分析装置にて測定

(4). 血清ビリルビン濃度：動脈血 5ml を採取し血清を分離し、本学附属病院中央検査部にて測定。

(5). HO-1 mRNA レベルの測定：血液 10 ml を採取し密度勾配遠心法で単球を分離後、AGPC 法で Total RNA を精製し、RT-PCR 法で HO-1 mRNA level を測定する

(6). Control 群に比べ、MODS 群では、呼気 CO レベル、血清ビリルビン濃度、血中 CO-ヘモグロビン濃度、単球 HO-1 mRNA レベルが有意に高値を示すこと、また、呼気 CO レベルと血清ビリルビン濃度、血中 CO-ヘモグロビン濃度、単球 HO-1 mRNA の間に正の相関関係が見られ、この相関関係が呼吸条件によらないことを証明する。

(7). 本研究では、ヒト由来の試料を採取すること、また、単球の遺伝子発現を検討するため、岡山大学倫理委員会にプロトコルを提出し、審査、承認後、患者本人あるいは家族の Informed Consent を得た後、研究を行う

4. 研究成果

申請者らは、岡山大学医学部歯学部附属病院集中治療部入室の人工呼吸中の重症 29 症例を対象に、呼気 CO レベルを測定し、同時に血中 CO ヘモグロビンと血清ビリルビン濃度を調べた。

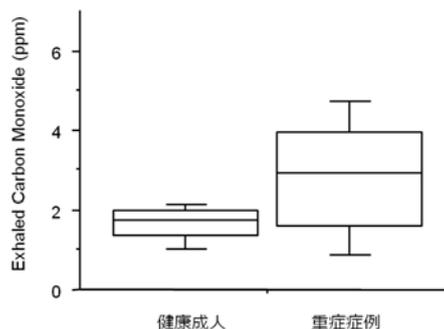


図1 重症症例の呼気CO濃度は健康成人に比べて有意に高い(文献22より改変引用)

その結果、これらの指標が MODS 症例で上昇し(図1)、かつ呼気 CO レベルと CO ヘモグロビン・ビリルビン間に正の相関があることを

明らかとなった。また、総ビリルビンより間接ビリルビンの方がより相関し、内科系症例が外科系症例に比べてより良い相関を示した(図2)。

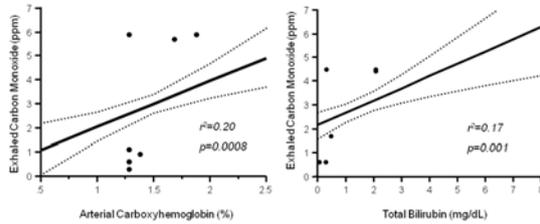


図2 呼気CO濃度は血中のCO-ヘモグロビン値のみならずもう一つのヘム分解反応産物である血清ビリルビン値とも正の相関を示した

このことより、重症症例における呼気COレベルの上昇が内因性HO-1のヘム分解反応によるものであることが示唆された。重症症例における呼気CO濃度の増加が内因性のヘム分解反応によることを明らかにしたのは、本研究が世界で最初である(図3)。

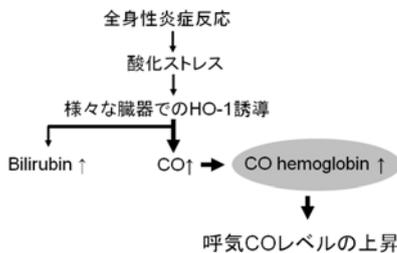


図3 傷損による全身性炎症反応は酸化ストレスを引き起こす。酸化ストレスにより誘導されたストレス蛋白HO-1は内因性にCOを産生し呼気COレベルの上昇をもたらす。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

(1). Takahashi T, Shimizu H, Morimatsu H, Maeshima K, Inoue K, Akagi R, Matsumi M, Katayama H, Morita K. Heme Oxygenase-1 is an Essential Cytoprotective Component in Oxidative Tissue Injury Induced by Hemorrhagic Shock. *J Clin Biochem Nutr*, 44: 28-40, 2009 (査読有)

(2). Shimzu K, Takahashi T, Iwasaki T, Shimizu H, Inoue K, Morimatsu H, Omori E, Matsumi M, Akagi R, Morita K. Hemin treatment abrogates monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Med Chem*, 4: 572-6, 2008. (査読有)

(3). Matsusaki T, Morimatsu H, Takahashi T, Matsumi M, Sato K, Kaku R, Sato T, Takahito Yagi, Tanaka N, Morita K. Increased exhaled carbon monoxide concentration during living donor liver transplantation. *Int J Mol Med*, 21: 75-81, 2008 (査読有)

(4). 松三昌樹. 生体肝移植後のfast-track管理. *日集中医誌*, 15:350-1, 2008.

(5). Takaki A, Suzuki H, Iwasaki Y, Takigawa T, Ogino K, Matsuda H, Yagi T, Hanazaki M, Nakatsuka H, Katayama H, Matsumi M, Shoji B, Terada R, Kobashi H, Sakaguchi K. A 27-year-old man who died of acute liver failure probably due to trichloroethylene abuse. *J Gastroenterol*, 43:239-42, 2008. (査読有)

(6). 松崎 孝, 森松博史, 高橋 徹, 林真雄, 佐藤哲史, 佐藤健治, 清水裕子, 松三昌樹, 森田 潔: 生体肝移植術中呼気一酸化炭素濃度の動態とその意義について, *日本Shock学会雑誌*, 23: 85-89, 2008 (査読無)

(7). 井上一由, 高橋 徹, 井戸佳奈, 清水裕子, 森松博史, 前島亨一朗, 松三昌樹, 片山 浩, 森田 潔: ラット出血性ショック後急性肺傷害に対するウリナスタチンの治療効果, *日本Shock学会雑誌*, 22: 96-99, 2007 (査読無)

[学会発表] (計 4 件)

- (1). 松三昌樹, H0-1 は出血性ショックによる自然免疫系の活性化を抑制し腸管を保護する. 日本エンドトキシン研究会 2008年10月25日 仙台市 長陵会館
 - (2). Matsumi M, Peak Exhaled Carbon Monoxide Concentration and Hyperbilirubinemia after Liver Transplantation, American Society of Anesthesiologists 2007 Annual Meeting, October 15, 2007 San Francisco, CA, USA
 - (3). Matsumi M, Increased exhaled carbon monoxide concentration during living donor liver transplantation, The 5th International Congress Heme Oxygenases, September 7, 2007 Krakow, Poland
 - (4). Matsumi M, Peak Exhaled Carbon Monoxide Concentration After Reperfusion Influenced Hyperbilirubinemia Early after Liver Transplantation American Transplant Congress 2007, May 8, 2007, San Francisco, CA, USA
- [図書] (計 3 件)
- (1). 賀来隆治, 松三昌樹, 片山浩. 臓器移植手術の緊急麻酔 B. 肝臓移植について. 緊急麻酔の心得—ここが肝心・おさえどころ!—. 池田編, 克誠堂出版, 東京, pp197-208, 2008
 - (2). 高橋 徹, 森松博史, 松崎 孝, 清水裕子, 井上一由, 井戸佳奈, 松三昌樹, 片山 浩, 森田 潔: 全身性炎症反応における呼気中一酸化炭素 (CO) 濃度の上昇, (分担)「エンドトキシン研究10 基礎と臨床の最新知見」, 上西紀夫, 小川利久, 小玉正智, 横地高志, 谷 徹編, pp. 65-68, 医学図書出版株式会社, 東

京, 2007

- (3). 高橋 徹, 上原健司, 清水裕子, 井上一由, 藤井洋泉, 松三昌樹, 片山 浩, 森田 潔: 敗血症性多臓器不全におけるストレス蛋白: ヘムオキシゲナーゼ1の発現とその意義, (分担)「エンドトキシン研究9 自然免疫の最前線」, 熊沢義雄, 小玉正智, 横地高志, 谷 徹編, pp. 70-75, 医学図書出版株式会社, 東京, 2006

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松三 昌樹 (MATSUMI MASAKI)
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・准教授
研究者番号: 70219476

(2) 研究分担者

高橋 徹 (TAKAHASHI TOORU)
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・講師
研究者番号: 40252952
森松 博史 (MORIMATU HIROSHI)
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・助教
研究者番号: 30379797
森田 潔 (MORITA KIYOSHI)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 40108171
清水 裕子 (SHIMIZU HIROKO)
岡山大学・医学部・客員研究員
研究者番号: 80423284