

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：33111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08926

研究課題名(和文)重症呼吸器疾患に対する補助循環治療効果を明確にする - 小動物モデルでの検討 -

研究課題名(英文)The effectiveness of V-V ECMO treatment for severe respiratory failure

研究代表者

藤井 豊 (Fujii, Yutaka)

新潟医療福祉大学・医療技術学部・准教授

研究者番号：20589303

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は小動物を用い呼吸器疾患モデルにV-V ECMOを導入し評価することで、治療中の病態メカニズムを解明し適切な補助循環による治療法を提案することを目的に取り組んだ。

実験結果から短時間での人工呼吸器(陽圧強制換気)管理においても形態学的に傷害を受けることが確認できた。これは積極的な呼吸補助ECMOの導入も視野に入れることを臨床現場に提案することにつながると考えている。また、呼吸器疾患モデルにECMOを導入することで、血液ガスデータの改善が確認できV-V ECMOの有効性を確認することができた。一方で、体外循環であるV-VECMOが臓器局所で炎症反応を増大させる悪影響も観察することが出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重症呼吸器疾患に対する補助循環治療は国内では一部の限られた施設でのみ実施されているのが現状である。この理由はV-V ECMO治療経験の少なさ、具体的な治療戦略が確立されていないことなどが挙げられる。今回のCOVID-19のパンデミックでもこの状況は露呈した。さらに、V-VECMOに関する研究は、臨床成績データ報告に留まっており基礎研究は世界的に見ても極めて少ない。この状況で、本研究でV-V ECMO治療中の病態変化を観察できたこと、今後の呼吸器疾患に対する治療方針の決定に貢献できる成果であったと考える。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to elucidate the pathological mechanism during treatment and propose a treatment method by appropriate assisted circulation by introducing and evaluating V-V ECMO in a respiratory disease model using small animals.

From the experimental results, it was confirmed that the patient was morphologically injured even in the management of the ventilator (positive pressure forced ventilation) in a short time. We believe that this will lead to the proposal to clinical practice to consider the introduction of active respiratory support ECMO. In addition, by introducing ECMO into the respiratory disease model, improvement of blood gas data could be confirmed and the effectiveness of V-V ECMO could be confirmed. On the other hand, it was also possible to observe the adverse effect that V-VECMO, which is an extracorporeal circulation, increases the inflammatory response locally in the organ.

研究分野：循環生理

キーワード：V-V ECMO 体外循環 ARDS 小動物ECMOモデル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

循環動態が破綻した患者に対する補助循環法は世界で年間約8万症例、本邦でも4千症例以上施行されている(ECLS Registry Report 2017)。近年では、経皮的に静脈にカニューレを挿入し脱血を行い、人工肺にて酸素化したのち再び静脈に送血する形式の V-V ECMO (Veno-Venous Extra-Corporeal Membranous oxygenation) が各種人工呼吸療法などで改善が見込めない重症呼吸器疾患に適応され注目を浴びている。しかしながら、この V-V ECMO は比較的新しい手技であり、臨床研究はもちろん基礎研究を含めて世界的に見ても極めて少ない。加えて、実際に呼吸器疾患モデルを用いて V-V ECMO 治療中の病態変化を観察した研究は存在しないことから未解明な事象が多く存在する。さらに、体外循環法全般に言えることだが、患者を救命する一方で、生体に様々な影響を及ぼすことが知られている。血液希釈、血行動態変動や血液の異物接触など多数の因子が複雑に関連し合併症を引き起こすことから、更なる研究が望まれている。しかし、近年、経済的および倫理的観点から中大動物を用いた動物実験は困難になりつつある。このような背景のもと、これまでに我々は再現性の高い小動物体外循環モデルを確立してきた。

2. 研究の目的

本研究では、重症呼吸器疾患に対する補助循環(V-V ECMO)治療効果および回復機序を明確にし、適切な V-V ECMO の条件および人工呼吸器を含めた管理方法を提案することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) V-V ECMO モデルの確立

SD ラット(オス・400-450g)を用いて行う。はじめに、イソフルレンにて麻酔導入および麻酔維持を行う。次に、頸部正中切開後 14 G 留置針を用いて気管挿管を行い、人工呼吸器管理とする。大腿動脈より薬剤の注入ラインおよび動脈圧ラインを確保し、送血管としてポリエチレンカテ - テルを大腿静脈、脱血管としてサーフローカニューレを内頸静脈から挿入し中心静脈に留置し V-V ECMO を確立する。補助流量(ポンプ流量)は、60-70 ml/kg/min を目標とする。コントロールとして手術手技のみを施し、V-V ECMO は導入しない SHAM 群を作製し、循環動態、血液ガスおよび Hb(ヘモグロビン)を比較した。統計処理には Mann-Whitney の対応のない U 検定を用いて行った。

(2) 呼吸器疾患(ARDS)モデルの作製

リポ多糖体(Lipopolysaccharide : LPS)5 mg/kg を気管内投与することで急性呼吸窮迫症候群(ARDS)モデル動物を作製する。

(3) 呼吸器疾患(ARDS)モデルへの ECMO 導入および病態変化を観察

作製した ARDS モデルに実際に V-V ECMO を導入する。循環動態、血液ガスおよび Hb(ヘモグロビン)を比較した。

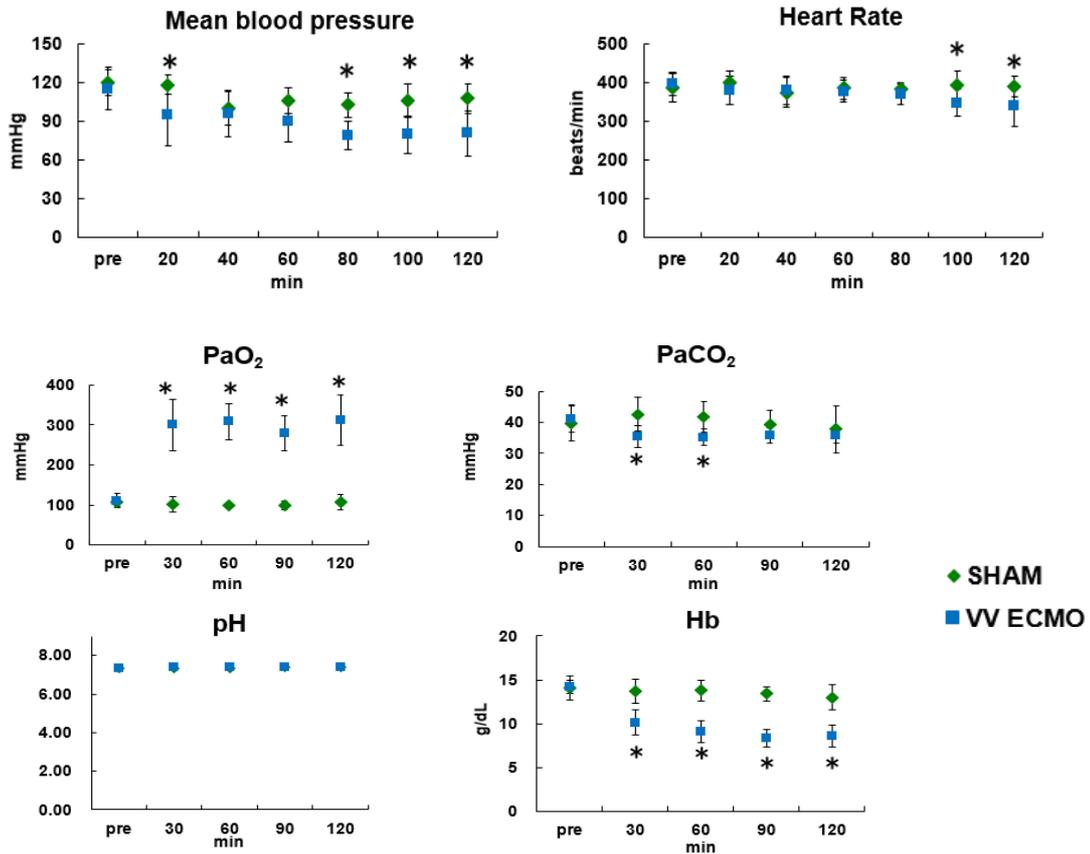
4. 研究成果

(1) V-V ECMO モデルの確立

循環動態は安定し、小動物 V-V ECMO モデルを確立することができた。また Hb は 10 g/dl 前後で推移し無輸血で維持できた。一方で体外循環による影響(血液希釈等)で、SHAM 群に比べると、Hb および血圧は低値を示した。図 1 に今回確立した小動物 V-V ECMO モデル、図 2 に循環動態、血液ガスおよび Hb(ヘモグロビン)を示す。



図 1. 小動物 V-V ECMO モデル

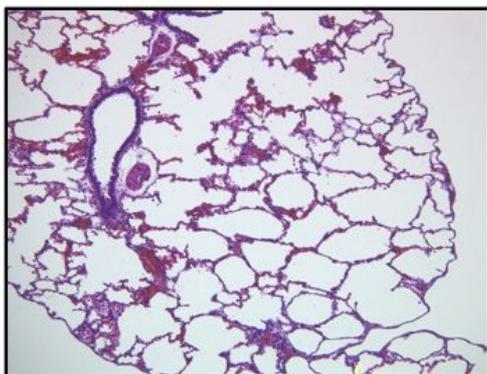


Means ± Standard Error (SE) *P < 0.05 versus SHAM group,

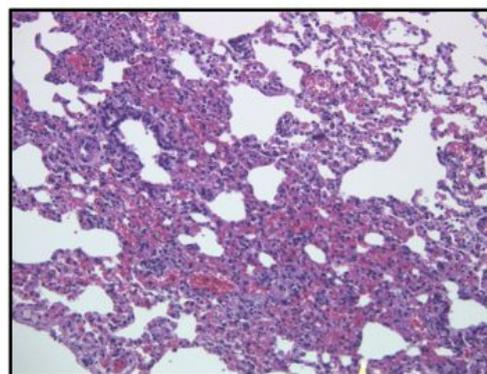
図 2.V-V ECMO 中の各種検査項目

(2) 呼吸器疾患(ARDS)モデルの作製

LPS 5 mg/kg を気管内投与することで、肺の病理評価の結果、肺組織破壊および不規則拡張した気腔散在、肺胞虚脱像が確認できた(図3)。急性呼吸窮迫症候群 (ARDS)モデル動物を作製することが出来たと考えられる。



肺組織破壊、不規則拡張した気腔散在

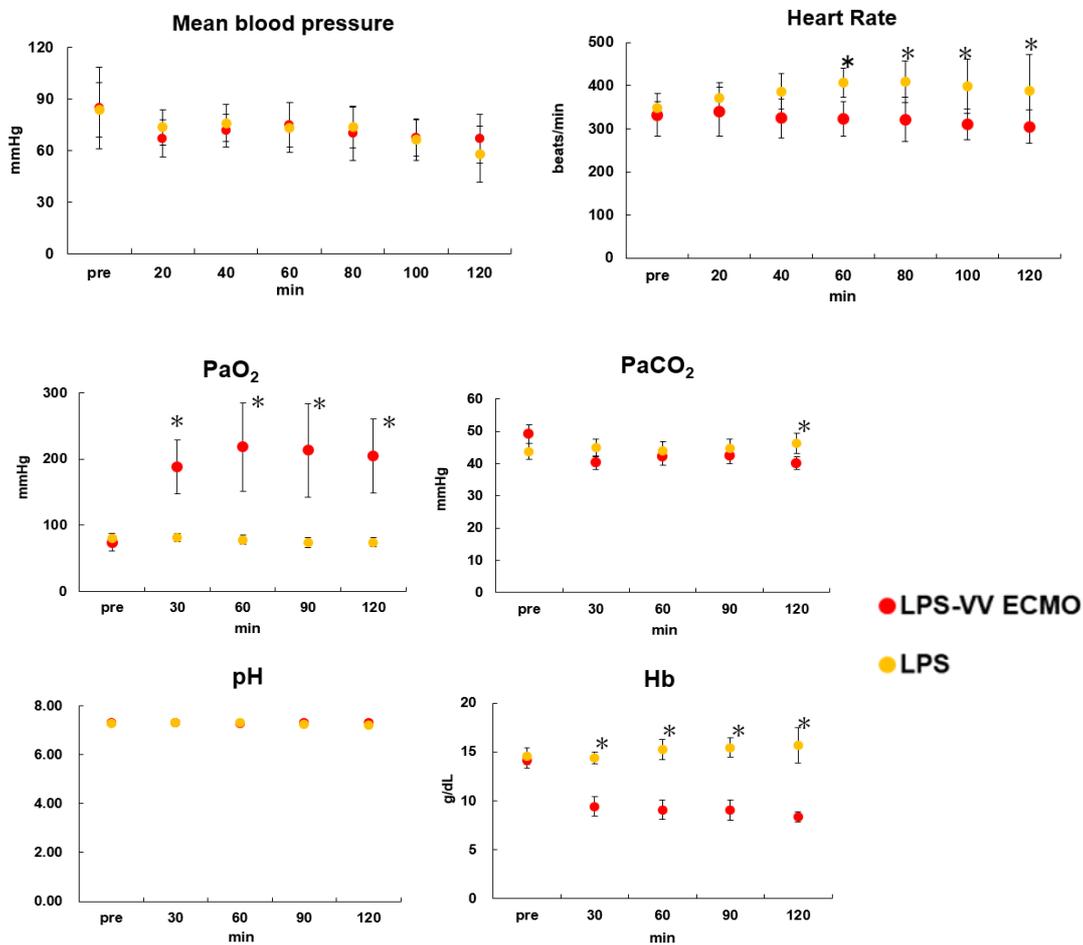


肺胞虚脱

図 3 . LPS 5 mg/kg 気管内投与語の肺病理画像

(3) 呼吸器疾患(ARDS)モデルへの ECMO 導入および病態変化を観察

作製した ARDS モデルに実際に V-V ECMO を導入することに成功した。循環動態、血液ガスおよび Hb を図 4 に示す。大幅な動脈血酸素分圧 (PaO₂) の上昇が確認できた。



Means ± Standard Error (SE) *P < 0.05 versus SHAM group,

図 2. ARDS モデル V-V ECMO 施行中の各種検査項目

(4) まとめ

循環動態が安定した小動物 V-V ECMO を構築することができた。加えて、呼吸器疾患モデルに V-V ECMO を導入し血液ガスを中心に改善することが確認できた。さらに、本研究の付随的な研究成果として、2 時間程度の短期間の人工呼吸器による陽圧強制換気により、形態学的に傷害を受けること、臓器局所での炎症性サイトカインの上昇も観察することができた。

一方で、週単位の長期補助を行う V-V ECMO であるが、本研究は小動物モデルの特性上、数時間の検討にとどまり、当初目標にしていた重症呼吸器疾患の完全な回復まで観察できなかった。今後、今以上に実臨床に即した長期補助モデル構築に取り組みたいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fujii Y	4. 巻 9
2. 論文標題 Evaluation of inflammation caused by cardiopulmonary bypass in a small animal model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biology (Basel)	6. 最初と最後の頁 81
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biology9040081.	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 -
1. 著者名 Fujii Y, Akamatsu N, Yamasaki Y, Miki K, Banno M, Minami K, Inamori S.	4. 巻 9
2. 論文標題 Development of a pulsatile flow-generating circulatory assist device (K-Beat) for use with veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation in a pig model study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biology (Basel)	6. 最初と最後の頁 121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biology9060121.	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 -
1. 著者名 Fujii Y, Sumikura H, Nagahama D.	4. 巻 45
2. 論文標題 Establishment of a novel miniature veno-venous extracorporeal membrane oxygenation model in the rat.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Artif Organs	6. 最初と最後の頁 63-67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aor.13769	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujii Y, Tatsumi E, Nakamura F, Oite T	4. 巻 12
2. 論文標題 PaO ₂ greater than 300 mmHg promotes an inflammatory response during extracorporeal circulation in a rat extracorporeal membrane oxygenation model.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Thorac Dis	6. 最初と最後の頁 749-757.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/jtd.2019.12.113.	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 -

1. 著者名 Yamada Takumi, Sumikura Hirohito, Fujii Yutaka, Arafune Tatsuhiko, Ohgoe Yasuharu, Yaguchi Toshiyuki, Homma Akihiko	4. 巻 30
2. 論文標題 Fundamental Examination of an Extracapillary Blood Flow Type Oxygenator for Extracorporeal Circulation Model of a Rat	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Life Support Engineering	6. 最初と最後の頁 96 ~ 104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5136/lifesupport.30.96	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 吉澤みなみ、星幸奈、植山奈美子、清野龍之介、中社惇美、畠山瑛未、埜晴雄、藤井豊
2. 発表標題 重症呼吸器疾患治療評価に向けた小動物V-V ECMOモデルの構築
3. 学会等名 第8回国際人工臓器学会学術大会・第57回日本人工臓器学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤井豊
2. 発表標題 小動物でのV-V ECMO (Veno-Venous Extra-Corporeal Membranous oxygenation)モデルの確立 呼吸器疾患に対するECMO治療の適応拡大を目指して
3. 学会等名 第8回国際人工臓器学会学術大会・第57回日本人工臓器学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 植山奈美子、埜晴雄、中社惇美、清野龍之介、畠山瑛未、星幸奈、吉澤みなみ、藤井豊
2. 発表標題 小動物敗血症モデルにおける主要臓器での炎症性サイトカイン発現の評価 -リアルタイムPCRによる検討
3. 学会等名 第 19 回新潟医療福祉学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fujii Y, Haruo H.
2. 発表標題 Evaluation of cytokine expression in regional principal organ during cardiopulmonary bypass
3. 学会等名 ASAIO 65th Annual Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤井豊、藤本航喜、諸星南々海、阿部優花、大嶋啓真、坂井結太、長井穂菜美、野口真莉那、中村藤夫
2. 発表標題 小動物Veno-Venous Extra-Corporeal Membranous oxygenation (V-V ECMO) モデルの構築
3. 学会等名 第40回日本呼吸療法医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田拓実、住倉博仁、藤井豊、荒船龍彦、大越康晴、矢口俊之、本間章彦
2. 発表標題 ラット体外循環用外部灌流型人工肺の開発
3. 学会等名 第34回ライフサポート学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤本航喜、池上喜久夫、諸星南々海、阿部優花、大嶋啓真、坂井結太、長井穂菜美、野口真莉那、藤井豊
2. 発表標題 呼吸器疾患に対する各種治療効果検討に向けた小動物肺傷害モデルの作製
3. 学会等名 第9回甲信越臨床工学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 埴晴雄、藤井豊
2. 発表標題 Expression change of hepcidin in heart during cardiopulmonary bypass
3. 学会等名 第22回日本心不全学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阿部優花、埴晴雄、大嶋啓真、坂井結太、長井穂菜美、野口真莉那、藤本航喜、 諸星南々美、藤井豊
2. 発表標題 体外循環により主要臓器の炎症性サイトカイン発現は上昇する リアルタイムPCR法によるラット体外循環モデルの検討
3. 学会等名 第 18 回新潟医療福祉学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長井穂菜美、埴晴雄、阿部優花、大嶋啓真、坂井結太、野口真莉那、藤本航喜、渡邊博昭、藤井豊
2. 発表標題 体外循環起因の主要臓器における炎症反応を捉える - ラット体外循環モデルおよびリアルタイムPCR法を用いた検討 -
3. 学会等名 第92回新潟県臨床検査学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田拓実、住倉博仁、藤井豊、荒船龍彦、大越康晴、矢口俊之、本間章彦
2. 発表標題 ラット体外循環回路への適用を目指した外部灌流型人工肺の開発
3. 学会等名 第56回日本人工臓器学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤井豊、諸星南々海、藤本航喜、阿部優花、大嶋啓真、坂井結太、長井穂菜美、野口真莉那
2. 発表標題 世界初V-V ECMO治療効果検討のための小動物モデル構築
3. 学会等名 第56回日本人工臓器学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yutaka Fujii, Haruo Hanawa
2. 発表標題 Expression change of cytokine in principal organ during cardiopulmonary bypass
3. 学会等名 The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (国際学会)
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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------