

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09269

研究課題名(和文)人工心肺使用手術が生体のHMGB1/HRG バランスに与える影響の網羅的検討

研究課題名(英文) Evaluation of HMGB-1/HRG balance during Cardiopulmonary Bypass

研究代表者

大澤 晋 (Oozawa, Susumu)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：20643414

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)：小児心臓血管外科の人工心肺(CPB)使用手術中のHigh Mobility Group Box-1(HMGB-1)とその抑制物質Histidine Rich Glycoprotein(HRG)の動態について検討した。対象症例は小児の心房手術欠損症、心室中隔欠損症、ファロー四徴症、共通房室弁口の2心室型根治術に限定した。HMGB-1は開胸手技で軽度上昇し、CPB使用後に急上昇、MUF施行後に下がり、さらに術後1日目にはBaselineに復帰した。一方、HRGはCPB使用後に激減し、MUFで増加、さらに術後1日目にBaselineに復帰した。この減少幅は、血液希釈では説明がつかないレベルであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、小児心臓手術中の、HMGB-1とHRGの血中濃度の変化が明らかになった。HMGB-1は予想通り、手術侵襲、及び人工心肺による侵襲で大きく上昇しているが、MUFで一部除去されるか？ HRG濃度の上昇に伴い、減少することが示唆された。一方、HRGは人工心肺開始と同時に大きく減少した。もちろん人工心肺に充填した英機体による希釈の影響はあると思われるが、希釈だけでは説明できない減少であった。ヘパリンはHRGに結合して、注する作用があり、Vitroでもヘパリンを付加する事でHRGの減少を認めたため、人工心肺でのヘパリンの使用はHRGを減少させ、HMGB-1上昇を助長する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we evaluated the changes of blood concentration on high mobility group box-1 (HMGB-1) and histidine rich glycoprotein (HRG) during cardiovascular surgery in children with congenital heart disease. Patients who underwent biventricular repair for atrial septal defect, ventricular septal defect, Tetralogy of Fallot, and common atrioventricular valve are included in this study. HMGB-1 was increased mildly after opening the chest, increased more during the cardiopulmonary bypass, decreased after MUF, and returned to the baseline level 1-day after the operation. On the other hand, HRG decreased with heparin administration and cardiopulmonary bypass, increased after MUF, and returned to the baseline level 1-day after the operation.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：HMGB-1 HRG 人工心肺 心臓血管手術 ヘパリン プロタミン 炎症反応

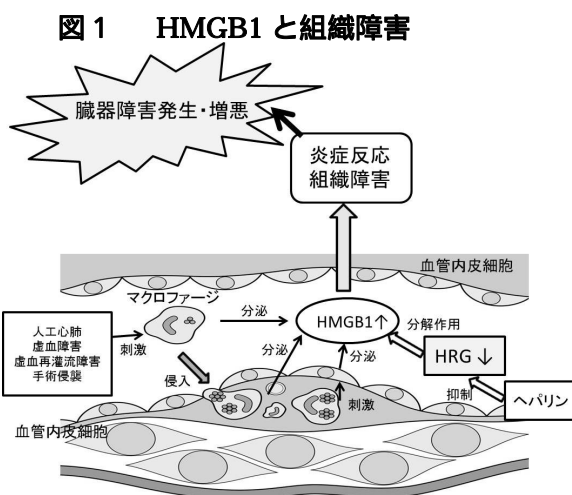
## 1. 研究開始当初の背景

### <人工心肺と臓器障害>

人工心肺使用中、血液成分は人工心肺回路という異物と接触し、白血球や血小板が活性化する。それにより種々のサイトカインが育成され、凝固線溶系の活性、炎症反応、酸化ストレス反応、虚血再灌流障害を経由し、腎・肝障害、心機能障害、脳神経障害等を発生し、時には致命的結果を伴う事もある。人工心肺中の異物への血液反応の完全な抑制は不可能であり、機序の解明と、解決策の発展が望まれている。

### <HMGB1 と人工心肺>

HMGB1 は、活性化された樹状細胞、マクロファージ、あるいは壊死細胞から細胞外に放出され、炎症反応惹起、組織障害、組織の修復、動脈硬化等、様々な炎症関連機序に関与していると言われている。人工心肺中も HMGB1 は当然上昇し、臓器障害や臓器保護に大きな影響を与えている(図1)と思われるが、人工心肺の関連を示す文献は、PubMed で検索する限りわずか 11 件である。



### <HRG と人工心肺>

HRG との関連を示す文献は我々が調べた限り存在しない。しかし、HRG は HMGB1 と直接結合する血漿グリコプロテインであり、HMGB1 の多様な作用に対し強い拮抗活性を示す物質である事が知られている。また、人工心肺使用心臓血管手術では多量のヘパリンとプロタミンを用いる。HRG はヘパリンに結合し、その作用が減弱することが知られており、HRG の血中濃度は、ヘパリンやプロタミンの影響も受けるものと考えられる(図1)が、上記の通り研究はほとんど進んでおらず、特に小児心臓結果外科領域の研究報告は乏しい。

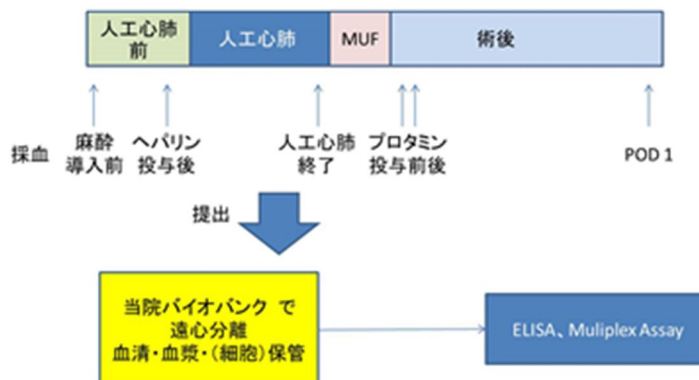
## 2. 研究の目的

小児の人工心肺使用心臓大血管手術における体外循環中の HMGB1/HRG バランスの変化が、患者の各因子や臨床アウトカムとどのように相関するのかを調査し明らかにすること。

図2 臨床研究プロトコール

## 3. 研究の方法

臨床研究プロトコールを図2に示す。麻酔導入前、ヘパリン投入後(人工心肺導入前)人工心肺終了後、MUF(透析)を終えてプロタミンを投与前後、術後1日目(POD1)に血液検体を採取し、HMGB-1 と HRG を ELISA で測定する。



#### 4. 研究成果

小児心臓血管外科手術は非常にその手技の内容が多用であるため、測定対象は心房中隔欠損症、心室中隔欠損症、ファロー四徴症、共通房室弁口の4疾患の、2心室型心への完全修復術に限定した。この場合、手術中は、上下大静脈脱血、上行大動脈総血、右切開による心内アプローチ、心停止下でほぼ全ての手技を終る、というファクターは同じで有る。

(HMGB-1の濃度変化)

開胸手技で軽度上昇し、CPB 使用後に急上昇、MUF 施行後に下がり、さらに術後1日目にはBaselineに復帰した。

(HRGの濃度変化)

HRGはCPB使用後に大きく減少し、MUFで増加、さらに術後1日目にBaselineに復帰した。この減少幅は、血液希釈では説明がつかないレベルであった。

(影響希釈率の影響)

HMGB-1は人工心肺導入の血液希釈にも関わらず大きく上昇しているため、人工心肺使用中に体内での産生が亢進し、大きく上昇していることは疑いない。しかし、HRGに関しては、血液希釈のある人工心肺使用中に減少しており、その後のModified Ultrafiltration(MUF)で血液が濃縮すると上昇する。血液希釈による影響を否定できない。そこで、無輸血患者でHbの希釈率と比較した場合、Hbの濃度の減少よりHRGは大きな変化を示していた。また、全症例の計算上の希釈率と、HRGの希釈率を比較すると、HRGの方が高度な濃度減少を示していたため、血液希釈だけでは説明がつかないHRGの濃度減少であった。

(ヘパリンの影響の検証)

In-Vitroで、HRG溶液のELISAによる測定値が変化するか？検証した。HRGの測定値は、溶液内に加えたヘパリン濃度に反比例して直線的に減少した。またそれはプロタミンを混和することでリバーサされた。これにより、HRG-ヘパリン間の結合は、可逆的で有り、プロタミンでリバーサされることが示唆された。

(本研究の結果の意義)

本研究により、人工心肺使用中の高度なHMGB-1の上昇を認めた。HMGB-1の抑制物質である、HRGは高度に減少しており、またHRGの減少は血液希釈では説明できないレベルの濃度減少であった。HMGB-1上昇による炎症反応、臓器障害をHRGの減少が助長している可能性が示唆された。また、プロタミンにより、HRG-ヘパリン間の結合は解除されている事が示唆された。MUFはHMGB-1の減少に有用であるが、人工心肺使用後の介入である。人工心肺使用中の血液透析の使用(DAF)はHMGB-1を減少させ、人工心肺による臓器障害の影響を軽減できる可能性があると思われた。また、本研究では、入院期間、抜管までの時間、集中治療室在室時間、腎障害、肝障害などとHMGB-1の上昇率との相関は認められなかった。これは本研究では、比較的単純で安定した結果を得られる疾患が対象になった為であると思われる。より複雑で侵襲の大きな手術で同様の検討を行う必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高寛、大澤晋、藤井泰宏、逢坂大樹、西堀正洋、笠原真悟
2. 発表標題 人工心肺中のHMGB1とHRG濃度変化
3. 学会等名 第45回日本対外循環技術医学会大会
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
研究協力者	藤井 泰宏  (FUJII YASUHIRO)		
研究協力者	西堀 正洋  (NISHIBORI MASAHIRO)		
研究協力者	高 寛  (Taka Hiroshi)		
研究協力者	逢坂 大樹  (Ousaka Daiki)		

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
---------	---------