

令和 4 年 5 月 13 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18332

研究課題名(和文) 急性呼吸窮迫症候群(ARDS)における酸素ナノバブル経静脈投与の有効性の検討

研究課題名(英文) Investigation of anti-inflammatory effects of oxygen nanobubbles in a rat hydrochloric acid lung injury model

研究代表者

吉田 圭佑(Yoshida, Keisuke)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：00769573

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、酸素ナノバブルの抗炎症作用について検討することである。ラットを酸素ナノバブル群(n=6)と対照群(n=6)にわけ、ラットの尾静脈より酸素ナノバブル水または生理食塩水を持続投与した。その後、気管内に塩酸を投与することで急性肺障害モデルラットを作成し、動脈血酸素分圧・血中の炎症性サイトカイン(IL-6, TNF-)を測定した。今回のプロトコルでは、酸素ナノバブルによる抗炎症効果は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性呼吸窮迫症候群は死亡率が高く、有効な治療法の確立が望まれている。近年注目されている酸素ナノバブルは、酸素含有量が高いことに加えて抗炎症作用を有しており、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静脈投与し、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静脈投与がARDSの治療に有効か否かを実証することであり、酸素ナノバブル水経静脈投与の有効性・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研究を行った。

研究成果の概要(英文)：Aim: To investigate the anti-inflammatory effect of oxygen nanobubbles (ONBs) in an acute lung injury rat model. Materials & methods: In a rat hydrochloric acid lung injury model, ONB fluid was administered intravenously in the ONB group (n = 6) and normal saline was administered in the control group (n = 6). 4 h later, arterial partial pressure of oxygen (PaO₂), mean arterial pressure and plasma inflammatory cytokines were measured. Results: There were no significant differences in the PaO₂, mean arterial pressure or TNF- and IL-6 levels between the two groups. Conclusions: No anti-inflammatory effect could be confirmed at the present ONB dose in the rat model of acute lung injury.

研究分野：麻酔科学、集中治療学

キーワード：急性呼吸窮迫症候群 酸素ナノバブル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

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。ARDS の病因は外傷・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 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。そのため、ARDS の治療法の開発が渴望されている。

ナノバブルは直径 100 nm 前後の極微小な気泡であり、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。医学の分野で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。

2. 研究の目的

本研究の目的は、酸素ナノバブルの経静脈投与の生体における安全性について検討するとともに、酸素ナノバブルが炎症の初期段階で炎症性サイトカインの産生を抑制することにより、呼吸不全の進行を抑制できるという仮説を実証することである。

本研究の独創的な点は、酸素ナノバブルを経静脈的に投与することである。ほぼすべての ARDS の患者は、輸液療法を行っているため、経静脈的投与は人工呼吸管理を行っている場合には最も簡便に肺に作用させることのできる方法である。また、酸素ナノバブルは、薬剤と異なり体内吸収後の副作用を懸念する必要がないため、他臓器に与える影響も少ないと考えられる。この有効性が明らかになれば、難治性である ARDS の救命率の向上に寄与するものと思われる。本研究では重症度の高い呼吸不全を対象に検討するが、酸素ナノバブルの抗炎症効果が実証されれば、敗血症性ショックなど他の炎症性疾患肺疾患治療への応用も期待できる。

3. 研究の方法

酸素ナノバブル水の作成

酸素ナノバブル水の作成には、ナノバブル発生装置(ウルトラファイン、GaLF FZ1N-05S, IDEC corp., 大阪)を用いた。水 3.5 L の中に純酸素 3 L/min を流し、250-300 kPa で 5 分間装置を駆動させた。その後、塩化ナトリウムを加え、0.9%NaCl となるように調整した。

実験に使用した薬剤と動物

本研究では、12 匹のオスの SD ラット(体重 431 ± 53 g)を用いた。この 12 匹を 6 匹ずつ、酸素ナノバブル群と対照群に分けた。ラットは、セボフルラン 5%で麻酔導入し、メドトミジン、ミダゾラム、ブトルファノールの 3 種混合薬で麻酔を維持した。尾静脈を 26G 留置針で確保後に、酸素ナノバブル水もしくは生理食塩水を 4 ml/kg/h で持続投与した。

呼吸器の設定とモニタリング

酸素ナノバブル水もしくは生理食塩水の持続投与を開始後、1%リドカインで局所麻酔を行い

ながら気管切開を行った（機関には 14G 留置針を挿入した）。その後、尾静脈より筋弛緩薬であるベクロニウムを投与し、人工呼吸を開始した。呼吸器の設定は、吸入酸素濃度 1.0、一回換気量 20 ml/kg、呼吸回数 45 回/分とし、血液ガス分析の結果により調整した。

人工呼吸を確立後、総頸動脈に直視下に 26G 留置針を挿入し、動脈圧のモニタリングを行った。この圧ラインは、血液サンプルの採取にも用いた。

ARDS ラットモデルの作成

酸素ナノバブル水もしくは生理食塩水の持続投与開始から 60 分後に、動脈血酸素分圧 (PaO₂) を測定し、300 mmHg 以上であることを確認した。その後、気管内に塩酸 (0.4 mL/kg, pH 1.5) を投与して ARDS モデルを作成した。以降、30 分おきに動脈血 0.2 mL を採取し、酸素分圧と平均血圧を記録した。

サイトカインの測定

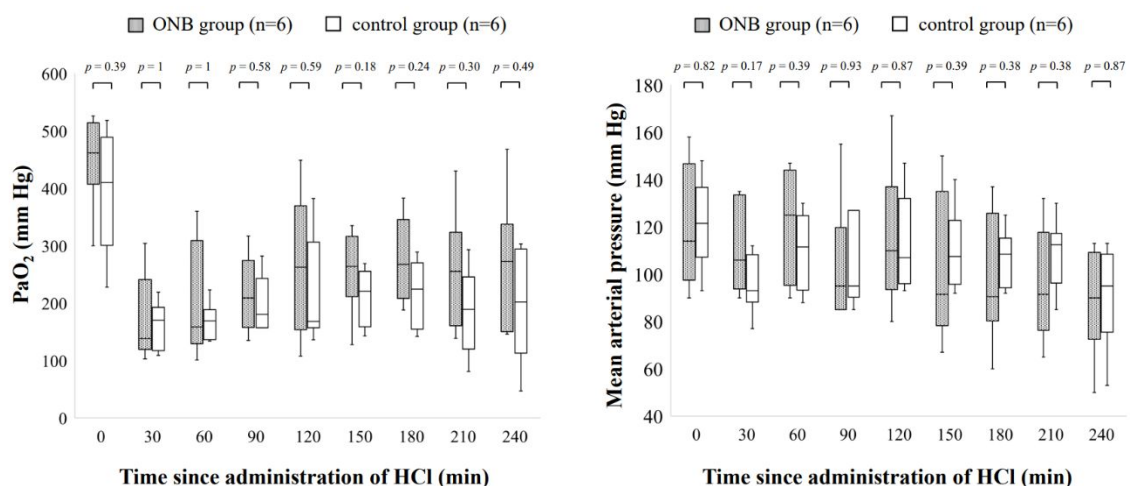
気管内への塩酸投与直前、60 分、120 分、240 分後に血液 1 mL を採取し、炎症性サイトカイン (Interleukin (IL)-6、TNF) の測定を行った。測定には ELISA キットを用いた [TNF-α ELISA Kit, rat (PromoCell GmbH, Heidelberg, ドイツ)、Rat IL-6 Quantikine ELISA Kit (R&D Systems, Inc., MN, アメリカ)]。

組織学的評価

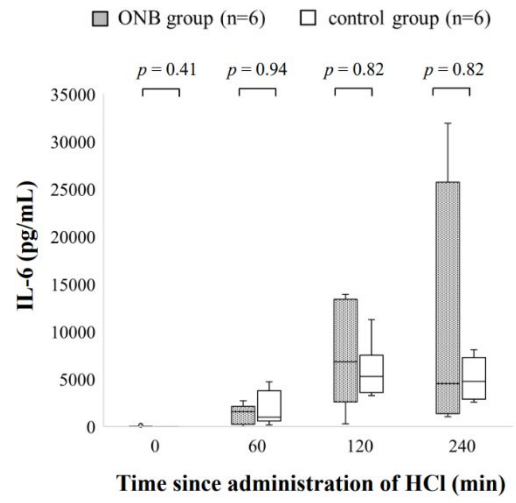
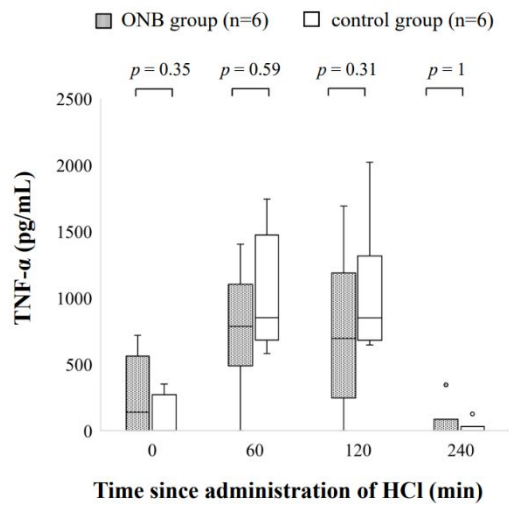
塩酸の投与から 4 時間後にラットを安楽死させ、肺を摘出し、ホルマリン固定した。その後、肺組織を HE 染色し、形態学的変化について評価した。

4. 研究成果

2 群間の PaO₂ と平均血圧の経時的変化を下図に示す。2 群間において、いずれの時間帯においても有意な差はなかった。



2 群間の IL-6 と TNF- α の経時的変化を下図に示す。2 群間において、いずれの時間帯においても有意な差はなかった。



また、肺組織の HE 染色では、どちらの群でも ARDS 様の変化が観察できたが、明らかな 2 群間の差はなかった。

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 0件）

1. 著者名 Yoshida Keisuke, Ikegami Yukihiro, Obara Shinju, Sato Keiko, Murakawa Masahiro	4. 巻 15
2. 論文標題 Investigation of anti-inflammatory effects of oxygen nanobubbles in a rat hydrochloric acid lung injury model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nanomedicine	6. 最初と最後の頁 2647 ~ 2654
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2217/nnm-2020-0338	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉田 圭佑, 野地 善恵, 井石 雄三, 細野 敦之, 箱崎 貴大, 村川 雅洋
2. 発表標題 酸素ナノバブルの塩酸肺障害モデルにおける抗炎症作用の検討
3. 学会等名 日本麻酔科学会第67回学術集会
4. 発表年 2020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
---------	---------