

令和 6 年 5 月 13 日現在

機関番号：11501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17705

研究課題名（和文）人工心肺で生じる回路圧上昇に白血球由来細胞外DNAが関与しているかどうかの検討

研究課題名（英文）The research for the relation between an abnormal increase in circuit pressure and leukocyte-derived extracellular DNA in cases using cardiopulmonary bypass

研究代表者

八島 望 (Yashima, Nozomi)

山形大学・医学部・助教

研究者番号：70637339

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,800,000円

研究成果の概要（和文）：人工心肺を使用する際に凝血塊が生じ、異常な回路圧上昇をきたすことがあるが、そのメカニズムは解明されていなかった。我々は模擬回路における検証で「回路圧上昇の原因が白血球由来の細胞外DNAである」と結論付けた。本研究では、人工心肺を使用する心臓手術症例において人工心肺の回路圧と白血球数、細胞外DNA濃度、凝固系マーカー値の関連を調べた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人工心肺は患者の生命を維持するために必須の装置であり、そのトラブルは患者の生死にかかわることである。これまでに人工心肺の回路内凝血・回路圧上昇に関して白血球由来細胞外DNAが関与しているとする研究はほとんどない。本研究の検証で回路内凝血・回路圧上昇に白血球由来細胞外DNAが関与していることが明らかになれば、回路内凝血・回路圧上昇のメカニズムが解明され、その対処法・予防法を確立することができる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：When using a cardiopulmonary bypass (CPB), clots can form and cause an abnormal increase in circuit pressure, but the mechanism has not been cleared. Through experiment using a simulated circuit, we concluded that the cause of the increase in circuit pressure was extracellular DNA derived from leukocytes. In this study, we investigated the relation between the circuit pressure of CPB and leukocytes, extracellular DNA concentration, and coagulation system marker values in cardiac surgery using the CPB.

研究分野：血栓止血学

キーワード：人工心肺 回上昇 白血球 細胞外DNA

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人工心肺中は血液が人工物に接触すると凝固系が活性化され血栓形成が生じるため、いかに凝固系の活性化を抑制するか、が重要であった。しかし、十分な抗凝固療法をおこなっていても回路内凝血が生じることが報告されている。回路内凝血について、原因は血栓であるとする報告が多いが、これだけの抗凝固薬を投与しているにもかかわらず、なぜ回路内凝血は生じるのであろうか。この事実から、回路内凝血は凝固系の活性化以外に原因があるからではないか、と考えた。

我々は、本研究を始める前に、人工心肺を模した体外循環回路を作製し、その回路にブタの血液を循環させ、回路内凝血が生じるメカニズムについて検証した。その検証の結果、いくつかの条件が重なった場合に回路圧上昇が生じ、その時のフィルター部の付着物を免疫染色して解析したところ、回路圧が上昇した時のフィルターは細胞外 DNA が一面をおおっていることを発見した。この結果から、血液の中で唯一核を持つ白血球の細胞外 DNA が回路圧上昇の原因であると考えられた。この結果はこれまで原因と考えられてきた血栓形成とは異なった結果である。しかし、人工心肺使用時の回路圧上昇は抗凝固薬を使用しているにもかかわらず生じていることと照らし合わせると矛盾しない結果である。

これまでに回路圧上昇と細胞外 DNA の関連を調べた報告はない。回路圧上昇に細胞外 DNA が関与していることが証明されれば、抗凝固薬以外の対処法が確立される可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では「心臓手術における人工心肺の回路圧上昇・回路内凝血には白血球由来細胞外 DNA が関与している」という仮説を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 後ろ向き研究

当院で 2019 年 1 月から 2021 年 12 月に行われた、人工心肺を使用した成人弁疾患手術を対象とし、電子カルテおよび人工心肺記録より以下の項目を後ろ向きに抽出した。

年齢	白血球数	総蛋白 (TP)	最大流量
性別	赤血球数	アルブミン (Alb)	人工肺入口圧
身長	ヘマトクリット (Hct)	総ビリルビン (T.Bil)	人工肺出口圧
体重	血小板数	クレアチニン (Cre)	入口圧-出口圧
BMI		フィブリノーゲン値 (Fib)	
体表面積 (BSA)		アンチトロンピン (AT3)	

最大流量は術前体格からの計算値 ($BSA \times 2.4 \text{ L/min}$)
圧は最大流量到達時の圧を使用

なお、回路圧データが欠損している症例、上行大動脈送血以外の症例、流量が最大流量まで達しなかった症例は除外した。

(2) 前向き研究

人工心肺を使用する心臓手術を対象とし、麻酔導入後、人工心肺導入後、人工心肺離脱後の 3 点で血液検体を採取し、血液中の細胞外 DNA 濃度を測定する。対照群として人工心肺を使用しない心臓手術症例からも血液検体を採取し、細胞外 DNA 濃度を測定する。細胞外 DNA に加えて、血小板数、PT-INR、APTT、フィブリノーゲン値を測定することで凝固能も評価する。

(3) 人工心肺回路の付着物の分析

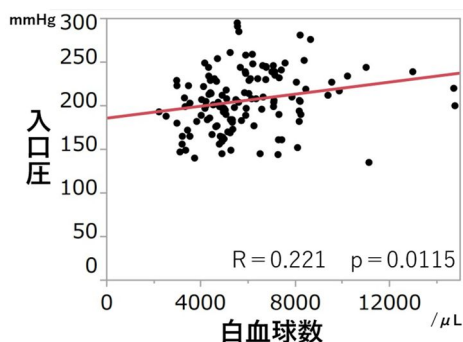
心臓手術で使用した人工心肺(おもに人工肺、動脈フィルター、静脈リザ-バー)を超音波カッターで分解し、どのような凝血塊(付着物)があるのか分子レベルで調査する。過去の報告では、付着していた凝血塊を電子顕微鏡で形態学的に評価している報告がほとんどであった。本研究では、免疫染色をおこなうことにより、フィブリノーゲンや DNA、血小板を染め分け、凝血塊の主成分が何であるかを明らかにする。

4. 研究成果

(1) 後ろ向き研究

研究期間において対象となった症例は 172 症例であり、除外基準に当てはまる症例を除外し、130 症例が解析対象となった。対象となった症例の中で回路圧の異常な上昇をきたした症例はなかった（最大流量到達時の入口圧 > 400mmHg）。

はじめに、人工心肺回路の入口圧と各因子の単変量解析を実施した。入口圧と白血球数は弱い正の相関を認めた（図）。入口圧と血小板数には相関は認めなかった。同様に、入口圧と赤血球数、Hct、Fib は弱い正の相関を示し、入口圧と身長、体重、BMI、BSA は正の相関を、入口圧と最大流量は強い正の相関を示した。一方で、入口圧と年齢は弱い負の相関を示した。また、入口圧は男性で有意に高かった。



この結果をふまえ、多変量解析を実施した。その結果、Fib 値、最大流量が入口圧を規定する有意な因子であり、白血球数は入口圧を規定する有意な因子とはいえない結果となった。

なお、この後ろ向き研究については論文執筆中である。

(2) 前向き研究

2020 年 3 月頃から始まったコロナウイルス感染症の流行を受け、感染対策等で臨床業務のフットワークが大きくなり、研究を実施できなかった。

(3) 人工心肺回路の付着物の分析

研究期間中に人工心肺の異常な回路圧上昇をきたした症例がなかったため、実施できなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 八島望
2. 発表標題 人工肺での血液凝固モデルをつくる
3. 学会等名 日本心臓血管麻酔学会第28回学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 八島望
2. 発表標題 人工心肺回路内圧上昇における白血球の関与
3. 学会等名 日本心臓血管麻酔学会第28回学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 添川清貴 八島望 黒木雅大 岡野駿介 早坂達哉 小野寺悠 岡田真行 中根正樹
2. 発表標題 心臓手術における人工心肺の回路圧上昇に関する因子の検討：後ろ向き観察研究
3. 学会等名 日本心臓血管麻酔学会第28回学術大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

学会発表の内容を論文として投稿中である

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