

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11177

研究課題名(和文) 体外式膜型人工肺モデルラットにおける骨格筋収縮時の酸素・循環動態の解明

研究課題名(英文) Impact of Venous-arterial Extracorporeal Membrane Oxygenation on Skeletal Muscle Function and PO<sub>2</sub> in Contracting Muscle of Normal Rats

研究代表者

堀田 一樹 (Hotta, Kazuki)

北里大学・医療衛生学部・准教授

研究者番号：30791248

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：体外式膜型人工肺(ECMO)は重度の呼吸不全、ショックを有する方の生命を維持する最後の砦である。本研究では小動物用の体外式膜型人工肺(ECMO)を用い、非生理的な呼吸・循環管理が末梢骨格筋に与える影響を正常ラットを対象に検証した。その結果、対照群と比較して、100%酸素投与あるいはECMOによって動脈血酸素分圧が有意に高く、高酸素血症を引き起こしていた。収縮時の骨格筋内酸素分圧は、ECMO+100%酸素投与群で最も低く、筋機能はECMO+100%酸素投与群で最も低かった。以上の結果は、VA-ECMOはラットの骨格筋の低酸素と筋機能障害を惹起することを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

体外式膜型人工肺は積極的な酸素療法、人工呼吸器管理によっても十分な酸素化と循環が保てない場合の標準的な治療法である。体外式膜型人工肺から離脱したあと、元の日常生活に戻るためには歩行を中心とした運動機能の再建が求められる。本研究は体外式膜型人工肺そのものが骨格筋の機能障害を引き起こす原因であることを示唆している。高酸素血症は直接的な原因とはならず、逆に筋組織内の低酸素が関与している可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The impact of non-physiologic circulation induced by VA-ECMO on blood flow and function of skeletal muscle is unclear. This study aimed to clarify the effects of high fraction of inspiratory oxygen (FiO<sub>2</sub>) and VA-ECMO on interstitial partial oxygen pressure (PO<sub>2</sub>) and function of rat skeletal muscle. SD male rats were randomly assigned to control, 100% of FiO<sub>2</sub> (100%O<sub>2</sub>) and VA-ECMO with high FiO<sub>2</sub> (ECMO plus 100%O<sub>2</sub>) groups, respectively. Compared to the control, arterial oxygen pressure were significantly higher in the 100%O<sub>2</sub> and ECMO plus 100%O<sub>2</sub> groups. The interstitial PO<sub>2</sub> at rest and during muscle contractions were significantly lower in ECMO plus 100%O<sub>2</sub> than those of the control and 100%O<sub>2</sub> groups. The peak tension and relaxation rate of the muscle in ECMO plus high FiO<sub>2</sub> group was lowest between groups. These results suggest that VA-ECMO impairs skeletal muscle function and reduces interstitial PO<sub>2</sub> in contracting muscle of normal rats.

研究分野：循環生理学

キーワード：ECMO 骨格筋 酸素動態

### 1. 研究開始当初の背景

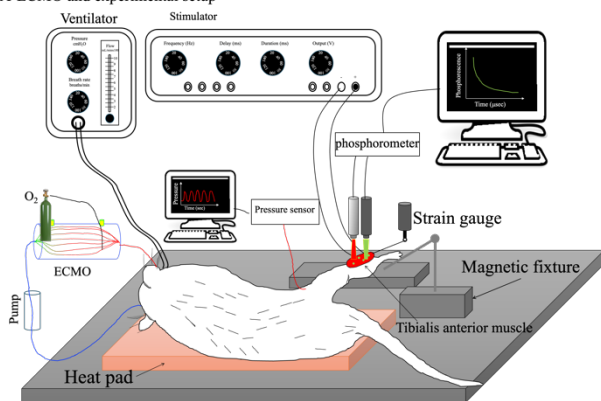
体外式膜型人工肺 (ECMO) は、新型コロナウイルス感染症による肺炎を始めとする、重度の循環・呼吸不全を有する患者の救命措置として行われている。病態が改善し ECMO から離脱する際の問題点として、下肢の筋萎縮および筋力低下が社会復帰を阻害する要因となっている。したがって、ECMO 管理中から早期離床や電気刺激治療により骨格筋機能を維持することが、要介護状態の回避や QOL の改善につながると思われる。しかしながら、筋収縮時の生体応答を ECMO 管理下で検討した報告はない。

骨格筋は収縮時に酸素供給および需要が激増するが、酸素供給に ECMO が及ぼす影響は明らかではない。酸素供給が増えるメカニズムとして、1) 筋毛細血管における赤血球数 (酸素拡散, DO<sub>2</sub>)、および 2) 毛細血管の内外における酸素分圧の差 (酸素勾配, ΔPO<sub>2</sub>) の増加が関与している。

### 2. 研究の目的

本研究では新たに ECMO モデルラットを作製し、電気刺激による骨格筋収縮時の酸素拡散 (課題 1) および勾配 (課題 2) を正常ラットと比較することで、ECMO 中の筋収縮時の生体応答の解明に取り組む。ECMO モデルラットの筋収縮時の酸素動態を明らかにすることで、今後は筋萎縮予防を目指して ECMO 管理中の有効な電気刺激治療の開発につながると期待される。

Figure 1. VA-ECMO and experimental setup



### 3. 研究の方法 (Figure 1)

本研究では小動物用の体外式膜型人工肺 (ECMO) を用い、非生理的な呼吸・循環管理が末梢骨格筋に与える影響を検証した。Sprague-Dawley ラットを無作為に偽介入 (Sham)、100%酸素投与、および ECMO + 100%酸素投与群にそれぞれ分類し、電気刺激による骨格筋収縮時の生体応答として骨格筋の間質酸素分圧と筋発揮張力をリアルタイムに計測した。

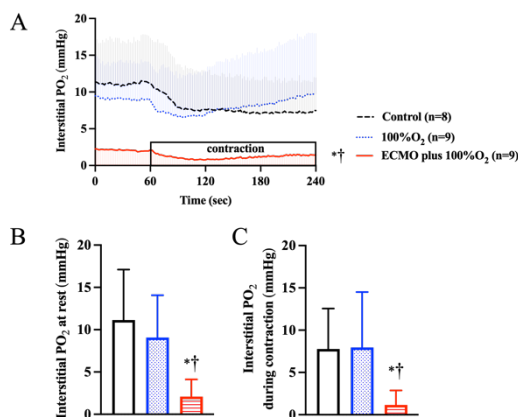
ECMO + 100%酸素投与群のラットに対しては、イソフルラン麻酔下にて、気管切開による人工呼吸管理を実施した。右総頸静脈に脱血管、左送頸動脈を設置し、小動物用 ECMO (泉工医科工業株式会社, 東京, 日本) で静脈血を酸素化した (VA-ECMO)。ECMO + 100%酸素投与群および 100%酸素投与群に対しては、吸入酸素濃度を 100%とし、両群とも高酸素血症となるように設定した。ラット右後肢の前脛骨筋を丁寧に露出し、電気的な筋収縮を引き起こした。収縮時の骨格筋間質の酸素分圧は、リン光クエンチング法を用いて計測した。具体的には、酸素プローブ (Oxyphor PdG4, Oxygen Enterprises, USA) を前脛骨筋内に事前に投与し、LED 光によって励起されたリン光の消光速度を計測した。リン光が消光する時定数から酸素分圧を算出した (Hirai, *et al.* J Physiol 2018; Hitosugi, *et al.* Microcirculation 2024)。筋発揮張力を記録するために、前脛骨筋腱をストレインゲージに接続し、電気刺激時の発揮張力を記録した。

ECMO + 100%酸素投与群のラットに対しては、イソフルラン麻酔下

### 4. 研究成果

各群に年齢、体重、組織重量に差はなかった。動脈血ガス分析では、100%酸素投与群および

Figure 2. Interstitial PO<sub>2</sub> Responses to Muscle Contraction



ECMO + 100%酸素投与群で、コントロールと比較して動脈血酸素分圧が高かった。コントロールと比較して ECMO + 100%酸素投与群の血中ヘモグロビン濃度は有意に低く、動脈酸素飽和度は有意に高かった。動脈血二酸化炭素ガス分圧、重炭酸イオン、その他電解質には群間に差はなかった。ECMO は安静時および筋収縮時の心拍数を有意に低下させた。

筋収縮と同時に、骨格筋間質の酸素分圧は全群で急速に低下した (Figure 2)。二元配置分散分析により、間質酸素分圧について時間と群の要因の有意な主効果と、および交互作用を認めた。ECMO + 100%酸素投与群の安静時および筋収縮時の間

Figure 3. Muscle Twitch Force

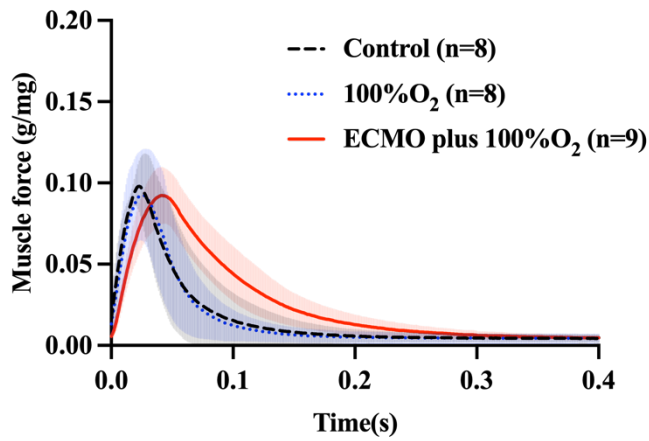


Table 1. Summary of results

	100%O <sub>2</sub>	ECMO plus 100%O <sub>2</sub>
PaO <sub>2</sub>	↑	↑
Muscle interstitial PO <sub>2</sub> at rest	→	↓
Muscle interstitial PO <sub>2</sub> during contraction	→	↓
Muscle interstitial PO <sub>2</sub> response to NTG	→	↓
Muscle contractile function	↓	↓
Muscle diastolic function	→	↓

質酸素分圧は、コントロールおよび100%酸素投与群よりも有意に低かった。

電気刺激により発揮された張力は、コントロールと比較しECMO+100%酸素投与群で有意に低く、弛緩速度は有意に遅延していた。血管内皮非依存性血管拡張薬であるニトログリセリンの血管内投与は、間質の酸素分圧を増加させたが、ECMO+100%酸素投与群では変化の速度が遅延していた。

本研究の結果をまとめると (Table 1), VA-ECMO は安静時および収縮時に骨格筋の間質酸素分圧を低下させ、正常ラットの血管反応性および筋機能を障害することが示唆された。VA-ECMO のこれらの影響は、高酸素血症単独では認められなかったことから、高酸素以外の要因で生じたと考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takamizawa Ren, Hotta Kazuki, Fujii Yutaka, Ikegami Ryo, Hitosugi Naoki, Inoue Tatsuro, Tamiya Hajime, Tsubaki Atsuhiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Transcapillary P02 Gradients in Contracting Muscles of Type I Diabetic Rats	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Microcirculation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/micc.12870	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 Sato Kaoru, Kamiya Kentaro, Hamazaki Nobuaki, Nozaki Kohei, Ichikawa Takafumi, Uchida Shota, Ueno Kensuke, Yamashita Masashi, Noda Takumi, Ogura Ken, Miki Takashi, Hotta Kazuki, Maekawa Emi, Yamaoka-Tojo Minako, Matsunaga Atsuhiko, Ako Junya	4. 巻 -
2. 論文標題 Association of sarcopenia defined by different skeletal muscle mass measurements with prognosis and quality of life in older patients with heart failure	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jjcc.2023.12.003	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 Hitosugi Naoki, Hotta Kazuki, Taketa Yoshikazu, Takamizawa Ren, Fujii Yutaka, Ikegami Ryo, Tamiya Hajime, Inoue Tatsuro, Tsubaki Atsuhiro	4. 巻 31
2. 論文標題 The effect of sepsis and reactive oxygen species on skeletal muscle interstitial oxygen pressure during contractions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microcirculation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/micc.12833	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 Yamashita Masashi, Obata Hiroaki, Kamiya Kentaro, Matsunaga Atsuhiko, Hotta Kazuki, Izumi Tohru	4. 巻 12
2. 論文標題 Overlapping states of AWGS muscle dysfunction and inverse feasibility of ADL recovery by rehabilitation in older inpatients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 22283
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-26622-z	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 Uchida Shota, Kamiya Kentaro, Hamazaki Nobuaki, Nozaki Kohei, Ichikawa Takafumi, Yamashita Masashi, Noda Takumi, Ueno Kensuke, Hotta Kazuki, Maekawa Emi, Yamaoka-Tojo Minako, Matsunaga Atsuhiko, Ako Junya	4. 巻 31
2. 論文標題 The Association between the Level of Ankle-Brachial Index and the Risk of Poor Physical Function in Patients with Cardiovascular Disease	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 419 ~ 428
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.64531	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 Ueno Kensuke, Kamiya Kentaro, Hamazaki Nobuaki, Nozaki Kohei, Ichikawa Takafumi, Yamashita Masashi, Uchida Shota, Noda Takumi, Miki Takashi, Hotta Kazuki, Maekawa Emi, Yamaoka-Tojo Minako, Matsunaga Atsuhiko, Ako Junya	4. 巻 31
2. 論文標題 Leg strength and incidence of heart failure in patients with acute coronary syndrome	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 European Journal of Preventive Cardiology	6. 最初と最後の頁 834 ~ 842
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/eurjpc/zwad406	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 Eazer Julia, Barsoum Mina, Smith Cole, Hotta Kazuki, Behnke Brad, Holmes Christina, Caldwell Jacob, Ghosh Payal, Reid-Foley Emily, Park Hyerim, Delp Michael, Muller-Delp Judy	4. 巻 8
2. 論文標題 Adaptations of bone and bone vasculature to muscular stretch training	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 JBMR Plus	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jbmrpl/ziad019	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 Takeda Tomonori, Tsubaki Atsuhiko, Ikeda Yoshifumi, Kato Ritsushi, Hotta Kazuki, Inoue Tatsuro, Kojima Sho, Kanai Risa, Terazaki Yoshitaka, Uchida Ryusei, Makita Shigeru	4. 巻 17
2. 論文標題 The impacts of preoperative frailty on readmission after cardiac implantable electrical device implantation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0277115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0277115	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 Hotta Kazuki, Muller-Delp Judy	4. 巻 13
2. 論文標題 Microvascular Adaptations to Muscle Stretch: Findings From Animals and the Elderly	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 939459
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2022.939459	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 Nashimoto Satoshi, Inoue Tatsuro, Hotta Kazuki, Sugito Yuichi, Iida Susumu, Tsubaki Atsuhiko	4. 巻 10
2. 論文標題 The safety of exercise for older patients with severe aortic stenosis undergoing conservative management: A narrative review	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e15272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.15272	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 Nashimoto Satoshi, Inoue Tatsuro, Hotta Kazuki, Sugito Yuichi, Iida Susumu, Tsubaki Atsuhiko	4. 巻 10
2. 論文標題 The safety of exercise for older patients with severe aortic stenosis undergoing conservative management: A narrative review	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e15272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.15272	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 Shimotsu Rie, Hotta Kazuki, Ikegami Ryo, Asamura Tomoyo, Tabuchi Ayaka, Masamoto Kazuto, Yagishita Kazuyoshi, Poole David C., Kano Yutaka	4. 巻 320
2. 論文標題 Vascular permeability of skeletal muscle microvessels in rat arterial ligation model: in vivo analysis using two-photon laser scanning microscopy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology	6. 最初と最後の頁 R972 ~ R983
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpregu.00135.2020	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 該当する

1. 著者名 Hashimoto K., Hotta K., Morishita S., Kanai R., Takahashi H., Tsubaki A.	4. 巻 1269
2. 論文標題 Cerebral Oxygenation Dynamics During Incremental Exercise: Comparison of Arm Cranking and Leg Cycling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advances in experimental medicine and biology	6. 最初と最後の頁 125 ~ 130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-48238-1_20	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 Qin Weixiang, Kojima S., Morishita S., Hotta K., Oyama K., Tsubaki A.	4. 巻 1269
2. 論文標題 Effects of 20-Minute Intensive Exercise on Subjects with Different Working Memory Bases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advances in experimental medicine and biology	6. 最初と最後の頁 289 ~ 294
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-48238-1_46	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 Sato D., Morishita S., Hotta K., Ito Y., Shirayama A., Kojima S., Qin W., Tsubaki A.	4. 巻 1269
2. 論文標題 Supine Cycling Exercise Enhances Cerebral Oxygenation of Motor-Related Areas in Healthy Male Volunteers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advances in experimental medicine and biology	6. 最初と最後の頁 295 ~ 300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-48238-1_47	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 Morishita Shinichiro, Tsubaki Atsuhiko, Hotta Kazuki, Kojima Sho, Sato Daichi, Shirayama Akihito, Ito Yuki, Onishi Hideaki	4. 巻 1269
2. 論文標題 Relationship Between the Borg Scale Rating of Perceived Exertion and Leg-Muscle Deoxygenation During Incremental Exercise in Healthy Adults	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advances in experimental medicine and biology	6. 最初と最後の頁 95 ~ 99
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-48238-1_15	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 Tsubaki Atsuhiko, Morishita Shinichiro, Hotta Kazuki, Tokunaga Yuta, Qin Weixiang, Kojima Sho, Onishi Hideaki	4. 巻 1269
2. 論文標題 Changes in the Laterality of Oxygenation in the Prefrontal Cortex and Premotor Area During a 20-Min Moderate-Intensity Cycling Exercise	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advances in experimental medicine and biology	6. 最初と最後の頁 113 ~ 117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-48238-1_18	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 Kojima Sho, Morishita Shinichiro, Hotta Kazuki, Qin Weixiang, Kato Toshinori, Oyama Katsunori, Tsubaki Atsuhiko	4. 巻 1269
2. 論文標題 Relationship Between Decrease of Oxygenation During Incremental Exercise and Partial Pressure End-Tidal Carbon Dioxide: Near-Infrared Spectroscopy Vector Analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advances in experimental medicine and biology	6. 最初と最後の頁 119 ~ 124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-48238-1_19	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7件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Kazuki Hotta
2. 発表標題 Skeletal Muscle O <sub>2</sub> Transport During Extracorporeal Membrane Oxygenation
3. 学会等名 ISOTT2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 堀田一樹
2. 発表標題 第3回日本糖尿病理学療法学会サテライトカンファレンス
3. 学会等名 循環及び心血管疾患と糖尿病 微小循環に対する糖尿病の影響 (招待講演)
4. 発表年 2023年



1. 発表者名 Kazuki Hotta
2. 発表標題 The Latest Evidence on Stretching for Skeletal Muscle Microcirculation
3. 学会等名 School of Allied Health Sciences (SAH) International Conference 2023: New Trends in Health Sciences: Medical Innovation and Technologies (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 堀田一樹, 藤井 豊, 池上諒, 井上達朗, 田宮 創, 椿 淳裕
2. 発表標題 体外式膜型人工肺はラット骨格筋の弛緩速度を減少する
3. 学会等名 第27回日本基礎理学療法学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazuki Hotta, Hajime Tamiya, Atsuhiko Tsubaki
2. 発表標題 Effect of Sepsis on Microvascular Oxygen Pressure in Rat Diaphragm
3. 学会等名 第47回日本微小循環学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堀田一樹
2. 発表標題 循環器の解剖生理
3. 学会等名 2021年度 循環器疾患の理学療法の基礎 講習会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazuki Hotta, Yutaka Fujii, Keiya Match, Mitsutoshi Ikeda, Saya Umeki, Tatsuro Inoue, Shinichiro Morishita, Atsuhiko Tsubaki
2. 発表標題 Skeletal muscle P02 kinetics during hyperoxemia
3. 学会等名 AsiaPrevent (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 (著)堀田一樹、神谷健太郎(編)石川 朗、木村雅彦	4. 発行年 2022年
2. 出版社 中山書店	5. 総ページ数 192
3. 書名 予防理学療法学	

1. 著者名 公益社団法人 日本理学療法士協会、一般社団法人 日本理学療法学会連合 理学療法標準化検討委員会ガイドライン部会	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 648
3. 書名 理学療法ガイドライン 第2版	

〔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 豊  (Fujii Yutaka)  (20589303)	新潟医療福祉大学・医療技術学部・臨床技術学科    (33111)	

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