

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 3日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659842

研究課題名（和文） 二酸化炭素中毒死の死因究明と急性期治療法の検討

研究課題名（英文） Exploration of cause of death and acute phase treatment for carbon dioxide poisoning

研究代表者

水谷 太郎 (MIZUTANI TARO)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：80181890

研究成果の概要（和文）：CO₂中毒において実際の事件および災害からその有害性は認知されているが、中毒死となるその直接死因のメカニズムはまったくの不明である。申請者らはモデル動物を用いて、段階的に分けた濃度のCO₂チャンバー内での血行動態、呼吸状態、血液ガスをモニタリングすることにより、その直接死因を探るとともに、静脈血採血、摘出心、肺および脳を生化学的、分子生物学的手法で解析する。さらに培養心筋細胞を用いてCO₂負荷による反応を解析し、より詳細なメカニズムの解析を試みる。その結果からモニタリングすべき項目を検討・設定し、臨床における血中CO₂濃度の臨床的限度の設定を行うことを目的とする。

研究成果の概要（英文）：The hazardousness is recognized in CO₂ poisoning by real cases and disasters, however the mechanism and the direct cause of CO₂ poisoning death are not revealed. To investigate the cause of death, we established model rats and time-dependently measured hemodynamics, blood gas analysis in rats and the concentration of CO₂ and O₂ in the chamber. After the sacrifice, we isolated the tissues and analyzed some molecular biological data. This study is very challenging for us to aim to determine the upper limitation of CO₂ concentration in the blood and elucidate the mechanism of CO₂ poisoning.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：中毒学、集中治療学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：急性中毒学、二酸化炭素中毒、急性期治療、中毒モデル

1. 研究開始当初の背景

これまでに、自然災害、ドライアイスや二酸化炭素消火設備によるCO₂中毒死が報告されている。CO₂中毒による死亡の原因として、O₂濃度低下も一つの原因であるが、それだけでは説明出来るものではない。しかしながら、CO₂自体の毒性のメカニズムについては未だ明らかにされていない。致死量の検討につい

ても、武島らの科研費助成事業成果報告書にあるのみで、文献としても非常に希薄である。CO₂ナルコーシスと言う病態からCO₂自体の麻酔作用があるとされながらも、そのメカニズムは全く不明である。

2. 研究の目的

(1) 以下の3つの実験系を立ち上げ、行う。

a. 麻酔下ラット心肺機能モニタリング

麻酔下でCO₂ 負荷でのカテーテル・心電図による不整脈の出現の有無、心機能の評価、血液ガス分析の経時的測定による肺機能評価は初年度内に十分結果を出せる。また、静脈血採血および摘出心、肺、脳の生化学的、分子生物学的評価を行う。これらの直接死因との関与を検討する。

b. 培養心筋 CO₂ 負荷実験

心筋培養を用いて CO₂ 負荷による心筋代謝、肥大・増殖・炎症、アポトーシスの評価も初年度内に評価可能である。直接死因のより詳細なメカニズムの検討を行う。

c. 覚醒下マウス血圧・心電図モニタリング

マウスを用いて CO₂ 濃度による生存率の評価を行う。また、新たにテレメトリーシステムの導入し、覚醒下マウス血圧・心電図モニタリングを行う。実験の立ち上げを含めて、2年度目の前半までに結果を出す。この実験系により、麻酔下での実験データの確証となり、CO₂ 死因の直接死因のメカニズムの解明には必須の実験系と考える。

(2) 当該分野における本研究の学術的な特色

CO₂ 中毒による直接死因の解明により、医学界における全く新しい診断基準の確立から新たな治療法の可能性につながる。さらにそれだけでなく、環境科学的にも大きな影響を与える結果となるであろう。温室効果ガスとしての CO₂ の環境濃度の基準にも世界的なメッセージを与えることになる。

(3) 本研究の斬新性、チャレンジ性

二酸化炭素は環境中にごくありふれた物質で、その有毒性が問題となることはまずない。しかし、空気中の二酸化炭素濃度が高くなると、人間は危険な状態に置かれる。

濃度が 3~4% を超えると頭痛・めまい・吐き気などを催し、7% を超えると炭酸ガスナルコーシスのため数分で意識を失う。これまで、CO₂ 中毒死の原因は酸素欠乏によるものが大きいことで説明されていたが、それだけでは説明できないことは容易に理解できる。さらなる原因としても神経系に及ぼす呼吸抑制効果であろうと推測されてきたが、そのメカニズムについては全く不明である。本研究は、その希薄な科学的根拠に踏み込むことに大きな斬新性とチャレンジ性が存在する。



(4) 新しい原理の発展や斬新な着想や方法論の提案を行うものである点

本研究は、特に新しい研究手法を駆使する実験ではなく、むしろ段階的手法とスクリーニング的手法を用いた着実な結果を目的としている。直接死因の特定のために、呼吸循環器系を詳細なモニタリングで追跡する方法を取るため直接死因の鑑別は可能である。その結果によりさらなる原因究明に進むため、研究手法としても確実性がある。その後の生化学的、分子生物学的実験のターゲット組織としては心、肺、脳を選択しており、血流破綻、代謝異常、肥大・増殖・炎症、アポトーシスあるいはオートファジーを想定しつつも、マイクロアレイ、プロテオミクスを行いその方向性を確かめる。これまで手をつけられていない結果を求められるため、より着実な方法が重要と考えられる。

(5) 成功した場合に卓越した成果が期待でき

るものである点

具体的には、CO₂ 中毒による直接死因の解明により、呼吸器管理中の重症患者に対する呼吸管理の新たな基準を提案できる、血中 CO₂ 濃度による呼吸器疾患患者の予後予測ができる、など医学界における全く新しい診断基準の確立から新たな治療法の可能性につながる。さらにそれだけでなく、環境科学的にも大きな影響を与え、世界的なメッセージを与えることになるであろう。温室効果ガスとしての CO₂ の環境濃度の基準だけでなく、作業現場、労働環境や観光地など自然環境における CO₂ 濃度の設定など、新たな概念が導入されることになる。医療現場など特殊な現場だけでなく、一般的な環境に大きな影響を与える結果となるであろう。

3. 研究の方法

a. 麻酔下ラットカテーテル心機能、血液ガス分析モニタリング (in vivo 実験)

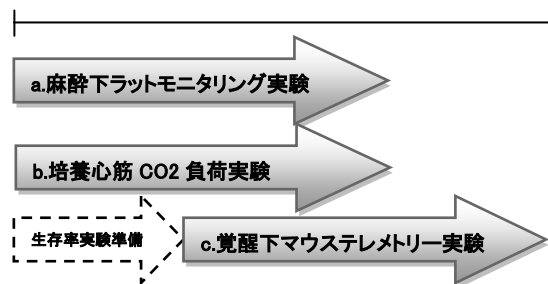
CO₂ 負荷によるカテーテル・心電図による不整脈の出現の有無、心機能の評価、血液ガス分析の経時的測定による肺機能評価。静脈血採血および摘出心、肺、脳の生化学的、分子生物学的評価。直接死因との関与を生理学的、生化学的、分子生物学的 in vivo レベルで検討する。

b. 心筋培養 CO₂ 負荷実験 (in vitro 実験)

細胞レベルでの CO₂ 負荷による心筋代謝、肥大・増殖・炎症、アポトーシスの評価を目的とする。

c. 覚醒下マウス血圧・心電図モニタリング、生存率評価 (in vivo 実験)

CO₂ 濃度による生存率の評価。覚醒下マウス血圧・心電図モニタリング。麻酔下実験からの確認。直接死因のメカニズムの解明を目的とする。



4. 研究成果

ラット SD♂ 10 or 11 週齢を使用し、高濃度 CO₂ 曝露時の急性期変化の観察を行った。以下の各ラットの条件およびその結果と示す。

No	週齢	体重(g)	O ₂ 濃度 (%)	予想CO ₂ 濃度 (%)	時間(分)
1	11	385	18.0%	14.1%	30
2	10	324	16.0%	23.6%	15
3	10	396	12.4%	40.8%	15
4	10	404	11.2%	46.5%	15
5	10	324	11.5%	45.1%	15
6	11	385	11.5%	45.1%	15
7	10	396	10.4%	50.4%	15

CO₂ 濃度が 50~80% で、30 分後に死亡することが確認されている。モニタリングデータなどの詳細なデータも集積中である。

ラットモデルにおいては、50% を超える相当量の CO₂ 濃度が必要なことが確認できており、当初の予想より CO₂ の致死濃度は非常に大きくなった。今後のこの濃度を使用し、同濃度の N₂ をコントロールとして使用していく。現在、モデルの作成が安定してきており、同実験が進行中である。同様に、解析も平行して行っており、結果を待っている状態である。

In vivo の結果の確認後、in vitro 実験の追加を行う予定であり、より詳細なメカニズムの検討に移る。現在、CO₂ の濃度の設定に苦慮したが、モデル動物としては安定してきており、今後のデータの蓄積が期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水谷 太郎 (MIZUTANI TARO)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：80181890

(2) 研究分担者

下條 信威 (SHIMOJO NOBUTAKE)
筑波大学・医学医療系・講師
研究者番号：20462210