

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 18 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462417

研究課題名(和文) 微小循環および血液凝固を指標としたショック病態の解明

研究課題名(英文) The study of shock states using microcirculation or coagulation as relevant indices

研究代表者

小森 万希子 (KOMORI, MAKIKO)

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：60178332

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：基礎研究では兎耳窓法を用いて、ショック状態(出血、敗血症、アナフィラキシー)時の微小循環動態を研究した。細動脈の血管径、血流速度および細静脈の白血球動態を直視下に観察し、ショック時の微小循環動態の知見が得られた。出血性ショック時のハイドロキシエチルスターチ(HES)による輸液蘇生では、生理食塩水投与よりも、細動脈の血管径、血流速度、血流量は上昇し、微小循環および中心静脈酸素飽和度は好転した。臨床研究では集中治療室に収容された患者での爪床の微小循環を生体顕微鏡で直視下に観察した。心不全を有する患者は、血管密度が比較的高く、血管径が細かった。

研究成果の概要(英文)：In the fundamental research, microcirculation dynamics at shock states (hemorrhage, sepsis, anaphylaxis) was studied by microscopic observation using a rabbit ear chamber (REC). An arteriolar vascular diameter, a blood flow rate and motions of venular leukocyte in REC were directly recorded and analyzed during shock states. In the case of a hemorrhagic shock, we studied the effects of hydroxyethyl starch (HES) on the microcirculation and central venous oxygen saturation (ScvO₂). After fluid infusion, the recovery of arteriolar diameter, blood flow velocity, and blood flow rate was significantly better in the HES group than in the normal saline group. ScvO₂ after completing infusion was significantly greater in the HES group. In the clinical research, we observed nail bed microcirculation by intravital microscopy in ICU. The vessel diameter of the patient with the cardiac failure was significantly thinner, but the density of the blood vessel was higher than that of a normal person.

研究分野：医歯薬学

キーワード：微小循環 ショック 敗血症 大量出血

1. 研究開始当初の背景

ショック発症早期では血圧が保たれているにもかかわらず、微小循環障害が発生することがある。そのような早期微小循環が不良のショック患者は予後が悪いと報告されている。この観点から、特に発症早期で微小循環を維持することは重要であると考えられる。敗血症性ショックは高齢化人工の増加と侵襲的治療の普及および耐性菌の出現などにより増加傾向にあり、その死亡率の高さから世界中で盛んに研究されている。一方、新薬のめざましい開発により使用される薬物の種類の増加や同一患者での薬物の使用頻度の上昇に伴って、アナフィラキシーショックが増加する傾向にあり、一度発症すれば、重症な循環虚脱に陥り、死亡することもあるので注目を集めている。また、周術期などでは出血性ショックに遭遇し、不測の事態に陥ることもある。我々は、各種ショックモデルにて微小循環および血液凝固を研究することによりメカニズムを解明できれば、現在の治療に比べより特異的な治療を行い得ることができると考える。

2. 研究の目的

各種ショックモデル(敗血症、急性大量出血、アナフィラキシー)における微小循環現象を家兔耳窓微小循環において直視下に経時的に観察し、治療薬による微小循環障害および血液凝固障害の治療経過を調べその効果を評価し、新しい治療への応用と発展させる。臨床研究においては、集中治療室収容患者に、無侵襲でベッドサイドで観察可能である爪床の微小循環を観察する。

3. 研究の方法

(1)基礎研究

Rabbit ear chamber (REC)モデル作成: 家兔の耳介にアクリル樹脂製透明窓を装着する。6週間経て新生血管再生後この窓を通して毛細血管を3-CCDビデオテレビを装備し生体顕微鏡下にリアルタイムに観察する。

a) 全身型凝集性アナフィラキシーショック: 家兔に抗原としてウマ血清 (Cat.No.1650-015; GibcoLAB, Grand Island, New York.)を3ml皮下注射し、2日後に3ml静注する。ショックは14日経てから、ウマの血清4mlを点滴静注してアナフィラ

キシーショックを惹起させる。

b) 敗血症性ショック: エンドトキシン

(Sigma社製 E coli, B4 lipopolysaccharide; LPS)を0.5~10mgを濃度を変えて生理食塩水に溶解し、20分かけて点滴静脈内投与する。

c) 出血性ショックモデル: 15-20mlの脱血を4-5回に分けて行い、循環血液量の40-50%の脱血を行い、人為的大量出血とする。

において全身麻酔下、生体顕微鏡下に抗原あるいはLPS注入し、心電図、動脈圧、中心静脈圧、心拍出量等の循環動態評価を行い、微小循環は血管径、血流速度、血流量の変化、白血球や血小板の血管内皮への接着、赤血球の連鎖形成を直視下に観察する。気管挿管下で呼吸管理を行い、血液ガス分析、気道内圧をモニターする。

輸液蘇生の評価: 各種ショック状態前後で膠質液、晶質液、高張食塩水による輸液を行い、アポトーシスおよび微小循環、肺の酸素化能について比較検討する。

Edwards PediaSat Oximetry Catheterを用いて中心静脈血酸素飽和度を連続的にモニタリングする。48時間継続して死亡率をみる。

(2)臨床研究

ショックで集中治療室に収容された患者について、爪床微小循環の観察を行う。顕微鏡、カメラ、コンピュータシステムを用いて、細動静脈、毛細血管の形状、血管径、血流速度、密度、白血球動態を観察する。治療経過、予後について、検討する。

コントロールドショック状態の人工心肺下の手術患者に対して、全血凝固線溶分析装置(ROTEM)を測定し、輸血の判断を行う。

4. 研究成果

(1)出血性ショックに対する輸液蘇生の効果: ミクロとマクロの指標を用いて

出血性ショックに対する輸液蘇生の効果をみるために、膠質液である中分子量ヒドロキシエチルデンプン(HES)を用いた場合、ミクロの指標として微小循環動態を、そしてマクロの指標として中心静脈酸素飽和度(ScvO₂)および中心静脈血と動脈血の二酸化炭素分圧較差(dCO₂)について晶質液と比較した。家兔耳介に透明窓を装着し微小血管の循環動態を生体顕微鏡下で観察した。血

流速はビデオカメラで赤血球の移動距離よりを求め血流量は血流速度と血管の断面積の積より算出した。内頸静脈より CV オキシメトリカテーターを挿入し ScvO₂ を測定した。麻酔はイソフルランで維持した。脱血量を循環血液量の 50% を目標として、1 回の脱血量を 20ml として 4 段階に分けて 3 分間隔で計 80ml を脱血した。中分子量 HES 投与の HES 群 (n=10) は脱血操作後、HES を 20ml 急速静注したのち、160ml/hr 点滴静注し、総量 100ml を静脈内に投与した。生食投与の生食群 (n=10) では生食を中分子量 HES と同様の方法で 3 倍量投与した。統計処理は t 検定で行った。

結果は、輸液終了後、生食群の血管径は 62±11% の回復に対し、HES 群は 97±11% に回復し、血管径は HES 群で有意に上昇がみられた (p<0.005)。血流速度と血流量も同様であった (p<0.005)。ScvO₂ は輸液蘇生後、生食群は 42±6% に対し、HES 群は 84±10% に回復した (p<0.005)。dCO₂ は輸液蘇生後、生食群は 9.3±2.4 mmHg、HES 群は 5.2±1.3 mmHg となり HES 群で有意に低下した (p<0.05)。

急性大量出血における輸液蘇生で中分子量 HES は生食に比し、微小循環動態、中心静脈酸素飽和度および dCO₂ に改善がみられた。

(2) アナフィラキシーショック時の微小循環

アナフィラキシーショック時には気管支平滑筋攣縮、血管平滑筋拡張、毛細血管透過性亢進がおり、血漿漏出により循環血液量減少をきたす。そして、血管透過性亢進により血液濃縮を来し微小循環障害がおこる。ウサギの全身型凝集性アナフィラキシーモデルを用いて、アナフィラキシーショック時の微小循環を直視下に観察した⁸⁾。抗原としてウマ血清を使用した。ショック惹起前の細動脈の血管径、血流速度、血流量を 100% とすると、ショック惹起 4 分後にはそれぞれ平均 25%、19%、5% となり惹起前と比べて有意に減少していた (p<0.01 vs. 惹起前)。ショックからの回復期 (惹起 45 分後) はそれぞれ平均 40%、36%、18% になった (p<0.05 vs. 惹起前)。細動脈、細静脈、毛細血管が収縮し、微小

循環が不良となっていた。ショック回復後も微小循環はあまり良好ではなかった。尿量は 2.1 ml/kg/hr、生存率は 59% であった。本実験では、アナフィラキシー惹起初期においても末梢血管の拡張による皮膚の血流増加はみられなかった。抗ショック薬による治療効果を継続研究していく。

(3) 敗血症時の微小循環

敗血症の発症早期では血圧が保たれているにもかかわらず、微小循環障害が発生することがある。敗血症早期に微小循環が不良の患者は予後が悪いとも報告されている。従って敗血症で発症早期に微小循環を維持することは重要である。急性敗血症モデルで細動脈の血管径、血流速度、血流量の変化および細静脈の白血球動態を REC 法で生体顕微鏡下に観察した。Sigma 社製エンドトキシン (E.coli lipopolysaccharide 055:B5 ; LPS) 0.3 mg · kg⁻¹ を生理食塩水 20mL に溶解し、20 分で点滴静注し、急性敗血症モデルを作成した。家兔を LPS 非投与のコントロール群 (C 群, n=6) LPS 投与群 (L 群, n=10) に分け、6 時間まで経時的に微小循環動態の測定を行った。細動脈の血管径は対照値を 100% とすると、6 時間後は C 群では 95.1±4.4%、L 群では 50.2±12.4% となり、LPS 投与で有意に低下した (p<0.005)。細動脈の血流速度および血流量も同様に LPS 投与で有意に低下した (p<0.001)。回転白血球数は C 群では対照値は 2.8±2.3 個、2 時間後は 3.3±2.1 個、L 群では対照値は 2.4±1.9 個、2 時間後は 19.9±6.2 個となり、LPS 投与で有意に上昇した (p<0.05)。接着白血球数は C 群では対照値は 0.83±0.75 個、2 時間後は 1.3±1.0 個、L 群では対照値は 0.95±0.92 個、2 時間後は 8.7±3.2 個となり、LPS 投与で有意に上昇した (p<0.05)。LPS の投与で回転および接着白血球、血管内赤血球凝集現象がみられた。生存率は C 群では 1 日目も 2 日目も 100% (6/6)、L 群では 1 日目は 10% (1/10)、2 日目は 0% (0/10) であった。このように、家兔耳介の透明窓法を用いて、敗血症時の細動脈の血管径、血流速度および細静脈の白血球動態を直視下に観察した結果、敗血症早期で末梢の微小循環動態は不良となるという知見が得られた。敗血症性ショックに対する治療薬の効果について継続研究を行っていく。

(4)爪床の微小循環をの観察

爪床毛細血管観察法は、無侵襲的に微小循環動態の観察を行うことができる方法である。これまで、循環器疾患患者の爪床における形態的微小循環動態の観察を行なった。方法は集中治療室での心不全患者および心臓大血管手術後患者の左第4指爪床の微小循環を生体顕微鏡で直視下に観察した。結果は、健常者に比べ、循環器疾患を有する患者は、血管密度が比較的高く、血管径が細かった。何らかの循環不全が存在する場合、血管密度が増え、細胞内部環境が維持できるように対応しているのではないかと推測される。透析患者では血管径が太かったが血管密度は小さく、末梢循環が不良になりやすいことが示唆された。

(5)人工心肺を用いた心臓手術における周術期の出血量と血液製剤使用量：トロンボエラストメトリーを指標として

体外循環の使用は、希釈性変化、血小板機能異常、凝固・線溶系の亢進を伴いやすく、血液製剤使用率が高くなる。トロンボエラストメトリー (ROTEM) は、血餅の形成・退縮過程を経時的に評価し、血小板やフィブリン、線溶機能を測定できる。そこで、ROTEMの結果に基づいた新鮮凍結血漿 (FFP) の使用が盲目的な投与方法と比較して、人工心肺使用の心臓手術において、どの程度の出血量と血液製剤の削減につながるかを検討した。

人工心肺を用いた心臓手術を行い、手術中に ROTEM の結果に基づいて、FFP を投与した 66 人のデータを前向きに観察した。体外循環離脱 20 分前に、動脈血を採取し、ROTEM 上で外因系凝固経路 (EXTEM)、フィブリン重合 (FIBTEM) における凝固時間 (Clotting Time、CT) 血餅形成時間 (Clotting Formation Time、CFT) 最大血餅硬度 (Maximum Clot Firmness、MCF) を解析した。さらに、FIBTEM の MCF が 9mm 以下の場合に、MCF1mm の上昇につき 240ml の FFP を投与した。周術期の出血量、血液製剤使用量、凝固機能を、患者背景が一致した ROTEM 導入前の 68 人の患者と比較検討した。

ROTEM の結果に基づく FFP 投与は、盲

目的投与と比較して、手術中の濃厚赤血球製剤および FFP 使用率が減り、術後 24 時間の濃厚赤血球製剤および FFP の使用量、使用率、出血量が減った。体外循環離脱 20 分前の ROTEM 上、66 人中、28 人においてフィブリン重合機能の低下が認められ、FFP 投与した結果、FIBTEM の MCF は平均 9.5mm から 11.5mm まで上昇した。術後経過において、両群における重篤な副作用発生率や止血再開胸率などに違いはなかったが、術後の平均在院日数が 16.1 日から 12.7 日へと ROTEM 群において有意に減少した。ROTEM は体外循環中のヘパリン濃度が高い状態でも、正確かつ短時間に凝固機能異常の診断が可能であり、手術室にいる段階で、凝固・線溶状態を良好に調整することができる。

人工心肺装置を使用した心臓手術において、手術中の ROTEM を用いた FFP 投与は、盲目的投与と比較して、周術期の出血量、血液製剤使用量を減少させたのみならず、入院期間をも短縮させるという結論が得られた。

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)

[雑誌論文](計 14 件)

1. 小森万希子. 感染性播種性血管内凝固症候群と微小循環、グリコカリックスの関与 (総説). 臨床麻酔 40 (2): 153-60, 2016 査読有
2. Makiko Komori, Keiko Nishiyama, Junko Ichikawa, Mitsuharu Kodaka. Relations between Preoperative Glycated Albumin Levels and Co-morbidity in Patients Undergoing Surgery. Journal of Japanese College of Surgeons. 40 (4): 656-662, 2015 査読有
3. 市川順子、小高光晴、北原智子、佐藤敦彦、西山圭子、中野清治、小森万希子. 開心術における周術期の出血量、血液製剤使用に対してトラネキサム酸およびトロンボエラストメトリー (ROTEM[®]) 使用の有用性. 麻酔 64:131-8, 2015 麻酔 査読有

4. 小森万希子. 医師の現状と問題点. 日臨麻会誌 34(7) : 915-8 , 2014 査読無
 5. 遠藤暢人, 川真田美和子, 小森万希子. 先天性 AT 欠損症患者の術中管理に ACT の測定が有効であった一例. 麻酔 63(5): 572-4, 2014. 査読有
 6. Komori M, Nishiyama K, Ichikawa J, Kodaka M, Tomizawa Y. Current problems and working status of female anesthesiologists in Japan. Surg Today 44: 982-4, 2014. 査読有
 7. Ichikawa J, Kodaka M, Nishiyama K, Hirasaki Y, Ozaki M, Komori M. Reappearance of circulating heparin in whole blood heparin concentration-based management does not correlate with postoperative bleeding after cardiac surgery. J Cardiothorac Vasc Anesth. 28(4):1003-7. 2014. doi: 10.1053/j.jvca.2013.10.010. 査読有
 8. Ichikawa J, Kodaka M, Ando K. Intracardiac mass of the LAA during CPB for MVR. J Anesth. 28(4):645, 2014. doi: 10.1007/s00540-013-1760-z. 査読有
 9. Ichikawa J, Kodaka M, Kaneko G. Use of ROTEM and MEA in a cardiac surgical patient with ITP. J Anesth. 28(2):310, 2014. doi: 10.1007/s00540-013-1690-9. 査読有
 10. Kodaka M, Minayoshi H, Ichikawa J, Nishiyama K, Komori M. A prospective, randomized, blinded trial to compare continuous epidural block and femoral nerve block for total knee arthroplasty. J Anesth Clin Res 2014, 5:5 <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6148.1000410> 査読有
 11. Kodaka M, Tsukakoshi M, Miyao H, Tsuzaki K, Ichikawa J, Komori M. The fentanyl concentration required for immobility under propofol anesthesia is reduced by pre-treatment with flurbiprofen axetil. Can J Anaesth. 60(12):1204-11, 2013. 査読有
 12. Mukubo Y, Naruge D, Kawamata M, Hirai E, Komori M. A case of cerebral infarction after stellate ganglion block. J Tokyo Wom Med Univ 83:258-60,2013. 査読有
 13. 岡村圭子,市川順子, 鮫島由梨子, 西山圭子,工藤順子, 小高光晴, 小森万希子. ネーザルハイフロー (Optiflow) 鼻カニューレの高流量システムが気道内圧と胃容積に及ぼす影響.ICU と CCU 37 (10): 771-774 , 2013. 査読有
 14. 市川順子,小高光晴,西山圭子,佐藤敦彦,久保田沙弥香,川真田美和子,中野清治,小森万希子.大動脈弁置換術後に痙攣を発症した 1 症例.麻酔 62:186-188,2013. 査読有
- 〔学会発表〕(計 11 件)
1. Yoriko Sone, Makiko Komori, Keiko Nishiyama, Junko Ichikawa, Mitsuharu Kodaka, Yasuko Tomizawa. Effects of 6% Hydroxyethyl Starch 130/0.4 on Carbon Dioxide Gap and Peripheral Microcirculation in Hemorrhagic Shock. ASA Annual Meeting American Society of Anesthesiologists (San Diego (USA), October 27, 2015)
 2. Junko Ichikawa, Ichiro Koshino, Kazuyoshi Ando, Mitsuharu Kodaka, Makiko Komori. Transfusion of Stored Allogeneic Blood Decreased Deformability, Increased Density and Miniaturized Erythrocytes During Cardiac Surgery. ASA Annual Meeting American Society of Anesthesiologists (San Diego (USA), October 26, 2015)
 3. 市川 順子, 鮫島 由梨子, 市村 建人, 大野 まり子, 塚本 加奈子, 小森 万希子. トロンボモジュリンの組織プラスミンノーゲン活性化因子による線溶亢進に対する調節作用. 日本麻酔科学会第 62 回学術集会(2015 年 5 月 28 日, 神戸ポートピアホテル, 兵庫県神戸市)
 4. 市川 順子, 岡村 圭子, 金子 吾朗, 北原 智子, 西山 圭子, 小森 万希子. 術前のヘパリンによる抗凝固療法中止後の活性

- 化凝固時間(ACT)による残存ヘパリンの検出. 日本麻酔科学会第 62 回学術集会 (2015 年 5 月 28 日, 神戸ポートピアホテル, 兵庫県神戸市)
5. 鮫島 由梨子, 西山 圭子, 市川 順子, 森哲, 小高 光晴, 小森 万希子. 家兔急性大量出血モデルにおける中分子量ヒドロキシエチルデンプン(HES 130/0.4)の中心静脈血と動脈血の二酸化炭素分圧較差および微小循環動態への効果. 日本麻酔科学会第 62 回学術集会(2015 年 5 月 28 日, 神戸ポートピアホテル, 兵庫県神戸市)
 6. 丸淵 貴仁, 市川 順子, 黒川 桂子, 安藤一義, 小高 光晴, 小森 万希子. トロンボエラストメトリーに基づく新鮮凍結血漿の投与は、人工心肺を用いた心臓手術における周術期の出血と血液製剤使用量を減少させる. 日本麻酔科学会第 62 回学術集会(2015 年 5 月 28 日, 神戸ポートピアホテル, 兵庫県神戸市)
 7. 小森万希子. 家兔急性大量出血モデルにおける中分子量ヒドロキシエチルデンプンによる輸液蘇生の効果: 微小循環、中心静脈血酸素飽和度および膠質浸透圧を指標として. 第 118 回日本産科麻酔学会学術集会(2014 年 11 月 24 日, 日経ホール, 東京・大手町)
 8. Makiko Komori, Goro Kaneko, Yoriko Sone, Mitsuharu Kodaka, Keiko Nishiyama, Yasuko Tomizawa. Effects of Hydroxyethyl Starch 130/0.4 (6%) on Microcirculation and Central Venous Oxygen Saturation in a Hemorrhagic Shock. ASA Annual Meeting American Society of Anesthesiologists (New Orleans (USA), October 13, 2014)
 9. 黒川 桂子, 西山 圭子, 市川 順子, 小高 光晴, 小森 万希子. 家兔急性大量出血モデルにおける中分子量ヒドロキシエチルデンプンの微小循環動態および中心静脈酸素飽和度への効果. 日本麻酔科学会第 61 回学術集会(2014 年 5 月 16 日, パシフィコ横浜, 神奈川県横浜市)
 10. Makiko Komori, Goro Kaneko, Kazuyoshi Ando, Mitsuharu Kodaka, Yoriko Sone, Yasuko Tomizawa. Relation Between Serum Glycated Albumin Levels and Complications in Patients Undergoing Surgery. ASA Annual Meeting American Society of Anesthesiologists (San Francisco (USA), October 15, 2013)
 11. Makiko Komori, Yoriko Sone, Kazuyoshi Ando, Goro Kaneko, Keiko Nishiyama, Yasuko Tomizawa, Mitsuharu Kodaka. Effects of Recombinant Human Soluble Thrombomodulin in Patients With Disseminated Intravascular Coagulation. ASA Annual Meeting American Society of Anesthesiologists (San Francisco (USA), October 13, 2013)
6. 研究組織
- (1)研究代表者

小森 万希子 (KOMORI, Makiko)
東京女子医科大学・医学部・教授
研究者番号: 60178332
 - (2)研究分担者

西山 圭子 (NISHIYAMA, Keiko)
東京女子医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 00155532

富澤 康子 (TOMIZAWA, Yasuko)
東京女子医科大学・医学部・助教
研究者番号: 00159047

小高 光晴 (KODAKA, Mitsuharu)
東京女子医科大学・医学部・臨床教授
研究者番号: 90280635

市川 順子 (ICHIKAWA, Junko)
東京女子医科大学・医学部・講師
研究者番号: 60318144