

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462427

研究課題名(和文) 周術期急性肺傷害におけるバイオマーカープロファイルの検討

研究課題名(英文) Biomarker profiles of perioperative acute lung injury

研究代表者

山本 衛 (Mamoru, Yamamoto)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90422477

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：心臓手術患者80例の血清・血漿サンプルについて、IL-8およびAngiopoietin-2 (ANG-2)、濃度の測定を追加したところ、術後3日以上的人工呼吸を必要とする症例において高値を示し、術後の血管透過性亢進を反映するバイオマーカーとしての有用性が示唆された。さらに、肺外科手術70症例について、IL-8、ANG-2の変動について検討したところ、IL-8が術直後にピーク値をとったのに対して、ANG-2は、術直後より手術翌日にかけて有意に上昇した。上昇の程度は、いずれの指標においても、胸膜剥離術で有意に高く、本術式では、術後一過性にサイトカインが高値となる特徴を有していることが示された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we measured serum levels of interleukin-8 and angiopoietin-II in (1) 80 patients undergoing elective cardiac surgery, and (2) 70 patients undergoing lung surgery. We showed that serum levels of angiopoietin-II elevated up to POD-1 whereas interleukin-8 levels peaked immediately after surgery in these two study cohorts. In the lung surgery study, the serum levels of these two biomarkers were significantly higher in patients undergoing pleurectomy/decortication, than those in patients undergoing lobectomy.

研究分野：麻酔科学

キーワード：バイオマーカー 急性肺傷害

1. 研究開始当初の背景

われわれの研究グループでは、RAGE (Receptor for Advanced Glycation End-products) という、肺胞 I 型上皮に特異的に発現している膜結合タンパクに注目し、このタンパクの、肺傷害マーカーとしての実用性について研究してきた。ラットを用いた急性肺傷害モデルでは、RAGE は BAL 中および血中に検出され、その濃度は、侵襲の大きさを反映して増加した。また、免疫組織学的な検討では、エンドトキシン投与後でも、RAGE を発現しているのは、I 型肺胞上皮細胞に限られており、肺傷害で BAL 中や血中で検出される RAGE は急性炎症により、I 型肺胞上皮から遊離されたものと考えられた。さらに、静水圧性肺水腫患者と急性肺傷害患者における血中および肺水腫液中の RAGE 濃度の比較では、いずれの検体においても、急性肺傷害患者における RAGE 濃度が静水圧性肺水腫患者における濃度より有意に高かった。アメリカのグループは ARDS 患者や肺移植手術患者の血漿サンプルを用いて、ARDS 患者における死亡例や肺移植における Primary Graft Dysfunction 症例において、RAGE が有意な上昇を示すことを示し、続いて、我々も内田らを中心に組織された多施設共同研究により、心臓・大血管手術患者において、術直後の人工呼吸日数や ICU 滞在期間と有意な相関を示すことを明らかにしてきた。ここ数年、ARDS 患者における肺傷害マーカーの検討においては、I 型肺胞上皮マーカーのほかに、炎症性マーカー、II 型肺胞上皮マーカー、内皮性マーカー、血液凝固関連因子等の検討が行われ、重症度に相関するマーカーがいくつか提唱されている。しかし、ARDS 患者の検討と周術期患者における検討を比較すると、前者は 30% 前後の死亡率を有する重症患者が対象となるのに対して、周術期患者では死亡例が少ないという特徴があり、対象となる患者層が異なるため、ARDS 患者における結果をそのまま周術期の急性肺傷害にあてはめることは必ずしも適切ではない。また、周術期患者では、手術の種類によって、背景となる基礎疾患・合併症も異なる場合が多く、手術ごとに肺傷害を起こすメカニズムが異なる可能性もあるが、肺に何が起きているかを示す臨床的な指標は十分ではない。比較的、肺傷害を受けやすいと考えられる患者群において、血液ガス分析による酸素化の評価だけでなく、手術の影響で値が変化してくる単独または複数のバイオマーカーを同定し、術直後または患者の状態の追跡に用いることは、周術期管理の質を向上させる上で重要なことと考えられる。そこで、今回我々は、これまで検討してきた症例に加えて、対象疾患と測定項目を増加させ、各手術ごとのバイオ

マーカーの推移の特徴について検討することを計画した。

2. 研究の目的

今回我々は、(1) これまで検討してきた心臓外科の症例における angiopoietin-1, II の肺傷害マーカーとしての性質を検討することと、(2) 肺外科手術における、上皮性、内皮性、炎症性マーカーについて、バイオマーカーの時間的推移の特徴を明らかにすることを目的として本研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 多施設共同研究「RAGE の肺傷害マーカーとしての臨床的意義の検討 探索的研究」における追加検討

平成 19 年度より 3 年間施行された多施設共同研究では、116 例の対象患者について、RAGE, SP-D, vWF 濃度の推移が検討された。この時、集められたデータおよび血清・血漿サンプルについて、IL-8 および Angiopoietin-2、濃度測定を追加し、臨床的データと合わせて検討し、周術期のバイオマーカーとしての予後予測因子としての有用性について検討した。また、追加検討として、Neutrophil extracellular trap の形成を定量し、周術期肺傷害との関連について検討も加えた。

(2) 肺外科手術におけるバイオマーカーの変動に関する検討 探索的単施設研究

東京医科歯科大学医学部附属病院において、肺外科手術を受ける患者を対象に、麻酔導入直後と手術終了直後、並びに術後第 1 病日の 3 回にわたり、血清、血漿を採取し、sRAGE, SP-D, IL-6, IL-8, Angiopoietin-2 の濃度を測定した。肺部分切除、肺葉切除術、肺全摘術、胸膜全摘術、胸膜肺全摘術および、比較対象として肺組織を切除しない縦隔腫瘍切除術において、肺組織ならびに胸膜を切除する術式に特徴的なバイオマーカーの変動パターンが観察されるかどうかを比較検討した。

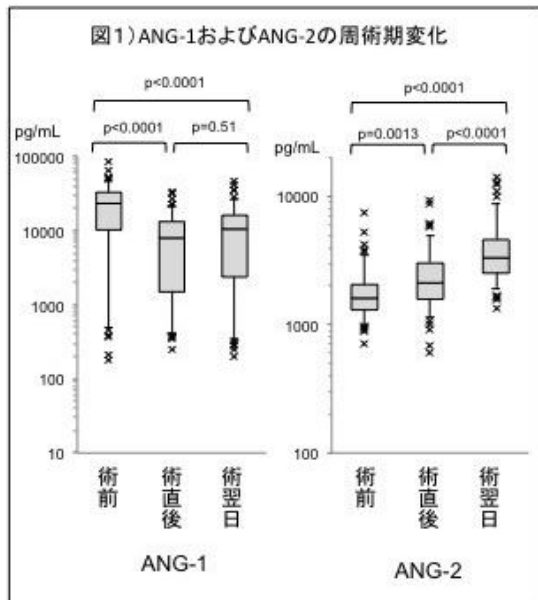
4. 研究成果

(1) 多施設共同研究「RAGE の肺傷害マーカーとしての臨床的意義の検討 探索的研究」における追加検討

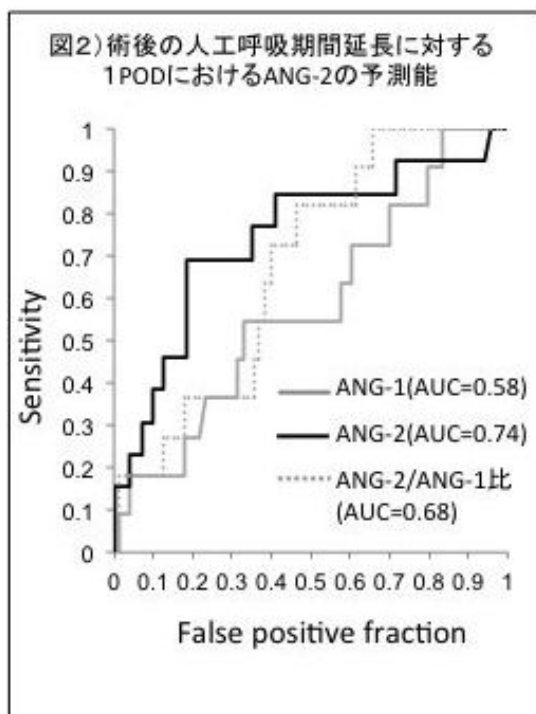
Angiopoietin-1 および-2 (ANG-1, -2) は血管透過性の調節に関与する重要な因子であり、ANG-1 には内皮細胞間の結合を強めて血管透過性を下げる働きがあるが、炎症などにより内皮が活性化されると、ANG-2 が放出されて、ANG-1 の働きに拮抗する形で血管の透過性は

亢進する。今回、成人心臓手術後において ANG-1 と ANG-2 の変化を調べ、臨床経過との関係についてしらべた。3施設で心臓手術を受けた84名の成人患者から、麻酔導入直後、手術直後、手術翌日の3回採取された血清サンプルについて、ANG-1 および ANG-2 濃度を測定し、臨床データと合わせて検討した。群間比較はクリスカルワリス検定およびシェッフェ法による多重比較を行い、予後予測性能の評価には ROC 解析を用いた。

ANG-1 は手術直後に低下し、ANG-2 は1 POD まで上昇し続けた(図1)。



1 POD における ANG-2 はオフポンプ CABG を受けた患者と比較して、大動脈手術 ($p=0.0009$) と弁置換術 ($p=0.008$) では有意に高かった



が、ANG-1 では術式間での差は認められなかった。術後3日間を越える人工呼吸期間の延

長に対する予測能について ROC 解析を行うと、手術翌日における ANG-2 の曲線下面積は 0.74 と良好な予測能を示し、ANG-1 の 0.58 や ANG-2/ANG-1 比の 0.68 よりも高かった。ANG-2 の上昇に影響を与える一因として人工心肺が挙げられ、ANG-2 の上昇は術後の人工呼吸期間の延長に対して良好な予測能を示した。ANG-2 について、術後の血管透過性亢進を反映するバイオマーカーとしての可能性が示唆された。

また、心臓手術中の NETs 形成の指標として、血清中の二重鎖 DNA 濃度を、麻酔導入直後 (Baseline)、手術直後 (PostOp)、手術の翌日 (POD1) の3点で測定を行い、手術に伴う二重鎖 DNA (dsDNA) 濃度の変化と臓器傷害との関連について検討したところ、手術を受けた患者において、術直後に DNA 分解酵素の活性が低下し、二重鎖 DNA の濃度が上昇し、手術翌日の血清二重鎖 DNA 濃度は、血清 sRAGE レベルとの相関はなかったが、術前から手術翌日にかけての血清クレアチニン値との間に比較的強い相関が認められること (図3)、などが明らかになった。

手術翌日の血清二重鎖 DNA 濃度は、血清 sRAGE レベルとの相関はなかったが、術前から手術翌日にかけての血清クレアチニン値との間に比較的強い相関が認められること (図3)、などが明らかになった。

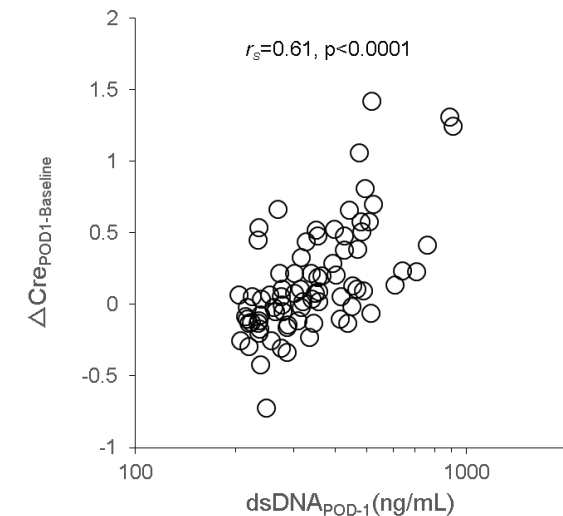


図3: 術前から手術翌日(POD-1)にかけての血清クレアチニン値の変動 ($\Delta Cr_{POD1-Baseline}$) と血清二重鎖 DNA ($dsDNA_{POD-1}$) 濃度の相関。心臓手術を受けた患者 80 名における検討結果。スピアマン検定で $r_s = 0.61$ と有意な相関を示した。

(2) 肺外科手術におけるバイオマーカーの変動に関する検討 探索的単施設研究

東京医科歯科大学医学部附属病院で施行された肺部分切除 15 例、肺葉切除 59 例、胸膜剥離手術 6 症例における麻酔導入直後、手術終了直後及び手術翌日に採血を行い IL-8、Angiopoietin-2 の変動について検討した。肺部分切除術においては、上記3測定ポイントにおけるこれら2つのバイオマーカー測定値に有意な変化が認められなかったが、肺葉切除手術、胸膜剥離手術においては、IL-8 が術

直後にピーク値をとったのに対して、Angiopoietin-2は、術直後より手術翌日にかけて有意に上昇した。上昇の程度は、いずれの指標においても、胸膜剥離術では、肺葉切除よりも有意に高く、本術式では、術後一過性にサイトカイン値が高値となる特徴を有していることが示された。しかし、手術翌日のAngiopoietin-2濃度の中間値、四分位範囲は2.7ng/mL、2.1-3.4ng/mLであり、我々が心臓手術で行った呼吸不全を示唆するカットオフ値4.6ng/mLよりは低く、今回対象となつたいずれの患者も手術直後の抜管が成功し、再挿管に至ることがなかったことに矛盾しない結果となった。

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3件)

1. Qi Y, Uchida T, Yamamoto M, Yamamoto Y, Kido K, Ito H, Ohno N, Asahara M, Yamada Y, Yamaguchi O, Mitaka C, Tomita M, Makita K. Perioperative Elevation in Cell-Free DNA Levels in Patients Undergoing Cardiac Surgery: Possible Contribution of Neutrophil Extracellular Traps to Perioperative Renal Dysfunction. *Anesthesiol. Res. Pract.* 2016;2016:2794364. (査読あり)
2. Uchida T, Ito H, Yamamoto H, Ohno N, Asahara M, Yamada Y, Yamaguchi O, Tomita M, Makita K. Elevated levels of angiopoietin-2 as a biomarker for respiratory failure after cardiac surgery. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2014;28:1293-301. (査読あり)
3. Uchida T, Ohno N, Asahara M, Yamada Y, Yamaguchi O, Tomita M, Makita K. Soluble isoform of the receptor for advanced glycation end products as a biomarker for postoperative respiratory failure after cardiac surgery. *PLoS One.* 2013;8:e70200. (査読あり)

[学会発表](計4件)

1. 内田篤治郎. シンポジウム 全身麻酔中の換気設定を見直す：手術室における人工呼吸器の設定について(分離肺換気症例を除く):術後急性肺合併症の予防と肺保護的換気法. 日本麻酔科学会第62回学術集会 2015.5.30. 神戸国際会議場 (兵庫県 神戸市)
2. Yamamoto Y, Uchida T, Ito H, Kido K, Yamamoto Y, Yamada Y, Ohno N, Asahara M, Yamaguchi O, Makita K. Perioperative Elevation in Cell Free

DNA Levels in Patients Undergoing Cardiac Surgery: Possible Contribution of Neutrophil Extracellular Traps to Perioperative Renal Dysfunction: A Multicenter Observational Study. *Anesthesiology* 2015. 2015.10.24 San Diego, (USA)

3. 山本 寛人, 内田 篤治郎, 大野 長良, 浅原 美保, 山田 芳嗣, 山口 修. Angiopoietin-1およびAngiopoietin-2は心臓術後の血管透過性を評価するバイオマーカーとして有用か. 日本麻酔科学会第61回学術集会 2014.5.17. 横浜国際会議場 (神奈川県 横浜市)
4. Yamamoto H, Uchida T, Ito H, Ohno N, Asahara M, Yamada Y, Yamaguchi O, Makita K. Serum Angiopoietin-2 as a Biomarker for Postoperative Respiratory Failure After Cardiac Surgery. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists 2013.10.12, San Francisco, (USA)

6. 研究組織

(1)研究代表者

山本 衛 (Mamoru YAMAMOTO)
東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：90422477

(2)研究分担者

三高 千恵子 (Chieko MITAKA)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師
研究者番号：20126254

内田 篤治郎 (Tokujiro UCHIDA)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授
研究者番号：40262183