

令和元年6月28日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10975

研究課題名(和文) 出血性ショック後の臓器障害に与える一酸化窒素吸入の効果に関する研究

研究課題名(英文) ORGAN PROTECTION AND IMPROVEMENT OF SURVIVAL AFTER HEMORRHAGIC SHOCK BY TREATMENT WITH INHALED NITRIC OXIDE(NO) IN A RAT MODEL

研究代表者

御室 総一郎 (Soichiro, Mimuro)

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90464114

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)：出血性ショックラットに対して吸入NOの生存率に対する効果を検討した。輸液蘇生後の出血性ショックラットに吸入NOを30分投与したところ、12時間後の生存率はNO非投与群と比べ有意(p=0.033)に改善した。上大静脈における亜硝酸塩(NO₂)濃度はNO非投与群と比べ、投与5時間後まで有意に高値であった。吸入NOによって亜硝酸塩濃度が上昇することで組織障害が低下したことが推測された。出血性ショック早期にNO投与が有用である可能性が示唆された。しかし機器の不具合によりその機序に迫ることが解明することができなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

出血性ショック後の臓器障害や予後は、まだ十分に改善されていない。出血性ショックにおいてNOは臓器障害の機序に関与していると考えられている。出血後の時期によって以下のようにNOの産生が変化する。早期には、endothelial NOS (eNOS)の活性が低下し、NO産生が低下し、晩期には炎症カスケードの誘導により、inducible NOS (iNOS)が過剰に活性化されてNOが過剰に産生される。これが重症化に関与しているとされる。そこにさらに出血性ショックの際にNOを投与することにより予後を改善することにせまった研究といえる。

研究成果の概要(英文)：Organ dysfunction following hemorrhagic shock and the vital prognosis have not improved sufficiently over time. Control of NO production by intravenous administration of NO donors and NOS inhibitors has been attempted, but these are not suitable for clinical application. Inhaled NO is an agent with sufficient clinical safety and experience, but it has not been reported for use in the treatment of hemorrhagic shock. Thus, we investigated whether inhaled NO administration leads to differences in survival and central venous NO₂ levels in a rat hemorrhagic shock model. The survival rate was higher in the group with hemorrhagic shock followed by inhaled NO compared with the group without inhaled NO (p=0.033). The survival rate increased in hemorrhagic shock rats that were treated with inhaled NO compared with rats that were not. It was suggested that administration of inhaled NO is effective for the early phase of hemorrhagic shock.

研究分野：救急集中治療医学

キーワード：出血性ショック 一酸化窒素 予後

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景

出血性ショック後の臓器障害や予後はまだ十分に改善されていない。

出血性ショックにおいて NOS(NO synthase)によって誘導される NO は臓器障害の機序に深く関与していると考えられている。

1. 早期には eNOS の活性が低下し NO 産生が低下すること (eNOS:endothelial NOS)
 2. 晩期には炎症カスケードが誘導され iNOS が過剰に活性化されて NO が過剰に産生されることが重症化に関与しているとされる。(iNOS:inducible NOS)
- NO ドナーや NOS 阻害薬の経静脈的投与により NO の産生をコントロールすることが試みられているがまだ臨床応用までには不十分である。

吸入 NO は臨床経験がある薬剤であるが、出血性ショックの治療に用いられた報告はない。全身的な血管拡張がない濃度の NO 吸入は、肺血管だけでなく全身的に作用し、静注した NO ドナーと比較し微小血流を改善し心筋の梗塞層を減少すると報告されている

2. 研究の目的

出血性ショック(hemorrhagic shock:HS)の重症化に一酸化窒素(nitric oxide:NO)は深く関わっている。HS の侵襲下では生体における NO 産生をコントロールすることは困難で、HS 初期には NO の不足による組織酸素代謝の悪化や炎症の誘導、HS 晩期では NO の過剰による細胞傷害性や血管拡張が起こる。

そこで本研究では吸入 NO の HS に対する臓器保護効果、全身炎症抑制効果、予後に対する効果を検討する。また HS 早期、晩期において NOS 阻害薬等の投与下で NO を吸入させることで NO の HS におけるメカニズムを解析する。

3. 研究の方法

SD ラット 30 匹に挿管全身麻酔下で研究を行った。

亜硝酸塩 (NO₂) 濃度測定：中心静脈に留置した微小透析プローブに透析液を灌流し酸化窒素分析システム (ENO-20 Eicom Japan Kyoto) を使用して継続的な亜硝酸塩濃度を測定した。

出血性ショックモデル：収縮期動脈圧を 40 mmHg 保つように、脱血及び返血を 1 時間行った。1 時間後に出血量と同等の輸液蘇生を行った。

無作為に以下の 3 群に分け、生存率を測定した。

NO 吸入群は人工呼吸器に NO 投与回路を組み込み輸液蘇生後に (t=0)NO を 20ppm で 30 分間吸入した。

コントロール群：出血性ショック - 吸入 NO -

NO 投与群：出血性ショック + 吸入 NO +

NO 非投与群：出血性ショック + 吸入 NO -

12 時間後生存しているラットから採血し HMGB1 を測定した。

統計

亜硝酸濃度は繰り返しのある 1 元分散分析、生存率はカプランマイヤー分析を行った。p < 0.05 を有意とした。

4. 研究成果

コントロールの生存率は 100%であった。12 時間における出血性ショック + 吸入 NO + 群は出血性ショック + 吸入 NO - 群に比べて生存率が高かった (図 1 p=0.033)。

出血性ショック + 吸入 NO + 群は亜硝酸塩濃度が有意に高かった。(vs 出血性ショック + 吸入 NO - 群, 出血性ショック - 吸入 NO - 群 3Hr, 5hr) (図 2)。HMGB1 は生存したラットのみからの採取となるが、出血性ショック + 吸入 NO + 群とコントロール群および出血性ショック + 吸入 NO - 群に比べ低い傾向があった (8.7 ± 7.6、8.3 ± 18.9、13.4 ± 3.2 ng/ml)。

NO 吸入と NO ドナー経静脈的投与の比較

Liu ら(2)によるとブタに対して前下行枝を 50 分クランプしたときに吸入 NO は硝酸薬の持続静注とコントロールに比べて、Area at risk の面積を減少させた。硝酸薬持続静注は血圧の低下、心機能の低下を招いたが、吸入 NO による血圧低下はなかった NO は硝酸薬に比べて生体内利用率が高く、微小循環を改善したと考察した本研究において出血性ショックにおける NO 吸入は血圧低下せず (data not shown) 生存率、組織障害の低下した

吸入 NO 濃度と臓器保護作用について

Hataishi ら(3)はマウスの心筋梗塞モデルを作成し 20, 40, 80ppm の NO を再灌流 20 分前から再灌流 24 時間まで吸入した 20ppm は効果がなく、40、80ppm は心筋梗塞サイズが減少し、左室機能が保護された。本研究では 20ppm × 30 分で生存率改善効果が認められ NO₂ の濃度、HMGB1 を組織障害の程度と考えると吸入 NO の保護効果は臨床使用濃度においても強力な長時間効果がある可能性が考えられた。

亜硝酸塩の臓器保護作用について

NO は NO 合成酵素によって酸素およびアルギニンから合成されるが、NO 合成酵素由来ではない

NO 産生経路があると報告されている(4)。以前は NO の不活化産物と考えられていた亜硝酸塩、硝酸塩が再び還元され NO となり、亜硝酸塩が NO を産生する NO 合成酵素以外の経路として考えられている。この経路の特徴として低酸素やアシドーシスの環境下で機能することが報告されている(5)。本研究においても血中の亜硝酸塩の濃度は投与後 5 時間まで有意に高濃度であり、亜硝酸による臓器保護作用があった可能性も考えられた。この研究の意義としては出血性ラットモデルに対して NO を吸入させることで臓器保護作用を得るところが意義のある所であった。実験において NO の測定機器の不具合があり、測定が困難な状況になったが、有用性は確認できた。しかし機序についてはこれからの研究が必要である

5 . 主な発表論文等

Medical Gases 2016

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Medical Gases 2016

〔学会発表〕(計 2 件)

日本麻酔科学会

Medical Gases 2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：加藤孝澄

ローマ字氏名：Takasumi Katoh

所属研究機関名：浜松医科大学

部局名：医学部麻酔・蘇生学講座

職名：准教授

研究者番号(8桁)：80204478

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。