

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007 ～ 2008

課題番号：19590685

研究課題名 (和文) 二酸化炭素中毒での循環不全に関する基礎的研究

研究課題名 (英文) Basic study of circulatory dysfunction caused by the acute poisoning of carbon dioxide

研究代表者

田中 敏子 (TANAKA TOSHIKO)

産業医科大学・医学部・講師

研究者番号：80141745

研究成果の概要：二酸化炭素 (CO<sub>2</sub>) の作用を低酸素によるものと区別するために、CO<sub>2</sub>と酸素を組み合わせた混合ガスを用いてラットによる実験を行った。その結果、今まであまり明らかとされていなかったCO<sub>2</sub>中毒の病態が生理学・生化学的および病理組織学的に明らかとなった。さらに、各種阻害剤を投与し循環不全を引き起こす動態および血清成分の変動を検討すると、いくつかの阻害剤が循環不全の進行を弱める可能性が考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医病理学

キーワード：二酸化炭素, アシドーシス, アポトーシス, LDH3, 炭酸脱水素酵素, p38-MAPK, iNOS

## 1. 研究開始当初の背景

二酸化炭素中毒は、工場ではドライアイス製造・発酵醸造・製糖・肥料製造の過程で、またサイロ・汚水渠・坑内その他換気不十分な場所で、さらに消火設備からの噴出、火山ガスの吸入などによって発生し、短時間のうちに急死することが多く、医療用吸入ガスの取り違い事故を含め、様々な場所での中毒事

故があとを絶たない。二酸化炭素が発生する場所では空気中の酸素が欠乏していることが多く、酸素欠乏による窒息も同時に起こり、死因として競合する場合が多い。さらに、中毒量の二酸化炭素の存在を死後の体内から証明することは難しく、死因の判定に苦慮することもしばしばである。

## 2. 研究の目的

これまで高濃度の二酸化炭素の吸入は呼吸性アシドーシスを生じ、酸素飽和曲線のシフトによって末梢への酸素供給欠乏を生じて不整脈などが発現する、あるいはカリウムなどの電解質の上昇によって心機能の異常を引き起こすことが指摘されている。ところが、二酸化炭素中毒による死亡時の血中酸素濃度は比較的高く、電解質の変化は明確ではない。一方、一酸化炭素中毒では心筋の過酸化水素や窒素過酸化物の直接作用が報告されているが、これらの影響は二酸化炭素では検討されていない。さらに様々なストレスによって生じるアポトーシスについても二酸化炭素の影響はほとんど検討されていない。すなわち、二酸化炭素中毒の発現機序に対する検討は、海外を含め充分に行われていない。

そこで、これらの影響を検討し、二酸化炭素中毒の発生メカニズムの一端を明らかにすることを試みた。

## 3. 研究の方法

(1) 自発呼吸下のラットに麻酔薬を投与し、容量約 2Lの透明曝露チャンバー内に入れた。チャンバー内には 0~40%の二酸化炭素 (CO<sub>2</sub>) と 21%または 12.6%の酸素 (O<sub>2</sub>) および窒素バランスよりなる混合ガスを毎分 4.5L流した。実験中、排気中のO<sub>2</sub>およびCO<sub>2</sub>濃度をガス測定器でモニターした。ラットの生理学的パラメーター (心電図, 血圧, 心拍数, 呼吸数) の変化をポリグラフで連続的に記録した。

(2) 採取した血液のガス分圧および pH を血液ガス測定装置により測定した。同時に、臓器機能を反映する血清での各指標および電解質の変動を測定した。

(3) 実験終了後、各主要臓器を取り出し、病理組織学的検査を行った。また臓器の一部は摘出後、直ちに-80℃の冷凍庫に保管し各種 mRNA の測定に供した。

(4) 二酸化炭素中毒の病態に影響すると考えられる各種阻害剤の作用を検討した。

## 4. 研究成果

### A. 生理学・生化学的, 病理組織学的検討

#### (1) 致死時間

O<sub>2</sub>を大気と同じ 21%にすると、CO<sub>2</sub> 30%で 8 時間 12 分、CO<sub>2</sub> 40%で平均 3 時間 51 分であった。O<sub>2</sub>を 12.6%に規定すると、CO<sub>2</sub> 0%で 20 時間以上、CO<sub>2</sub> 30%で 5 時間 17 分、CO<sub>2</sub> 40%で平均 3 時間 8 分であった(Fig.1)。

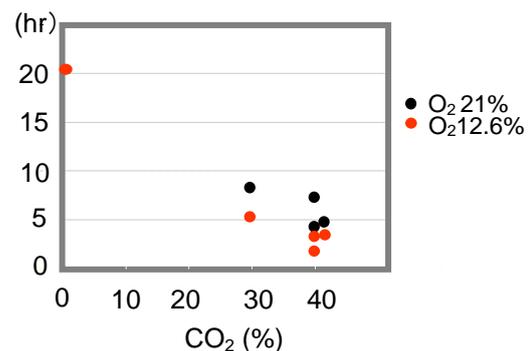


Fig.1 CO<sub>2</sub> Concentration and Lethal Time

#### (2) 循環動態

実験は対照群 (O<sub>2</sub> 21% / CO<sub>2</sub> 0%), Hypoxia群 (O<sub>2</sub> 12.6% / CO<sub>2</sub> 0%), CO<sub>2</sub>群 (O<sub>2</sub> 21% / CO<sub>2</sub> 40%), HypoxiaCO<sub>2</sub>群 (O<sub>2</sub> 12.6% / CO<sub>2</sub> 40%) の 4 群に分け、曝露開始 3 時間後まで観察した。対照群では、呼吸数, 血圧, 心拍数, 血液ガスに著明な変動はなく電解質も正常値であった。Hypoxia群の代表例をFig.2 に示す。Hypoxia曝露開始直後に平均血圧 (赤線) および心拍数 (青線) は減少し、呼吸数 (黒線) は増加した。

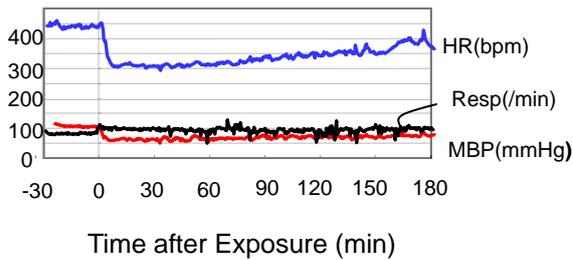


Fig.2 Response after Hypoxia

CO<sub>2</sub>群(Fig.3)およびHypoxiaCO<sub>2</sub>群(Fig.4)では、曝露 10 分以内に血圧は最大に心拍数は最小となり、以後徐々に回復した。呼吸数はCO<sub>2</sub>吸入開始直後に一過性に増加したのち直ちに抑制され、酸素飽和曲線は右方シフトした。CO<sub>2</sub>群とHypoxia群の循環動態は異なることが明らかとなった。さらにHypoxiaCO<sub>2</sub>群では初期にはCO<sub>2</sub>群と類似の反応を示し、後期には血中酸素飽和度の低下と循環不全の進展が認められた。

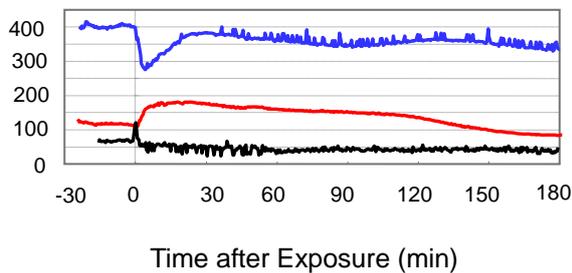


Fig.3 Response after CO<sub>2</sub>

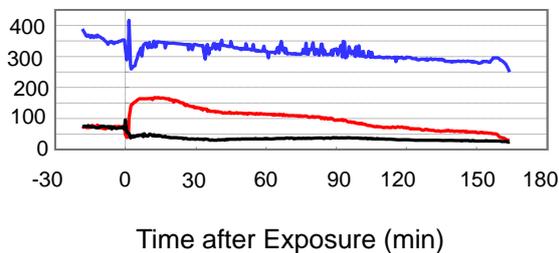


Fig.4 Response after Hypoxia CO<sub>2</sub>

### (3) RT/PCR 法による mRNA

1 時間後の脳および心筋での VEGF, NOS,

TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , B02, B04 はいずれの群間にも著明な差は認められなかった。なお、心筋の B02, B04 の検査は行わなかった。

### (4) 血清成分

曝露開始 1 時間後および 3 時間後のクレアチニン, LDH-3, CPK-MB および電解質を測定したところ、いずれも CO<sub>2</sub> 群では対照群よりも有意に高値であった。Hypoxia 群および HypoxiaCO<sub>2</sub> 群も同様であった。また CO<sub>2</sub> 群および HypoxiaCO<sub>2</sub> 群で血清 K と Mg は増加した。

### (5) 病理組織

3 時間後の CO<sub>2</sub> 群と HypoxiaCO<sub>2</sub> 群の海馬と大脳辺縁系の CA1 錐体細胞に核の濃縮、細胞質の減少等の凝固壊死が観察された。他の 2 群の脳および全 4 群の心臓、肺、肝臓、腎臓には著変は認められなかった。免疫組織学的に心筋の Caspase-3 を染色しアポトーシスの発現を検討したが、各群に差は認められなかった。

### B. 各種阻害剤の作用についての検討

次に、二酸化炭素中毒の病態に影響すると考えられる各種阻害剤の作用を検討した。その際に CO<sub>2</sub> 濃度を 40% とすると 3 時間までの死亡例が頻発するので、CO<sub>2</sub> 濃度を 30% とした。生理食塩水を前投与した Saline 群および各種阻害剤を前投与した群 (後述) に二酸化炭素を曝露し (O<sub>2</sub> 21% / CO<sub>2</sub> 30%), 3 時間までの循環動態および血清成分の変動を検討した。Saline 群を対象として、阻害剤投与群で異なる反応が得られるかどうかを調べた。

Saline 群では、呼吸数は CO<sub>2</sub> 曝露開始直後に一過性に増加したのち直ちに抑制され、血

圧は増加した。酸素飽和曲線は右方シフトし、血清KとMgは増加した。

#### (1) アセタゾラミド

アセタゾラミドは炭酸脱水素酵素阻害剤であり、おもに近位尿細管でナトリウムイオンの再吸収を抑制しアシドーシスをもたらす。アセタゾラミドを前投与したところ、CO<sub>2</sub>吸入後の血液pHはSaline群に比べてさらに低下したが、肺の逸脱酵素で肺機能低下の指標となるLDH-3の上昇は有意に改善された。他の指標の有意な変化は認められなかった。

#### (2) p38-MAPK 阻害剤

p38-MAPK は虚血や細菌毒素 (LPS) などによりリン酸化され、サイトカイン類の産生とそれに続くショック症状を引き起こすことが知られている。この p38-MAPK リン酸化の阻害剤である FR167653 を前投与したが、Saline 群で見られる諸指標の変動と比べて有意な差は得られなかった。

#### (3) s-メチルチオアセチル尿素

内因性一酸化窒素合成酵素(iNOS)の選択的阻害剤であるs-メチルチオアセチル尿素を前投与したところ、Saline 群で見られた呼吸数の抑制は改善され、LDH-3の上昇は抑制された。

以上より、二酸化炭素そのものによる中毒症状の病態が生理学的、生化学的に明らかとなった。二酸化炭素に低酸素が加わると循環不全はより進展した。さらに炭酸脱水素酵素および内因性一酸化窒素合成酵素が二酸化炭素の病態に関与する可能性が示唆された。

### 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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

- ① 田中 敏子, 笠井 謙多郎, 佐藤 寛晃, 北 敏郎, 田中 宣幸, 二酸化炭素中毒での循環不全に関する基礎的研究, 第 58 回日本法医学会九州地方会, 平成 20 年 10 月 23 日, 大分

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

田中 敏子 (TANAKA TOSHIKO)  
産業医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 80141745

#### (2) 研究分担者

北 敏郎 (KITA TOSHIRO)  
産業医科大学・医学部・准教授  
研究者番号: 00131912

#### (3) 連携研究者

なし