

平成 21 年 4 月 14 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19592099

研究課題名（和文） 微小循環管理を標的とするショック治療の基礎的研究

研究課題名（英文） Fundamental study on treatment of shock that makes microcirculation management target

研究代表者

高田 勝美 (TAKADA KATSUMI)

東京女子医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20075609

研究成果の概要：各種ショック時の末梢循環を兎耳窓法を用いて観察した。補助薬としてウリナスタチン（UTI）を使用し比較した。アナフィラキシー、敗血症性ショック時に細動脈径、血流速度、血流量は低下したが、UTIの投与で微小循環は保たれた。出血性ショックにおいて輸液蘇生を膠質液と晶質液で比較したところ、膠質液では微小循環が良好に保たれた。微小循環の観点から、アナフィラキシーおよび敗血症時の末梢循環不良の改善にUTIが有利であること、急性出血時に膠質液輸液が有効であることがわかった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：ショック、微小循環、rabbit ear chamber、ウリナスタチン、輸液

## 1. 研究開始当初の背景

最近、ショックなどの生体侵襲時には、細胞内で核内転写因子である NF- $\kappa$ B が活性化され、細胞核内に移行し種々のサイトカイン遺伝子の転写活性を高め、白血球よりサイトカインが産生され、血管内皮細胞による接着因子の発現が誘導されやすい状況にあることがわかった。ショック反応の開始点として微小循環系があげられる。ショック時には末梢循環は不良となり、血流速度が低下し、微小循環障害が起こる。微小循環とは細動脈、毛細血管、細静脈を含めた血管床であり、血管系の90%以上を占め、体内の物質交換と体液循環の調節を行う重要な場である。微小循環

障害が起こると、組織への栄養障害、酸素供給が絶たれ、臓器障害が起こる。微小循環を維持することで臓器障害の進展を阻止することができる。微小循環障害には血管径と血流速度の変化、白血球と血管内皮の接着、血小板と血管内皮の接着、血管透過性の変化、生理活性物質による血管への作用など一連の複雑な変化がある。ショックによる多臓器不全を防止するには微小循環を維持することが重要である。侵襲が惹起する白血球依存性の微小循環障害では NF- $\kappa$ B および接着分子の関与を無視できないことが判明した。ショック研究には長い歴史があるが、研究されるにつれ、原因によって異なる病態の複雑さ

が判明し、未解決な問題も多い。なかでも敗血症性ショックは高齢化人口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。これらのショックは単に循環系の異常にとどまらず組織の微小循環障害を前景とした各種代謝異常を伴う複雑な全身反応であり、確立した治療がないのが現状である。我々は、各種ショックモデルにて微小循環を観察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、治療方法を新しい方向に向かわせることができると考える。

## 2. 研究の目的

エンドトキシン (LPS) 刺激によりサイトカインおよび接着因子などのメディエータが遊離され、微小循環障害を引き起こし、ショック症状を惹起することは知られている。本研究の目的は微小循環障害が増強されるメカニズムを解明することにある。サイトカインや接着因子の発現には核内転写因子である NF- $\kappa$ B の関与が知られており、本研究ではショック時の微小循環現象を直視下に経時的に観察し、同時に血液中の細胞や内皮細胞相互間の補体反応、サイトカインの放出や ICAM などの接着分子の関与等を評価し、また治療により緩解する過程を観察することによりその機序を解明し新しい治療法の開発へと結びつけることである。微小循環障害の治療経過を調べるために、急性循環不全治療薬、Protease inhibitor、ステロイド等を用いてその効果を評価する。さらに近年開発された抗サイトカイン薬と抗接着分子抗体、デコイ型核酸医薬 (NF- $\kappa$ B の機能を特異的に阻害) などによる新しい治療への応用と発展させる。

## 3. 研究の方法

(1) 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。

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。

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。

出血性ショックモデル：15-20ml の脱血を 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。

(2) および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、血流量を測定する。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。

(3) の敗血症性ショックにおける血管内皮と顆粒球の膠着の評価：耳介に REC を装着した 2 週間後、血管再生中に血管径 20  $\mu$ m 以内の細動静脈を選び 1/10000 秒のシャッター速度をもつ顕微鏡用ビデオカメラ 500 倍で記録、観察。顆粒球の細静脈内皮への膠着数を測定する。

(4) 出血性ショックモデルでの輸液蘇生の評価：ショック状態前後で膠質液、晶質液による輸液を行い、微小循環について比較検討する。

(5) 抗ショック薬の治療効果の評価：(1) のショックモデルにそれぞれウリナスタチン 50000 単位/kg の敗血症性ショックにエダラボン 30mg を投与し、抗ショック薬を投与しないコントロール群と微小循環改善の程度を各々比較検討する。

## 4. 研究成果

(1) 全身型凝集性アナフィラキシーショック時の微小循環：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)。ショック回復後も微小循環はあまり良好ではなかった。平均動脈圧はショック惹起前を 100% とすると、ショック惹起 4 分後には 40% となり ( $p < 0.05$  vs. 惹起前)、ショックからの回復期 (惹起 45 分後) は 82% になった。中心静脈圧はショック惹起前を 100% とすると、ショック惹起 4 分後には 170% となり ( $p < 0.05$

vs. 惹起前)、ショックからの回復期(惹起 45 分後)は 120%になった。心拍数は有意な変化はみられなかった。換気モニターとして用いた気道内圧はショック惹起前を 100%とすると、ショック惹起 4 分後には 139%と上昇し( $p < 0.05$  vs. 惹起前)、気管支攣縮が生じていた。気道内圧はショックからの回復期(惹起 45 分後)は 122%であった。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り皮膚の血流が増加するのはみられなかった。観察した血管径のサイズは 20~50  $\mu\text{m}$  であり、この血管より中枢側で拡張が起こったためか、あるいは惹起後きわめて早い時期には血管拡張、その後すぐに急激な血圧低下、全末梢血管抵抗のために末梢血管が収縮したものか本実験では明らかではなかった。ショックから回復し血圧が戻ってからも末梢循環は不良であった。血圧の著しい低下に伴い中心静脈圧が上昇したのは、肺血管抵抗が上昇し右心不全をきたしたものと考えられた。

各種ショック時にはライソゾーム膜が破壊され、種々の蛋白分解酵素が血中に放出され、循環系の異常だけでなく、組織の微小循環障害ならびに各種代謝異常を伴う全身反応が起こるので、ショック治療に蛋白分解酵素阻害薬が有効とされている。また蛋白分解酵素阻害薬である Urinary trypsin inhibitor (UTI) はヒスタミンの抑制や気道炎症の指標である血中の顆粒球エラストラーゼおよび気道収縮の化学伝達物質の指標であるトロンボキサン  $B_2$  の減少作用があり、気管支喘息の改善作用があるといわれている。また、ショック時に微小循環障害が生ずる原因として、サイトカインの放出もあげられる。UTI は侵襲時に生体から放出されるサイトカインの放出を抑制する効果もある。そこで本実験では UTI (15 万単位/kg) を投与し、循環抑制、気管支攣縮および微小循環を観察し、薬剤を投与しないコントロール群と比較し、その有効性を検討した。その結果、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 50%、30%、22%となり、コントロールに比し減少の低下は少なかった( $p < 0.05$  vs. 惹起前、 $p < 0.05$  vs. コントロール群)。ショックからの回復期(惹起 45 分後)はそれぞれ平均 91%、70%、62%となりコントロール群に比し有意に増加していた( $p < 0.05$ )。コントロールと比べると、ショック惹起後の細動脈、細静脈、毛細血管の収縮の程度は小さかった。平均動脈圧はショック惹起前を 100%

とすると、ショック惹起 4 分後には 44% ( $p < 0.05$  vs. 惹起前)となり、ショックからの回復期(惹起 45 分後)は 84%であった。中心静脈圧はショック惹起前を 100%とすると、ショック惹起 4 分後には 160% ( $p < 0.05$  vs. 惹起前)となり、ショックからの回復期(惹起 45 分後)は 120%になった。平均動脈圧と中心静脈圧は、惹起前とショック惹起 4 分後には有意差を認めた( $p < 0.05$ )が、コントロール群とは有意差はなかった。心拍数は有意な変化はみられなかった。気道内圧はショック惹起前を 100%とすると、ショック惹起 4 分後には 118% ( $p < 0.05$  vs. コントロール群)となり、ショックからの回復期(惹起 45 分後)は 102% ( $p < 0.05$  vs. コントロール群)であった。尿量は 4.4 ml/kg/hr であり、有意にコントロール群に比べて尿量は増加しており、生存率は 76%であった。UTI はアナフィラキシーショック時に平均動脈圧や中心静脈圧に影響を与えずに、皮膚や腎などの微小循環を維持することができた。

アナフィラキシーショックの治療は、血圧の上昇、気管収縮の改善、化学伝達物質の抑制、心筋収縮力の増強のためにエピネフリンが第一選択薬である。UTI はアナフィラキシーショック時の微小循環障害および気管支攣縮の改善作用があり、このショックの病態を改善させる可能性があると考えられる。

(2) 敗血症性ショック時の微小循環  
敗血症性ショックにおいて炎症性サイトカイン発現の鍵となる転写因子 NF- $\kappa$ B は SIRS の中心的な役割を果たしている。NF- $\kappa$ B を阻害する Urinary Trypsin Inhibitor (UTI) を投与し、その有効性を検討したところ、微小循環は良好に保たれ、生存率も上昇した。細動脈径は C 群では変化しなかったが、L 群では LPS 投与前を 100%とすると、血管径は 6 時間後に平均 55.9%と有意に減少、LU 群では平均 84.7%と UTI 投与で改善した。血流速度、血流量も同様の傾向がみられた。白血球膠着現象は C 群ではみられなかったが、L 群では多く観察され、LU 群では膠着現象は抑制された。

さらに NF- $\kappa$ B の機能を特異的に阻害できるデコイ型核酸医薬およびフリーラジカルスカベンジャーであるエダラポンを併用して、敗血症の微小循環障害に有効であるか検討した。細動脈の血管径は LPS 投与前を 100%とすると、6 時間後に治療群では平均 86.5%となった。細動脈の血流速度、血流量も同様の傾向がみられた。さらに生存率は、治療群で上昇した。UTI とエダラポンは敗血症時の微小循環の維持に有用であり、生存率も改善

した。

(3) 急性大量出血での輸液蘇生の評価  
細動脈の血管径は脱血操作終了後、膠質液 (HES)、晶質液 (LR) の両群ともに減少し、HES 群では脱血前の  $40.5 \pm 14.8\%$ 、LR 群では  $43.3 \pm 13.1\%$  となり有意差はなかったが、輸液終了後、LR 群の血管径は  $62.6 \pm 10.7\%$  の回復に対し、HES 群は  $90.8 \pm 10.2\%$  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に脱血操作終了後、両群ともに減少し、輸液終了後に有意差がみられた。心拍数は両群間で有意差はなかった。平均血圧は脱血操作終了後、HES 群では脱血前の  $21.4 \pm 5.6\%$ 、LR 群では  $22.0 \pm 7.0\%$  となり有意差はなかったが、輸液終了後、LR 群では  $71.0 \pm 12.6\%$ 、HES 群では  $97.0 \pm 7.3\%$  の回復を認め、HES 群で有意に上昇した ( $p < 0.005$ )。中心静脈圧でも同様の有意差がみられた ( $p < 0.001$ )。血漿膠質浸透圧は脱血操作終了後、両群ともに同様に低下し、有意差はなかったが、輸液終了後、LR 群ではさらに  $7.92 \pm 1.96 \text{ mmHg}$  に低下し、HES 群で  $19.9 \pm 2.38 \text{ mmHg}$  はに上昇し、HES 群で有意に上昇がみられた ( $p < 0.001$ )。Base excess (BE) は脱血操作終了後、両群ともに同様に低下し、有意差はなかったが、輸液終了後、LR 群ではさらに  $-0.59 \pm 1.88 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  に低下し、HES 群で  $1.8 \pm 0.99 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  と上昇がみられ、HES 群で有意に上昇した ( $p < 0.05$ )。ヘマトクリット値 (Hct) は脱血操作終了後、両群ともに同様に低下し、輸液終了後は、HES 群で LR 群より低下傾向がみられたが、両群間で有意差は認められなかった。尿量は輸液終了後、LR 群では  $3.1 \pm 2.9 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 、HES 群では  $6.4 \pm 2.3 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  で、HES 群で有意に多かった ( $p < 0.01$ )。

以上より、急性大量出血時の輸液蘇生において、膠質液は晶質液に比し、微小循環および血行動態において、有利であることがわかった。

今後も各種ショックモデルにおいて、微小循環を標的として、抗ショック薬や輸液製剤について各種メディーエータ、白血球動態など抗炎症性作用の観点から検討を加えたい。

## 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 13 件)

1. Hirai E, Komori M, Nishiyama K (他 3 名, 2 番目): Spinal anesthetic management for hydrodistension of the bladder in patients with interstitial cystitis. J

Tokyo Wom Med Univ, 79: 37-40, 2009, 査読有

2. Nishiyama K, Komori M, Sato T (他 5 名, 2 番目): An infant with severe respiratory failure who responded to biphasic cuirass ventilation. J Anesth, 23: 166-167, 2009, 査読有

3. Komori M, Takada K, Tomizawa Y, (他 4 名, 1-3 番目): Microcirculatory responses to acupuncture stimulation and phototherapy. Anesth Analg, 108: 635-640, 2009, 査読有

4. 小森万希子: ペインクリニック領域の治療が微小循環に与える影響. 慢性疼痛, 27:23-27, 2008, 査読有

5. 小森万希子: 低出力レーザーおよび直線偏光近赤外線直接照射の皮膚微小循環に対する効果. 日レ歯誌, 19:26-29, 2008, 査読有

6. 井出早苗, 小森万希子, 西山圭子(他 5 名, 2 番目): 心移植後の子宮体癌手術に対する麻酔経験. 東女医大誌, 78: 316-318, 2008, 査読有

7. Komori M, Nishiyama K, Kondo I (他 5 名, 1 番目): Effects of treatment with oral prostaglandin E<sub>1</sub> on lumbar spinal canal stenosis. Pain Clinic 19: 37-39, 2007, 査読有

8. Nishiyama K, Komori M, Narushima M (他 3 名, 2 番目): A woman who required long-term mechanical ventilation to treat limbic encephalitis during pregnancy. Acta Anaesthesiol Scand 51: 252-254, 2007, 査読有

9. 佐藤章, 富澤康子, 小森万希子, 高田勝美: 軽量で開閉可能な家兎耳介観察窓の開発. 呼と循 2007; 55: 359-362, 査読有

10. Komori M, Takada K, Tomizawa Y (他 3 名, 1-3 番目): Permissive range of hypercapnia for improved peripheral microcirculation and cardiac output in rabbits. Crit Care Med. 35: 2171-5, 2007, 査読有

11. Hashida F, Komori M, Nishiyama K (他 4 名, 2 番目): Bronchoscopic removal of mucus casts in a boy with plastic bronchitis. Acta Anaesthesiol Scand. 51:1283-4, 2007, 査読有

12. Kusabiraki T, Komori M, Nishiyama K (他 3 名, 2 番目): Cases of pneumothorax and severe subcutaneous emphysema during laparoscopic surgery. J Tokyo Wom Med Univ, 77: 59-63, 2007, 査読有

13. 土屋由里、西山圭子、小森万希子(他2名, 3番目):、谷口由枝、尾崎眞: 上顎歯肉・頬粘膜癌術後に長期呼吸管理を要した1例, 日歯麻誌. 35, 224-228, 2007, 査読有

〔学会発表〕(計11件)

1. 井上寛、岡田翼、小森万希子ほか: 全身麻酔中に循環不全を呈した冠攣縮性狭心症例. 東京女子医科大学学会第339回例会(2009年2月28日、東京)
2. 小森万希子: ショック時の微小循環. 第36回日本救急医学会総会・学術集会.(2008年10月14日、札幌)
3. 小森万希子、高田勝美、西山圭子ほか: ウリナスタチン・エダラボンの併用療法が敗血症時の微小循環に与える影響. 日本麻酔科学会第55回学術集会(2008年6月13日、横浜)
4. 小森万希子: ペインクリニック領域の治療が微小循環に与える影響【教育講演】. 第37回日本慢性疼痛学会(2008年2月23日、宇都宮)
5. 小高桂子、小森万希子: 当院でのCRPSに対する硬膜外刺激電極留置の施行経験. 第37回日本慢性疼痛学会(2008年2月23日、宇都宮)
6. 井出早苗、小森万希子、西山圭子ほか: 心移植後の子宮体癌手術に対する麻酔経験. 東京女子医科大学学会第337回例会(2008年2月23日、東京)
7. 小森万希子: シンポジウム 疼痛緩和とレーザー治療 臨床編「レーザーを用いたペインクリニック」. 第19回日本レーザー歯学会総会・学術大会(2007年11月23日、鶴見)
8. 小森万希子: ショック時の微小循環: 輸液の影響. 日本臨床麻酔学会第27回大会(2007年10月26日、東京) 日本臨床麻酔学会誌 2007; 27(6):S172
9. Komori M, Takada K, Tomizawa Y, et al.: Microcirculatory Responses to Acupuncture Stimulation and Phototherapy. Annual Meeting American Society of Anesthesiologists (San Francisco, CA, October 15, 2007)
10. Komori M, Sone Y, Tomizawa Y, et al.: Oral Treatment with Prostaglandin E1 Improves Symptoms of Lumbar Spinal Canal Stenosis. American Society of Anesthesiologists (San Francisco, CA, October 13, 2007)
11. 小森万希子、高田勝美、福内明子ほか: 鍼、レーザー、および直線偏光近赤外線直接

照射の皮膚微小循環動態に対する効果. 日本麻酔科学会第54回学術集会(2007年5月31日、札幌)

〔図書〕(計1件)

小森万希子: For Professional Anesthesiologists アナフィラキシーショック、臨床編; アナフィラキシー時の末梢循環、血行動態および各種臓器の血流. 克誠堂出版、光畑裕正編集: 98-106, 2008.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高田 勝美 (TAKADA KATSUMI)  
東京女子医科大学・医学部・准教授  
研究者番号: 20075609

### (2) 研究分担者

小森万希子 (KOMORI MAKIKO)  
東京女子医科大学・医学部・准教授  
研究者番号: 60178332

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