

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590865

研究課題名(和文) 出血性ショック時の腎臓障害における出血速度の影響について

研究課題名(英文) Effect of bleeding rate on renal dysfunction following hemorrhagic shock in rat

研究代表者

佐藤 寛晃 (SATO, Hiroaki)

産業医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50441845

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：全血液量の25%を出血させるラット出血性ショックモデルを作製し、非出血群と5分、20分および60分かけて出血させる3群と炎症性サイトカイン阻害剤を投与して60分かけて出血させる群の計5群を用いて、病態変化を観察した。出血速度が遅い群ほど、エピネフリン、ノルエピネフリン、アルドステロンなどの神経性・体液性循環調節機能低下により低血圧状態が持続し、腎臓実質中にTNF- α やIL-1 β などの炎症性サイトカインの発現が増強され、血清学的・組織学的に腎臓障害が確認された。出血速度が遅いほど、低血圧の持続や炎症性サイトカインの発現により腎臓障害が進行することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The effect of bleeding speed on renal dysfunction was studied using non-hemorrhaging group, three groups of rats who were bled up to 25% of total body blood volume for 5, 20 and 60 minutes, and the other one was bled for 60 minutes treated with cytokine inhibitors. The recovery of MBP; secretion of plasma norepinephrine, epinephrine, and aldosterone; the expression of proinflammatory cytokines, such as TNF- α and IL-1 β , deteriorated as the bleeding rate increased due to a blunting autoregulatory hemodynamic responses to hemorrhagic shock. The severity of renal dysfunction, manifested by blood urea nitrogen, serum creatinine concentration, arterial blood gas analysis and histological damage in the kidney, were well correlated with the degree of decrease in bleeding rate. The bleeding rate was one of the key factors on hemorrhagic renal dysfunction through the suppression of hemodynamic autoregulatory responses and the expression of proinflammatory cytokines.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：出血速度 出血性ショック

1. 研究開始当初の背景

法医解剖においては、出血性ショックにより死亡する事例をしばしば経験する。文献によると、循環血液量の40%以上の血液が喪失した場合が重篤かつ致死的であると報告されている。しかし、実際の法医解剖事例においては推定出血量が40%に満たないにも拘らず死亡したり、出血量が40%を超えるにも拘らず出血から死亡までの時間が長いなど、出血量のみでは重傷度や死亡との因果関係を説明し難い場合に遭遇する。出血性ショックの事例においては、破綻した血管の大きさによって出血速度は異なる。一般的に出血速度が速い場合は、生体の出血に対する反応・適応に時間的余裕がなく、少ない出血量で死に至り、出血速度が遅い場合には出血量が多いと言われており、出血速度も出血性ショック後の臓器障害に重要な役割を果たしていると考えられる。そこで、出血性ショック後の腎臓障害における出血速度の役割とそれに基づく組織学的変化について検討を行うことは、出血性ショックの法医診断を行う上で重要であると考え本研究を計画した。

2. 研究の目的

これまで、全身血液量の25%を20分間で脱血するラット出血性ショックモデルを作製しショックの際に障害が生じやすい臓器である腎臓を対象として、ショック発現から臓器障害が引き起こされるまでの病態変化を観察し、そのメカニズムの解明と法医診断への応用を試みてきた。その結果、出血によりショックが発現してから数時間以内にTNF- α やIL-1などの炎症性サイトカインの発現が観察され、それに引き続き経時的に血中尿素窒素(BUN)や血清クレアチニン値の上昇などの機能的障害が確認された。また、血管腔や間質内に好中球を主体とした炎症性細胞浸潤が認められ、腎臓中に出現した好

中球が出血性ショックの組織学的診断および重傷度の推定に応用できる可能性を明らかにしてきた。

これらの結果を踏まえ、出血速度の異なるラットの出血性ショックモデルを用いて、出血後の病態変化、組織学的変化および炎症性サイトカインの役割について、同ショックにより致死的な障害を発生しやすい腎臓において検討し、出血速度と機能的障害・器質的变化との関係について明確にし、「出血性ショック」の法医学的診断へ応用することを目的とした。

3. 研究の方法

ウレタン・クロラロス腹腔内投与による全身麻酔下のWistarラットの左大腿動脈にカテーテルを挿入し、左側腹部を切開して左腎臓にレーザー血流計を装着し、経時的に動脈圧と腎血流量を測定しつつ実験を行った。実験群は出血させない(Sham)群と全血液量の25%を5分、20分、60分で出血させる(それぞれH5、H20、H60)群、および炎症性サイトカイン阻害剤(FR167653)を投与して60分で出血させる(FR+H60)群の計5群の出血性ショックモデルを作製し、下記の項目について測定した。

(1)平均動脈圧

左大腿動脈に挿入したカテーテルからポリグラフ装置を用いて、出血5時間後まで持続的に動脈圧を測定した。

(2)腎血流量

左側腹部を切開して左腎臓表面にレーザー血流計を装着し、出血5時間後まで持続的に腎血流量を測定した。

(3)神経性・体液性循環調節因子

出血直前、直後、30分後および5時間後に左大腿動脈に挿入したカテーテルから血液を採取して、エピネフリン、ノルエピネフリン、アルドステロンを測定し、出血後の循環動態の変化に対する病態生理学的反応を測

定した。

(4)炎症性サイトカイン

出血 1 時間後, 3 時間後および 5 時間後に腎静脈血を採取して, TNF- と IL-1 の濃度を ELISA 法を用いて測定した。

(5)腎機能障害

出血 5 時間後に大腿動脈血を採取して BUN, クレアチニンおよび動脈血中 pH を測定した。

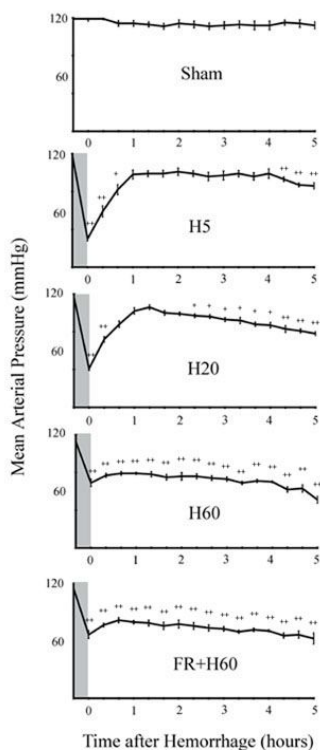
(6)腎臓組織学的傷害

出血 5 時間後に腎臓を摘出して, ヘマトキシリン・エオジン染色を施した後に, 病理組織学的変化を観察した。

4. 研究成果

(1)平均動脈圧

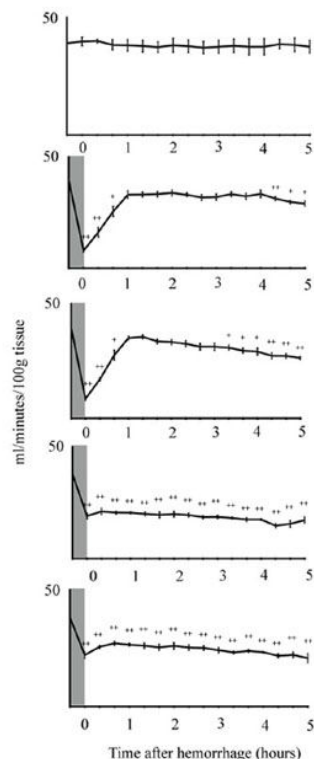
Sham 群には動脈圧の変化を認めなかった。出血させた 4 群は, いずれも出血により動脈圧は低下し, 一旦上昇した後, 再び徐々に低下した。そして, 出血速度が遅い群ほど出血後の動脈圧の回復は鈍く, 出血後の動脈圧が持続した。H60 群と FR + H60 群との間に動脈圧の差は認められなかった。



Mean ± SE, n=5, +: p<0.01, ++: p<0.001

(2)腎血流量

腎組織血流量も平均動脈圧とほぼ同様の变化を示し, 出血速度が遅い群ほど出血後の腎組織血流量の減少が持続していた。動脈圧と同様に H60 群と FR + H60 群との間に差は認められなかった。



(3)神経性・体液性循環調節因子

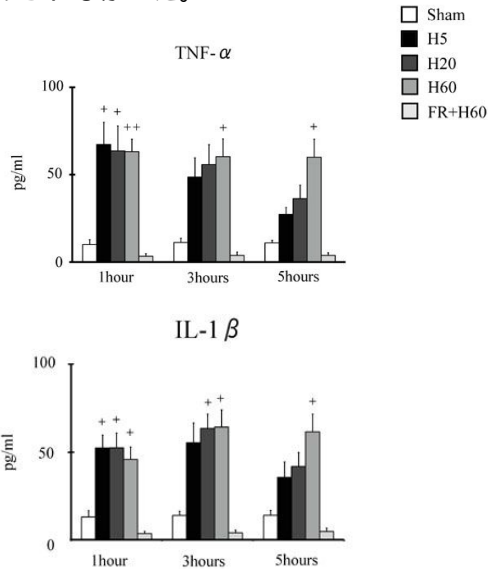
エピネフリン, ノルエピネフリン, アルドステロンは出血速度が速い群では有意に上昇し, 出血速度が遅い群の上昇は軽度であった。

(4)炎症性サイトカイン

腎静脈血の TNF- は, Sham 群は実験を通じてほとんど変化を認めなかった。出血群では出血 1 時間後に一旦上昇したが, その後徐々に低下した。そして出血速度が遅い群ほど, TNF- は高い値を持続し続けた。炎症性サイトカインの発現を抑えたところ, 出血速度が遅いにも拘わらず出血後も TNF- の上昇は認められなかった。

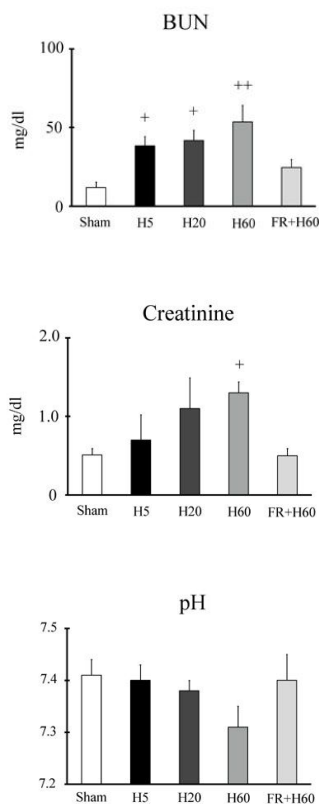
同様に腎静脈血の IL-1 も, 出血群では出血 1 から 3 時間後に一旦上昇したが, 5 時間

後には低下してきた。そして出血速度が遅い群ほど、IL-1 は高い値を持続し続けた。TNF- 同様に炎症性サイトカインの発現を抑えたところ、実験を通じて IL-1 の上昇は認められなかった。



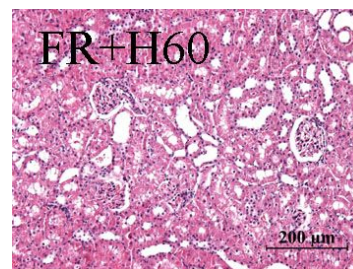
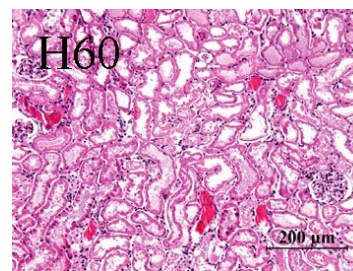
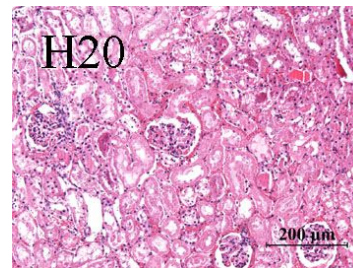
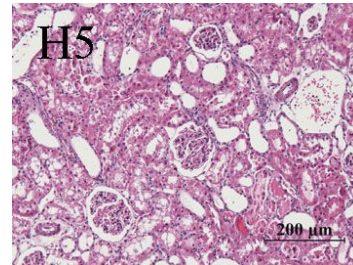
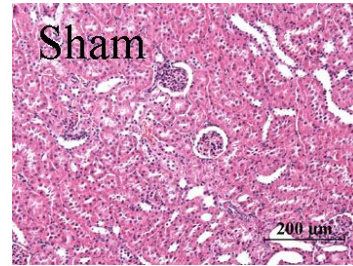
(5)腎機能障害

出血速度が遅い群ほど BUN・クレアチニンの有意な上昇を認め、アシドーシスが進行する傾向が認められた。しかし炎症性サイトカインの発現を抑えたところ、出血速度が遅いにも拘わらず、これらの障害は改善した。



(6)腎臓組織学的傷害

Sham 群と比較して、出血群では尿細管上皮の壊死、尿細管腔の拡張や尿円柱の形成、間質の浮腫などの所見が認められ、出血速度が遅いほどこれらの組織学的変化が強く認められる傾向を示した。さらに炎症性サイトカインの発現を抑えたところ、出血速度が遅いにも拘わらず、これらの組織学的変化は改善した。



まとめ

出血速度が遅いほど、血清学的・組織学的な腎臓障害が進行し、その原因の一つとして、腎臓の組織血流量の減少による腎臓虚血と炎症性サイトカインの発現による炎症性腎臓傷害の増強が関与している可能性が考えられた。

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 0件)

[学会発表](計 2件)

佐藤 寛晃, 出血性ショックにおける多臓器不全の発生メカニズム(第九報) - 出血速度が腎障害に与える影響について - , 第97次日本法医学会学術全国集会, 2013年6月26日~28日, 札幌(ロイトン札幌),

佐藤 寛晃, 出血性ショックにおける多臓器不全の発生メカニズム(第八報) - 出血速度の影響について - , 第95次日本法医学会学術全国集会, 2011年6月15日~17日, 福島(コラッセふくしま)

[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:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

佐藤 寛晃 (SATO, Hiroaki)

産業医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 50441845

(2)研究分担者

田中 敏子 (TANAKA, Toshiko)

産業医科大学・医学部・講師

研究者番号: 80141745

笠井 謙多郎 (KASAI, Kentaro)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号: 40169397

(3)連携研究者

()

研究者番号: