

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：13201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2014

課題番号：23659737

研究課題名(和文) 遠隔虚血プレコンディショニングによる深部静脈血栓症に対する戦略的予防法の確立

研究課題名(英文) A single blind randomized trial about efficacy of the remote ischemic preconditioning for the development of deep vein thrombosis during total knee arthroplasty using the tourniquet.

研究代表者

积永 清志 (SHAKUNAGA, Kiyoshi)

富山大学・大学病院・准教授

研究者番号：40187498

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：駆血帯を使用する全人工膝関節置換術(TKA)において、上肢による遠隔虚血プレコンディショニング(remote ischemic preconditioning: RIPC)の凝固活性動態および炎症反応動態について前向きに評価検討した。

RIPCは駆血帯開放20分後に可溶性フィブリンモノマー複合体を有意に低下させ、少なくとも短期的には術直後の血栓形成に対して抑制的効果を持つことが示唆された。また、RIPCはNF- $\kappa$ B活性の有意な抑制とIL-6の有意な産生低下、炎症性サイトカインIL-10の有意な産生増加をきたし、炎症反応を抑制する方向に調節することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We have studied effects of remote ischemic preconditioning (RIPC) on the development of deep vein thrombosis and inflammatory reaction during total knee arthroplasty using the tourniquet prospectively.

RIPC (four five-minute cycles of occlusion and reperfusion in the upper limb) resulted in significantly decreased the soluble fibrin monomer complex levels after 20 minutes following tourniquet deflation. Our findings suggest that RIPC have an inhibitory effect for thrombus formation immediately after surgery at least in the short term. Moreover, we observed that the reduction of NF- $\kappa$ B activity and IL-6 production and that increased production of anti-inflammatory cytokine IL-10 in the RIPC group. Our data suggest that RIPC attenuate activation of NF- $\kappa$ B and then modulate the inflammatory response.

研究分野：医歯薬学 外科系臨床医学 麻酔科学 周術期管理学

 キーワード：遠隔虚血プレコンディショニング 可溶性フィブリンモノマー複合体 NF- $\kappa$ B IL-6 IL-10 虚血再灌流障害 全人工膝関節形成術

### 1. 研究開始当初の背景

プレコンディショニングは 1986 年に Murry らにより提唱された概念（先行虚血による心筋の虚血耐性獲得現象）であるが、心筋保護における意義は大きく、様々な臨床応用が試みられている。一方、2002 年に Kharband らは軽い下肢の先行虚血によっても心筋の虚血耐性獲得現象があることを報告し、遠隔虚血プレコンディショニング (remote ischemic preconditioning; RIPIC) として知られるようになった。2006 年には Cheung MM らにより小児の人工心肺使用開心術で初めて臨床的に RIPIC の効果が確認された。RIPIC のメカニズムについては体液性、神経性、あるいは両者の因子が想定され、アデノシン、オピオイド、ブラディキニン、PKC、K-ATP チャンネルの関与が予想されるが、正確なエンド・エフェクターはやはり不明のままである。一方、近年周術期の肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症が問題になっており、特に人工膝関節全置換術で術後深部静脈血栓症の発生頻度は約 50%との報告もある。駆血帯を使用する手術では、虚血再灌流による活性酸素や過酸化脂質の大量産生、血管内皮細胞の障害等が関与していると考えられる。しかし、これらの病態を実際の臨床で RIPIC や麻酔薬自体がどの程度修飾しているのか不明のままである。このような背景をふまえ、虚血再灌流障害を伴う典型的な手術モデルとして駆血帯使用人工膝関節置換術を選定し、これに RIPIC を臨床応用することで、その保護効果を前向きに評価検討することを着想した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、遠隔虚血プレコンディショニング(RIPIC)を実際に臨床応用し、その凝固活性動態に対する影響、及び抗炎症性効果を種々の生化学的マーカーや臨床的指標から評価し、その有効性の有無を明らかにすることである。また、麻酔薬の RIPIC に対する修飾効果についても検討した上で、より安全な麻酔管理法もしくは周術期の肺血栓塞栓症に対する新たな予防法の確立を目指すことである。

### 3. 研究の方法

対象は同意の得られた駆血帯を使用する片側の人工膝関節置換術症例（予定手術）とする。無作為に RIPIC (R)群とコントロール(C)群に分け、R 群では観血的動脈圧ライン挿入側と反対側の上肢で、先行虚血再灌流（マンシットによる 5 分間虚血 5 分間再灌流を 4 サイクル）を麻酔導入後執刀前に施行する (Fig. 1)。

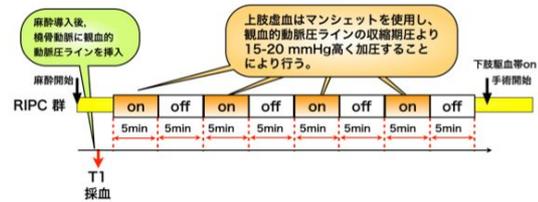


Fig. 1 RIPIC の方法

採血ポイントは、T1: 麻酔導入直後、T2: 下肢の駆血帯解放直前、T3: 同解放 20 分後、T4: 術後第 1 病日とした (Fig. 2)。

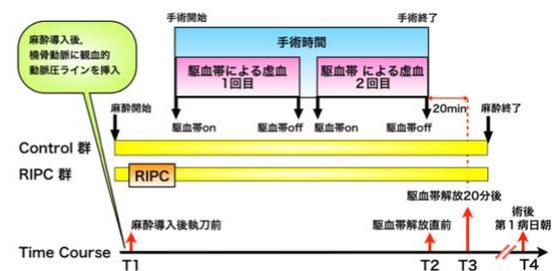


Fig. 2 採血ポイント

複数の生化学的マーカーを経時的に測定することにより、RIPIC の凝固活性動態および抗炎症性効果について前向きに比較解析した。

測定項目は、凝固活性動態のマーカーとして可溶性フィブリンモノマー複合体 (SFMC)、D-Dimer、FDP、PLG 活性とした。また炎症反応のマーカーとして NF- $\kappa$ B 活性 (リンパ球より核タンパクを抽出し、DNA-binding ELISA により p50 を測定) とサイトカイン (IL-6、IL-10) とした。

統計学的解析は Two-way repeated measure ANOVA と Holm-Sidak 法 (Prism Version 6) を用い、 $P < 0.05$  を有意差ありと判定した。

#### 4. 研究成果

SFMC 値は両群とも T1 に対して T3 で有意に上昇した。T3 の SFMC 値は R 群が C 群より有意に低値を示した (R 群  $6.8 \pm 0.8 \mu\text{g/mL}$  vs. C 群  $17.5 \pm 3.8 \mu\text{g/mL}$ ,  $p=0.012$ , Fig. 3)。

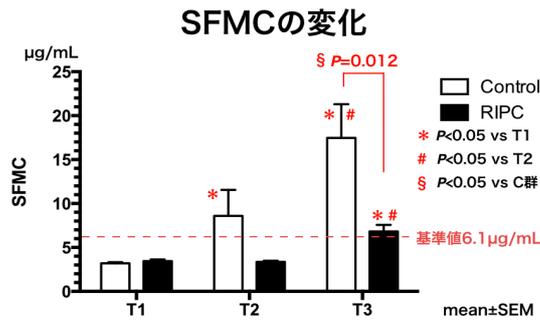


Fig. 3 人工膝関節置換術における血漿 SFMC の変化。

NF- $\kappa$ -B 活性は C 群で駆血帯開放直前に有意に上昇し、R 群で同じタイムポイントで上昇を抑制した。駆血帯開放 20 分後でも NF- $\kappa$ -B 活性は R 群で有意に低値を示した。(T2: C 群  $203 \pm 24 \%$  vs. R 群  $113 \pm 18 \%$ ,  $P<0.01$ , T3: C 群  $175 \pm 27 \%$  vs. R 群  $116 \pm 12 \%$ ,  $P<0.05$ , FIG.4)。

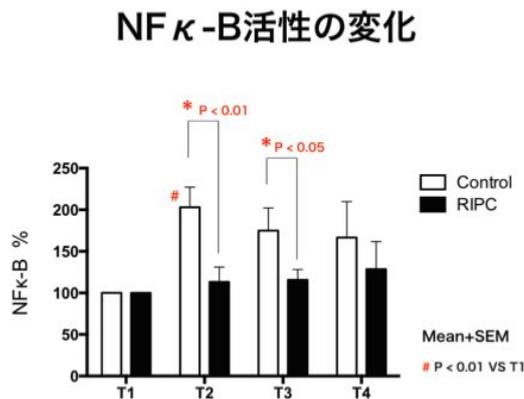


Fig. 4 人工膝関節置換術における NF- $\kappa$ -B 活性の変化。

IL-6 は C 群で術後第 1 病日に有意に上昇し、R 群では同じタイムポイントでその上昇が有意に抑制された (Fig. 5)。

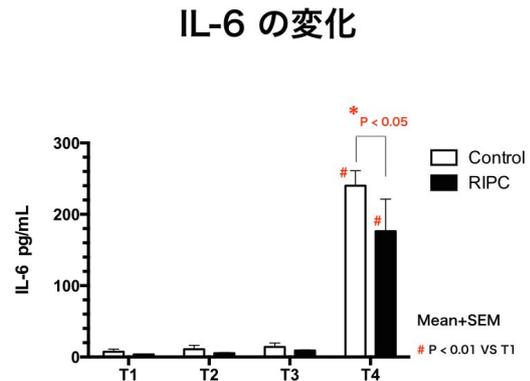


Fig. 5 人工膝関節置換術における血漿 IL-6 の変化

IL-10 は R 群で術後第 1 病日に有意に上昇し、C 群では同じタイムポイントでその上昇が有意に抑制された (Fig. 6)。

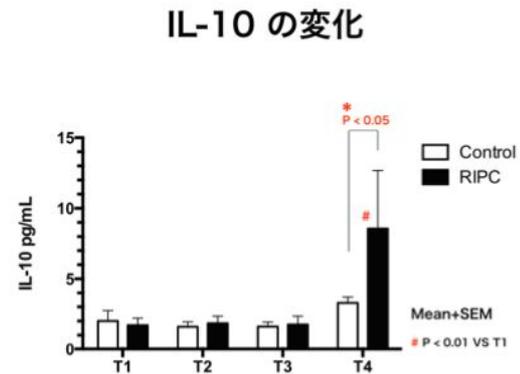


Fig. 6. 人工膝関節置換術における血漿 IL-10 の変化

今回の結果より上肢による遠隔虚血プレコンディショニングは、駆血帯を使用する人工膝関節置換術において、少なくとも短期的には術直後の血栓形成に対しては抑制的効果が示唆された。また、NF- $\kappa$ -B 活性の抑制を介して炎症反応を抑制する方向に (IL-6 の産生低下と抗炎症性サイトカイン IL-10 の産生増加) 調節されることが示唆された。

## 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)

[学会発表](計2件)

积永清志,原田健右,小林 慶,亀山曉代,池田紗季代,山崎光章.: 下肢虚血再灌流後の炎症反応に対する遠隔虚血プレコンディショニングの影響. 日本麻酔科学会第 62 回学術集会.(20150529). 神戸

积永清志,原田健右,服部瑞樹,久保田亮平,北島勲,山崎光章.: 遠隔虚血プレコンディショニングによる血栓症予防効果～駆血帯使用人工膝関節置換術の凝固活性動態の検討～. 日本麻酔科学会第 61 回学術集会.(20140516). 優秀演題. 横浜

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

积永 清志 (SHAKUNAGA, Kiyoshi)

富山大学・大学病院・准教授

研究者番号: 4 0 1 8 7 4 9 8