様　式　C－19、F－19－1、Z－19　(共通)

科研費
KAKENHI

# 科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　２年　５月２８日現在

機関番号：２０１０１
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2016～2019
課題番号：１６Ｋ１１４１３

研究課題名（和文）肝不全を来す蘇生後腸管症候群の病態解明と治療戦略

研究課題名（英文）Analysis of Intestinal disorder and liver damage resulting from cardiac arrest

研究代表者
原田　敬介（Harada, Keisuke）

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：００５６０００４

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,500,000円

研究成果の概要（和文）：ラット蘇生後腸管症候群モデルを確立し、心停止蘇生後に生じる腸管および肝臓の障害に関する解析を行った。膜型人工肺を使用した体外循環蘇生法は、腸管粘膜に対して侵襲的に作用する可能性が示唆されたが、肝組織への明らかな障害は認められなかった。
一定時間の蘇生実施に伴う腸管障害は、心停止に伴う虚血再潅流障害に加えて、逆行性送血などの体内血流動態変化や、脳保護を目的とした血流温度変化が要因となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
院外心停止患者は極めて予後不良であり、また脳・心臓後遺症を併発する心停止後症候群患者の増加は社会問題である。我々はこれまでに、心肺脳蘇生法としての経皮的心肺補助(PCPS)を応用し、良好な治療成績を報告してきたが、蘇生後、下痢など消化器症状や、続発する肝障害を高率に経験した。これらは、心肺停止に伴う腸管虚血再潅流や、PCPS下での腸管血流の変化によって生じたと考えられ、最終的には肝不全から多臓器不全に至る“蘇生後腸管症候群”と定義される。このような病態について、ラット蘇生後腸管症候群モデルを確立し、病態解明を進めるとともに、救命戦略としての治療介入を探索することを目的に研究を行った。

研究成果の概要（英文）：We established a rat model of intestinal ischemic injury with post cardiopulmonary arrest syndrome. We also evaluated the damage of intestine and liver cells after cardiopulomonary resuscitation. The cell damage induced by extracorporeal pulmonary resuscitation, which were found in intestinal mucosa, but were not found in hepatic tissue.
The mechanism of intestinal dysfunction induced by the short term of resuscitation, the change of hemodynamics and brain hypothermia therapy might also correlated with reperfusion injury after the cardiopulmonary arrest.

研究分野：医歯薬学

キーワード：心停止後症候群　経皮的心肺補助装置　肝不全　腸管障害　小型肝細胞

※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。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

院外心停止で心拍再開困難な症例に対して、PCPS を用いた積極的な CPR が行われており、ECPR(Extracorporeal cadriopulmonary resuscitation)と呼ばれている。2010 年に改訂された AHA の心肺蘇生と救急心血管治療のためのガイドラインでは、ECPR は血流停止時間の短い心停止患者で、その原因が治療可能な場合、もしくは心臓移植や冠動脈血行再建術により修復可能な場合に考慮すべきである(Class IIb)と報告され、国際的にも注目されている。本邦でも発症目撃のある心原性心室細動の社会復帰率はこの 10 年間で倍増し、20%を超えているが、院外心停止全例の社会復帰率は 6%と低率である。社会復帰率をさらに増加させるためには、心停止後症候群への包括的な治療戦略が必要である。医師、看護師、臨床工学技師、放射線技師、医療事務員など多種職からなる CPR チームの構築と、循環管理、呼吸管理、緊急冠動脈造影と冠動脈再潅流療法、低体温療法などによる治療介入が行われているが、心停止後の消化管障害と付随する肝不全についての臨床エビデンスはほとんど得られていない。このため、肝不全を来す“蘇生後腸管症候群”の病態解明と治療介入が心停止後症候群(PCAS:Post-cardiac arrest syndrome)に対する新たなアプローチとなることが期待される。

当施設において 1999 年から 10 年間に院外心原性心停止で搬入となった 908 例中、心拍再開困難で ECPR を施行した 105 例の検討では、ECPR に低体温療法、冠動脈再潅流療法を積極的に併用することで、心収縮再開 83%、PCPS 離脱成功 39%、1ヶ月後生存 30%、社会復帰 12%であった(Hase M, Circulation 120: S1477, 2009)。社会復帰例では心停止から PCPS 導入までの時間が短く、ROC 解析では社会復帰を識別する PCPS 装着時間は心停止後 41 分(AUC 0.76, 感度 77%, 特異度 78%)、多変量解析による社会復帰の予測因子は、女性、初期調律 VF、心停止後 41 分以内の PCPS 導入であった。このような良好な転帰に関する予測因子に反して、転帰不良となる予測因子として、心停止後症候群の一病態としての“蘇生後腸管症候群”の関与が疑われる。“蘇生後腸管症候群”は、心停止後の集中治療中にみられる大量の下痢や粘血便として認識されるが、病態が呼吸・循環管理を主としているが故に、機序や詳細な病態把握はなされていない。また、PCAS 患者の肝障害についても、多くはショック肝やうっ血肝として認識されるのみであり、詳細は不明な点が多い。“蘇生後腸管症候群”に伴う腸管粘膜障害や虚血からバクテリアルトランスロケーションが主因となり、易感染性病態から肝不全・多臓器不全へと移行し、救命困難となる症例の経験から、心停止後の消化管障害、肝障害の病態を明らかにする意義は大きいと考えられる。

２．研究の目的

院外心停止患者は極めて予後不良であり、また脳・心臓後遺症を併発する心停止後症候群(PCAS: Post-cardiac arrest syndrome)患者の増加は社会問題である。我々はこれまでに、心肺脳蘇生法としての経皮的心肺補助(PCPS: Percutaneous cardiopulmonary support)を応用し、良好な治療成績を報告してきたが、PCPS 駆動下の集中治療中、下痢を主体とする消化管症状や、続発する肝障害を高率に経験していた。これらは、心肺停止に伴う腸管虚血再潅流や、PCPS 駆動による腸管血流の変化によって生じたと考えられ、最終的には肝不全から多臓器不全に至る“蘇生後腸管症候群”と定義される。この病態解明と予後との関連を解析し、救命の治療戦略としての治療介入について、臨床研究と基礎的研究によって行うことを目的とする。

３．研究の方法

当施設での院外心停止患者に対する ECPR の導入基準は(Hase M, Circ J 69:1302-1307, 2005)、1.発症目撃のある推定心原性心停止、2.除細動困難な VF、3.自己心拍再開困難、を満たした症例とし、急性大動脈解離を疑わせる心タンポナーデ症例、発症前 ADL が悪い症例、76 歳以上の高齢者は原則除外している。PCPS 導入後の集中治療中には、“蘇生後腸管症候群”の典型的症状として、大量の下痢や粘血便を来す。カテーテル挿入部の感染防止や排便管理を目的として、多くの症例にフレキシシール(Flexi-Seal®;ConvaTec,米国)を直腸内に留置し、便失禁管理システムとして使用している。循環器系疾患による院外心停止に対して ECPR を施行した患者を対象に、年齢、性別、循環停止時間、排便の有無、排便量、便の性状、カテコラミン使用の有無、乳酸値について検討を行った。また、全失禁管理システムの使用が推奨される症例を特定する目的に、大量水様便排出を認める予測因子について検討を行った。

次に、肝不全を来す“蘇生後腸管症候群”の病態解明を目的として、ラット蘇生後腸管症候群モデルを用いた臓器障害および腸管血流動態の解析を行った。

(1)ラット PCPS モデルの作成　ラット(S-D、体重 300-400g、♂)に吸入麻酔器で麻酔薬(4%イソフルラン)を吸入させ、気道確保後、人工呼吸器管理を行い、心電図、呼吸回数、平均動脈圧、直腸温をポリグラフシステム(RMT-1000;日本光電,日本)を用いてモニタリングを行った。右大腿動脈から送血ルート（24G）を、右外頚静脈から脱血ルート（18G）を確保し、ヘパリンによる血栓防止を行った。VF 誘発と人工呼吸器停止を行い、VF 心停止の後に、小動物用膜型人工肺(HPO-003;MERA,日本)、ローラーポンプ(Masterflex L/S;Cole-Parmer,米国)、リザーバーから構成されたラット PCPS 回路に接続し体外循環を行った。ローラーポンプ流速は 100ml/kg/min に設定の上で適宜調整し、循環血液温度は 36℃を目標として温度調節を行った。PCPS 回路内の流量・流速の定量化のため、超音波血流計チューブ用プローブ(ME3PXL-M5/N;Transonic Systems Inc.,

米国）を PCPS 回路を構成する体外循環用シリコンチューブに装着。超音波血流計チューブ用モジュール(transonic TS410;Transonic Systems Inc.,米国）で体外循環用シリコンチューブ内の血流流量の測定を行った。このような回路で構成された体外循環蘇生を 30 分間継続した ECPR 群と、送血・脱血ルートを確保し、VF 心停止後に 30 分間胸骨圧迫を行った conventional-CPR 群(c-CPR 群)、一方、比較対照として、送血・脱血ルート確保のみ施行し、心停止の誘導を行わなかった sham 群を設定した。

(2)腸管血流動態の解析のため超音波血流計血管用プローブ(MA1PRB/N；Transonic Systems Inc.,米国)のプローブヘッドを、開腹下に遊離した上腸間膜動脈に装着した。超音波トランジット法により、超音波血流計血管用モジュール(transonic TS420;Transonic Systems Inc.,米国)で上腸間膜動脈の血流流量の測定を行った。

(3)心停止後、30 分間の蘇生を行った c-CPR 群、ECPR 群のラットを犠死させ、空腸、回腸、横行結腸および肝臓を摘出。各臓器を 10%ホルムアルデヒド溶液にて固定し、パラフィン包埋後に切片を作成し、HE 染色を行った。腸管の臓器障害に関して、Chiu らの分類 (Chiu CJ,Arch Surg 101:478-483,1970)を用いた病理組織学的検討を行った。また、腸管粘膜絨毛高の測定を行い、肝組織についても同様に組織学的所見を検討した。

４．研究成果
(1)蘇生後腸管症候群における消化管障害と排便管理
　2012 年から 2014 年までの 3 年間に、当施設に搬入となり、ECPR を施行した循環器系疾患による心停止蘇生後患者 58 例を対象とした。搬入から 24 時間以内の 300ml/日以上の水様便を大量水様便の排泄と定義した。
男女比は、男性 48 例、女性 10 例。うち 30 例で PCPS が導入された。大量水様便の排泄を認めたのは 19 例、認められなかったのは 39 例であった。
大量水様便排泄を関連する因子として、年齢、性別、PCPS の使用、カテコラミン使用の有無、乳酸値、循環停止時間について検討した($\chi^2$ 検定・Mann-Whitney U 検定)。大量水様便排泄の有無と性別、年齢、カテコラミン使用の有無に関連は認められなかった。PCPS 導入の有無については、PCPS を導入した 30 例のうち 14 例で大量便を認め、PCPS 非導入の 28 例のうち 23 例で大量便は認められず有意な関連を認めた($p$=0.026)。また、乳酸値は大量便ありで有意に高値($p$=0.026、114 vs 91)であり、循環停止時間についても、大量便ありで有意に長い循環停止($p$=0.000、50 vs 29)を認めた。
大量水様便排泄を認める独立した関連因子同定のため、単変量解析で有意な関連が認められた、PCPS 使用の有無、乳酸値、循環停止時間を説明変数として多変量解析を行ったところ、循環停止時間のみ有意差（$p$=0.010,95%CI:1.2～3.75）を認めた。

(2)ラット蘇生後腸管症候群モデルを用いた臓器障害および腸管血流動態の解析
　ラット PCPS 回路の全体像と回路図を図 1 に示す。左側写真のように各種パラメーターをモニタリングしつつ、送血・脱血ルートを確保し、右側回路図のように機器を配置した。

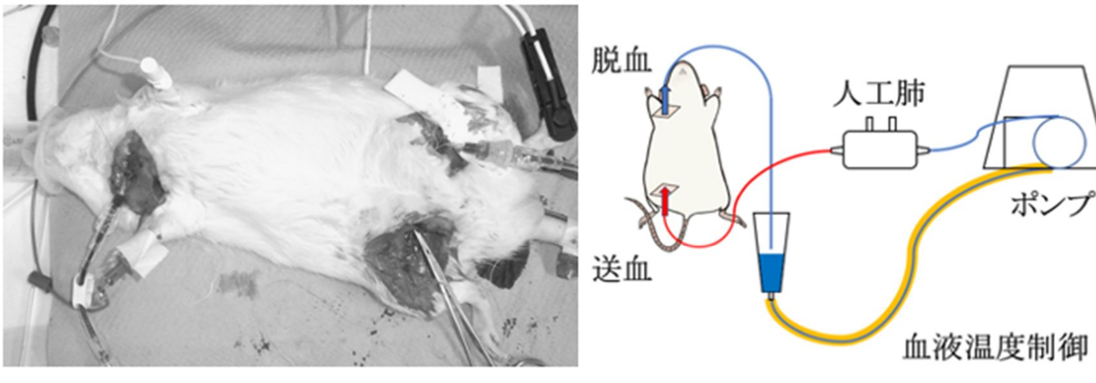


図1　ラットPCPS写真・回路図

　ラット PCPS 回路駆動下に超音波血流計による上腸間膜動脈の血流測定を行った。上腸間膜動脈内の流速は PCPS 回路内のローラーポンプで規定されるポンプ流速に正の相関を持ち、ポンプ流速の増減に一致して変化を認めた。sham 群と比較すると、ECPR 群にでは流速は上昇しており、本モデルにおいて腸管血流の低下は認められなかった。
臓器障害について、ECPR 群、c-CPR 群、sham 群で 3 群間の比較検討を行った。腸管の臓器障害に関して、Chiu らの分類によるスコアリングでは、正常腸管粘膜の grade 0 から、出血、潰瘍

形成、粘膜固有層の破壊を認める grade　5 までの 6 段階で分類される。光学顕微鏡で腸管内腔の粘膜面を観察し、分類に準じてスコアリングを行った。小腸（空腸・回腸）の観察では、Sham 群の平均スコアは grade0、c-CPR 群と ECPR 群の平均スコアは、軽度の粘膜萎縮と絨毛先端部の上皮細胞下に間隙を認め、共に grade1 に相当した。

空腸の HE 染色による組織標本について、各群(n=5)の絨毛高を測定した(図 2)。Sham 群の絨毛高は 490±36 ㎛であったが、c-CPR 群の絨毛高は 435±34 ㎛、ECPR 群の絨毛高は 424±31 ㎛であり、ともに sham 群と比較して有意に低値であった。

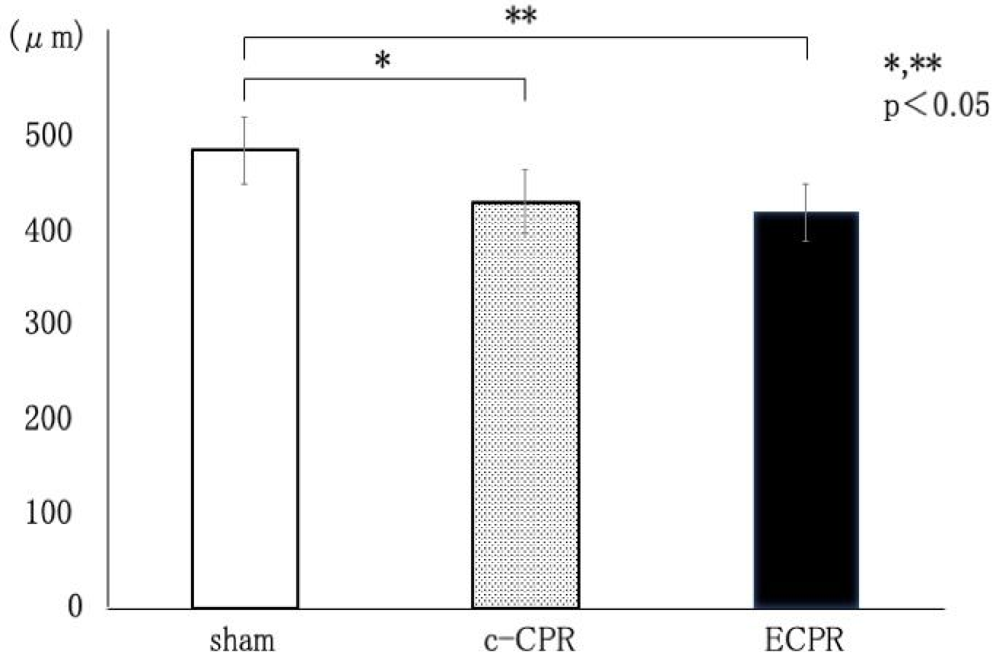


図2　空腸絨毛高

次に、回腸の HE 染色による組織標本についても同様に、各群(n=5)の絨毛高を測定した(図 3)。sham 群の絨毛高は 327±21 ㎛、c-CPR 群の絨毛高は 289±34 ㎛、ECPR 群の絨毛高は 299±43 ㎛であった。空腸と異なり、回腸では各群間で有意差は認めらなかった。

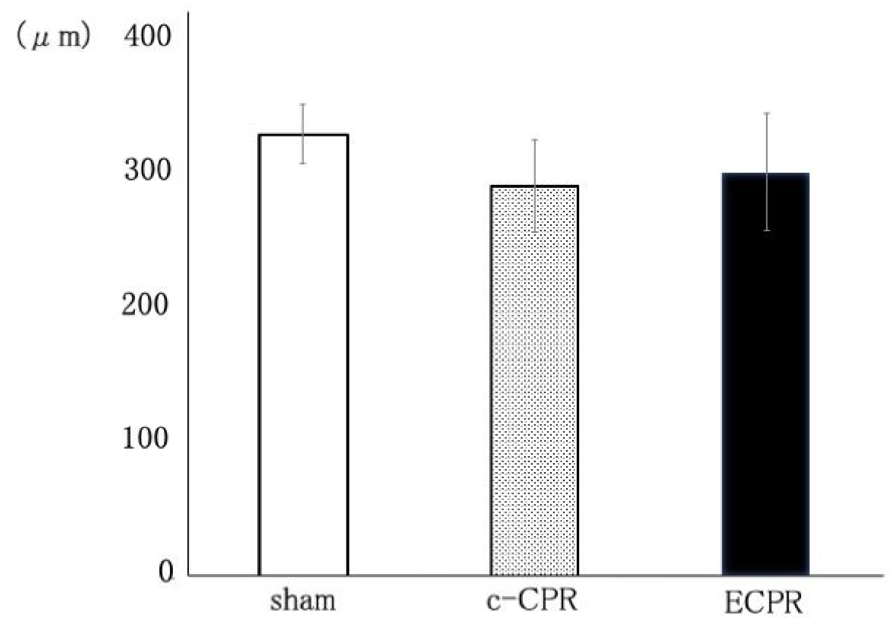


図3　回腸絨毛高

肝臓について、各群の HE 染色標本で組織学的検討を行った。sham 群と比較して、c-CPR 群と ECPR 群の組織標本では、細胞境界が一部不明瞭となり、中心静脈周囲に軽度の鬱血を認めたが、

虚血に伴う著名な組織変性は認められなかった。

(3)考察とまとめ

以上の研究結果より、蘇生後腸管症候群の主症状である大量水様便排泄について、多変量解析において循環停止時間との関連を認めたことから、心停止伴う一定時間の循環停止と、蘇生に伴う低循環の遷延が腸管機能障害への関与が大きいことが示された。乳酸値の上昇は循環停止による組織低灌流の結果としての生体反応の程度を示し、PCPS 使用も通常蘇生法に対する治療抵抗性に起因するため、搬入早期における腸管機能障害の予測には不向きであったと考えられた。また、ラット蘇生後腸管症候群モデルによる臓器障害と腸管血流動態の解析から、背景条件を一致させた上で、蘇生方法の違いにより組織障害が生じうることが明らかとなった。本モデルで施行された ECPR による循環管理の中では、PCPS 駆動に伴う腸管血流の明らかな低下は認められなかった。ただし、本モデルは、心停止発生からの蘇生という短時間の経過に限定した超急性期を想定したものであったため、今後、より中長期の病態を反映させたモデルを作製することにより、更なる病態解明と、治療介入など予後改善に繋がる研究へ発展させることが可能となると考えられた。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計8件（うち査読付論文　8件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　7件）

| １．著者名 | ４．巻 |
|---|---|
| Wada K, Bunya N, Kakizaki R, Kasai T, Uemura S, Harada K, Narimatsu E. | 6 |
| ２．論文標題 | ５．発行年 |
| Successful use of veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation for septic cardiomyopathy in a patient with pre-existing chronic heart failure | 2019年 |
| ３．雑誌名 | ６．最初と最後の頁 |
| Acute Med Surg. | 301-304 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） | 査読の有無 |
| 10.1002/ams2.407. | 有 |
| オープンアクセス | 国際共著 |
| オープンアクセスとしている（また、その予定である） | － |

| １．著者名 | ４．巻 |
|---|---|
| Kakizaki R, Bunya N, Uemura S, Odagiri A, Kasai T, Narimatsu E. | 6 |
| ２．論文標題 | ５．発行年 |
| Takotsubo cardiomyopathy developed during rewarming of accidental hypothermia with extracorporeal membrane oxygenation. | 2019年 |
| ３．雑誌名 | ６．最初と最後の頁 |
| Acute Med Surg. | 201-205 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） | 査読の有無 |
| 10.1002/ams2.399. | 有 |
| オープンアクセス | 国際共著 |
| オープンアクセスとしている（また、その予定である） | － |

| １．著者名 | ４．巻 |
|---|---|
| Bunya N, Wada K, Yamaoka A, Kakizaki R, Katayama Y, Kasai T, Kyan R, Murakami N, Kokubu N, Uemura S, Narimatsu E. | 6 |
| ２．論文標題 | ５．発行年 |
| The prognostic value of agonal respiration in refractory cardiac arrest: a case series of non-shockable cardiac arrest successfully resuscitated through extracorporeal cardiopulmonary resuscitation. | 2019年 |
| ３．雑誌名 | ６．最初と最後の頁 |
| Acute Med Surg. | 197-200 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） | 査読の有無 |
| 10.1002/ams2.398. | 有 |
| オープンアクセス | 国際共著 |
| オープンアクセスとしている（また、その予定である） | － |

| １．著者名 | ４．巻 |
|---|---|
| Sugiura G, Bunya N, Yamaoka A, Okuda H, Saito M, Mizuno H, Inoue H, Narimatsu E. | 6 |
| ２．論文標題 | ５．発行年 |
| Delayed retroperitoneal hemorrhage during veno-venous extracorporeal membrane oxygenation: a case report. | 2019年 |
| ３．雑誌名 | ６．最初と最後の頁 |
| Acute Med Surg. | 180-184 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） | 査読の有無 |
| 10.1002/ams2.385. | 有 |
| オープンアクセス | 国際共著 |
| オープンアクセスとしている（また、その予定である） | － |

| | |
|---|---|
| 1．著者名<br>Bunya N, Sawamot K, Kakizaki R, Wada K, Katayama Y, Mizuno H, Inoue H, Uemura S, Harada K, Narimatsu E. | 4．巻<br>- |
| 2．論文標題<br>Successful resuscitation for cardiac arrest due to severe accidental hypothermia accompanied by mandibular rigidity: a case of cold stiffening mimicking rigor mortis. | 5．発行年<br>2018年 |
| 3．雑誌名<br>Int J Emerg Med. | 6．最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1186/s12245-018-0205-8. | 査読の有無<br>有 |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著<br>－ |

〔学会発表〕　計16件（うち招待講演　0件／うち国際学会　0件）

| |
|---|
| 1．発表者名<br>原田敬介，石井雅之，西舘敏彦，沖田憲司，成松英智，竹政伊知朗 |
| 2．発表標題<br>ECPR下に施行した緊急開腹手術症例の検討 |
| 3．学会等名<br>第119回日本外科学会定期学術集会 |
| 4．発表年<br>2019年 |

| |
|---|
| 1．発表者名<br>原田敬介，柿崎隆一郎，文屋尚史，喜屋武玲子，水野浩利，井上弘行，上村修二，成松英智 |
| 2．発表標題<br>敗血症性ショックに伴うNOMIに対する治療戦略～PCPSとDLの位置付け |
| 3．学会等名<br>第46回日本救急医学会総会・学術集会 |
| 4．発表年<br>2018年 |

| |
|---|
| 1．発表者名<br>佐藤弘樹，文屋尚史，村上直人，上村修二，國分宣明，原田敬介，成松英智 |
| 2．発表標題<br>出血合併症を伴うECPR症例に対する治療戦略の検討 |
| 3．学会等名<br>第46回日本救急医学会総会・学術集会 |
| 4．発表年<br>2018年 |

１．発表者名
加藤三四郎，文屋尚史，柿崎隆一郎，井上弘行，上村修二，宮田圭，國分宣明，原田敬介，成松英智

２．発表標題
来院時神経学的所見はECPR導入患者の予後良好予測因子である

３．学会等名
第46回日本救急医学会総会・学術集会

４．発表年
2018年

１．発表者名
文屋尚史，上村修二，柿崎隆一郎，井上弘行，宮田圭，國分宣明，原田敬介，成松英智

２．発表標題
ECPR症例において病院到着後のアドレナリン投与は神経学的予後改善に寄与しない

３．学会等名
第46回日本救急医学会総会・学術集会

４．発表年
2018年

１．発表者名
加藤三四郎，文屋尚史，原田敬介，佐藤昌太，柿崎隆一郎，井上弘行，上村修二，成松英智

２．発表標題
重症急性胆管炎においてVA-ECMO導入下でERBDを施行し救命した1症例

３．学会等名
第46回日本集中治療医学会学術集会

４．発表年
2019年

１．発表者名
文屋尚史，柿崎隆一郎，加藤三四郎，上村修二，原田敬介，成松英智

２．発表標題
当院における敗血症性ショックに対するVA-ECMO導入基準の検討

３．学会等名
第46回日本集中治療医学会学術集会

４．発表年
2019年

| |
|---|
| １．発表者名<br>加藤三四郎，文屋尚史，上村修二，原田敬介，佐藤昌太，國分宣明，成松英智 |
| ２．発表標題<br>ECPR症例に非閉塞性腸管虚血を来した1例 |
| ３．学会等名<br>第42回北海道救急医学会学術集会 |
| ４．発表年<br>2018年 |

| |
|---|
| １．発表者名<br>佐藤弘樹，文屋尚史，村上直人，上村修二，國分宣明，宮田圭，原田敬介，成松英智 |
| ２．発表標題<br>腹腔内出血を合併したECPR症例に対する治療戦略の検討 |
| ３．学会等名<br>第42回北海道救急医学会学術集会 |
| ４．発表年<br>2018年 |

| |
|---|
| １．発表者名<br>文屋 尚史，沢本 圭悟，上村 修二，原田 敬介，成松 英智 |
| ２．発表標題<br>院外心停止症例において死戦期呼吸はECPR導入患者の予後良好の予測因子である |
| ３．学会等名<br>第45回日本集中治療医学会学術集会 |
| ４．発表年<br>2018年 |

| |
|---|
| １．発表者名<br>和田健志郎，文屋尚史，喜屋武玲子，原田敬介，成松英智 |
| ２．発表標題<br>敗血症による高度の心機能障害に対しECMOを導入し救命した1例 |
| ３．学会等名<br>第45回日本救急医学会総会・学術集会 |
| ４．発表年<br>2017年 |

| |
|---|
| １．発表者名<br>文屋尚史，和田健志郎，山岡歩，喜屋武玲子，上村修二，原田敬介，成松英智 |
| ２．発表標題<br>当院におけるVeno-arterio extracorporeal membrane oxygenationの使用経験 |
| ３．学会等名<br>第1回日本集中治療医学会北海道支部学術集会 |
| ４．発表年<br>2017年 |

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

－

６．研究組織

| | 氏名<br>（ローマ字氏名）<br>（研究者番号） | 所属研究機関・部局・職<br>（機関番号） | 備考 |
|---|---|---|---|
| 研究分担者 | 上村　修二<br><br>(Uemura Syuji)<br><br>(10448607) | 札幌医科大学・医学部・講師<br><br>(20101) | |
| 研究分担者 | 水口　徹<br><br>(Mizuguchi Toru)<br><br>(30347174) | 札幌医科大学・保健医療学部・教授<br><br>(20101) | |
| 研究分担者 | 井上　弘行<br><br>(Inoue Hiroyuki)<br><br>(30721568) | 札幌医科大学・医学部・助教<br><br>(20101) | |
| 研究分担者 | 成松　英智<br><br>(Narimatsu Eichi)<br><br>(70295343) | 札幌医科大学・医学部・教授<br><br>(20101) | |