

令和元年6月15日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20034

研究課題名(和文)敗血症によるエンドトキシン血症が筋力に及ぼす影響に関する研究

研究課題名(英文)The effect of weakening the muscle by septic endotoxemia.

研究代表者

榎本 有希 (Enomoto, Yuki)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：30649231

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：敗血症によって生じる筋力低下に対して、早期リハビリテーションがどのような影響を与えるのかを明らかにするためにリポポリサッカライド(LPS)の腹腔内投与により敗血症モデルマウスを作成した。早期の生存率、及び各病期での運動能力、及び代謝能力を測定し、早期リハビリテーション介入の運動強度を明らかにした。代謝ゲージ、トレッドミルを用いて二酸化炭素排出量(VCO<sub>2</sub>)及び酸素排出量(VO<sub>2</sub>)を測定することで、本モデルではLPS投与後24時間が最も重篤な状況で、その後は侵襲の影響から回復傾向に転じることを明らかにした。また、各時間帯における嫌気性呼吸が生じない低強度運動の運動強度を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現状では敗血症など重篤な状態に続発する筋力低下(ICU-AW)について、有効な予防・治療法は確立されておらず、早期リハビリテーションは推奨されるものの具体的な内容については確立していなかった。本研究により、敗血症に続発したICU-AWラットモデルが確立し、適切なリハビリテーション強度を確定することができた。本研究により、リハビリテーションがICU-AWの予防や早期改善に寄与するメカニズム、適切な介入開始時期、強度、方法などさらなる発展的な研究の礎となることができた。これらの詳細なメカニズムが明らかとなれば、集中治療後の患者の生活の質、医療コストの軽減など社会に与える影響は大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Sepsis model mice were created by intraperitoneal administration of lipopolysaccharide (LPS), to clarify how early rehabilitation affects the muscle weakness caused by sepsis. We measured the early survival rate, exercise ability, and metabolic ability at each stage and clarified exercise intensity of early rehabilitation intervention. We measured Carbon dioxide output (VCO<sub>2</sub>) and oxygen output (VO<sub>2</sub>) by using a metabolic gauge and treadmill. We revealed that twenty-four hours after LPS administration is the most severe condition, then after that turned to a recovery in this model. Besides, the low-intensity exercise, anaerobic breathing did not occur, was determined in each time zone.

研究分野：集中治療

キーワード：ICU-AW 敗血症 筋力低下 LPS

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) ICU-acquired weakness の現状

医療の進歩に伴い集中治療を受ける患者の死亡率は近年飛躍的に低下している。そのなかで、救命がなされた患者の社会復帰を遅らせる要因の一つとして、ICU acquired weakness(ICU-AW)が指摘されている。ICUで人工呼吸管理など集中治療を受けた患者の25-33%程度がICU-AWを発症するという報告もある(De Jonghe B et al. JAMA 2002; Guarneri B et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2008)。

ICU-AWは重症患者の管理中に生じる左右対称性の四肢麻痺で、その病態として末梢神経障害(Critical illness polyneuropathy)と筋障害(Critical illness myopathy: CIM)が混在するとされている。リスク因子として人工呼吸管理、ステロイド、筋弛緩薬の使用、高血糖などが挙げられ、とくに敗血症では高率に合併するとの報告がある(Kress JP, Hall JB, N Engl J Med, 2014)。しかし、未だにその機序は明らかではない。

ICU-AWを生じることで、人工呼吸期間やICU在室日数の延長など急性期の経過にも影響を及ぼしている。自然経過は重症度により様々で、回復までに数週間から数ヶ月を要し、重篤な場合には不可逆的となる場合もある。現在、リハビリ以外有効な治療法は確立されていない(Schweickert D et al. Lancet 2009)。また、筋力低下の機序に関して、癌やCOPD、加齢など慢性期の病態(Cohen 2014)についての報告は見られるが、ICU-AWなど急性期の病態についての報告は少ない。

### (2) Oxidative stress による影響

これまでに報告されている、ICU-AWの機序の一つとしてOxidative Stressがある(Reid M et al. The Journal of physiology 2011)。Oxidative Stressは、癌、糖尿病、虚血性心疾患、脳卒中等様々な病態で上昇し、その病勢を反映するマーカーとして考えられている。集中治療領域では敗血症より生じる様々な臓器障害の機序の一つとして注目されており、とくに肺に生じる急性呼吸窮迫症候群、腎臓に生じる敗血症性急性腎傷害などの病態で様々な報告がみられている。このfree radicalを消去するためにscavengerを用いた種々の治療法が報告されている。(Pathak E et al. J Pharmacol Exp Ther 2012; Patil N et al. Am J Physiol Renal Physiol 2014; Wang Z et al. Am J Pathol 2012)。このように、慢性の筋力低下や敗血症に続発する多臓器不全の中では肺、腎などについての研究は蓄積されつつあるが、近年新たに、生じてきた重症敗血症により起こりうるICU-AWの病態、治療に関しては不明なままである。

### (3) ICU-acquired weakness への介入

ICU-AWの介入については確立された薬物的治療はない。敗血症治療ガイドラインにおいては、早期リハビリテーションが推奨されているが、逆に死亡率を上昇させるという報告もあり未だ介入開始時期、介入強度、介入方法については確立していない現状である。先行研究からもその効果は一定しておらず、メカニズムの解明のため基礎的研究からのアプローチが必要と考えられる。しかし、敗血症後に対するリハビリテーションに関する基礎的研究は未だみられない。

## 2. 研究の目的

基礎的見地からの橋渡し研究を通し、敗血症におけるリハビリテーションの適切な介入開始時期、強度、方法について確立し、リハビリテーションの人体に与える影響を詳細に解析することを目的とする。

(1) 研究1: 敗血症モデルマウスでの酸化ストレスの状態を測定する。

(2) 研究2: 敗血症マウスモデルの重症度の推移を明らかにする。

(3) 研究3: 敗血症マウスモデルの低強度運動(人間での歩行リハビリ程度)の範囲を同定し、早期リハビリテーションモデルの確立を目指す。

### 3. 研究の方法

いずれの研究も筑波大学附属病院倫理審査委員会の指針に基づき許可を得て行われた。

#### (1) 研究 1

LPS 5, 10mg/kg を腹腔内注射 (i.p) した敗血症ラットマウス 9 匹ずつ、薬剤投与を行わないコントロールマウス 3 匹の 3 群間に分け 1, 3, 24 時間後に抗酸化ストレス (d-ROM) の測定を行った。

#### (2) 研究 2

LPS 20 mg/kg を i.p した敗血症モデルマウス、薬剤投与を行わないコントロールマウスの 10 匹ずつの 2 群間に分け、代謝機能測定ゲージを使用し 72 時間代謝の測定(酸素摂取量:  $VO_2$ , 二酸化炭素摂取量:  $VCO_2$ )を行った。

#### (3) 研究 3

11 週齢マウス 10 匹を使用し、マウスは 1 週間前から 3 回、敗血症導入前に運動への順応のため、トレッドミルで 30 分のトレーニングを行う。(25m/分) その後 LPS 20mg/kg を i.p し 6,12,24,36,48,60,72 時間の時点で代謝トレッドミルにおいて運動能力測定を行った。測定方法は運動速度を 1m/min より開始し、3分おきに 1m/分、10m/分に至った時点で3分おきに 2m/分速度を上げるプロトコルとし、仰向けにしても身体の向きを戻そうとしないオールアウト状態となった場合に終了する事とした。その後、 $VCO_2$  の上昇が運動前の代謝状態より有意に変化した時間 (ANOVA 検定を使用し post hoc で Tukey-Kramer 検定を実施) を最大運動強度とし、目標強度である低強度運動 (最大運動強度の 1/3) を明らかにした。

### 4. 研究成果

#### (1) 研究 1:

投与から 24 時間の間に、敗血症モデルの抗酸化ストレスマーカーの有意な変化は認めなかった。(図 1) LPS 投与量を変更して確認をしたが、同様の結果だった。

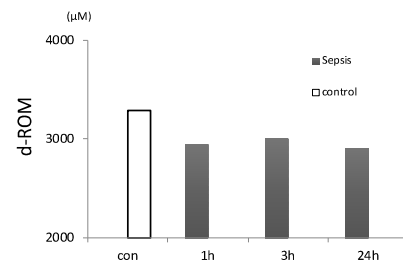


図1 抗酸化ストレス(d-ROM)の経時的推移

#### (2) 研究 2:

敗血症群及びコントロール群の代謝の最大の指標である  $VCO_2$  の 72 時間での推移を図 2 に示す。コントロール群においては 24 時間ごとに数値の増減が認められ、生物における概日リズム (サーカディアンリズム) が認められた。しかし、敗血症群においては 12 時間後までに急激に代謝は低下し、24 時間で最低値をとった。その後 72 時間まで緩徐に増加傾向となったが、コントロール群と比較すると、依然として代謝が低下している状態であることが明らかになった。

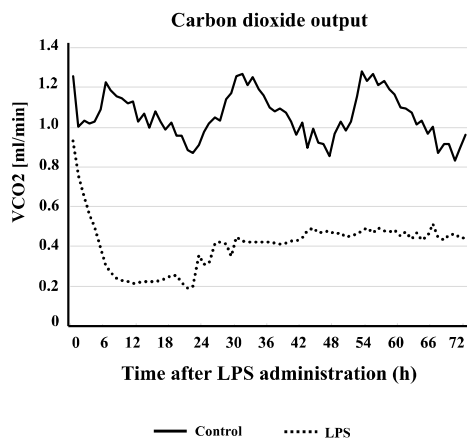


図 2 代謝の推移

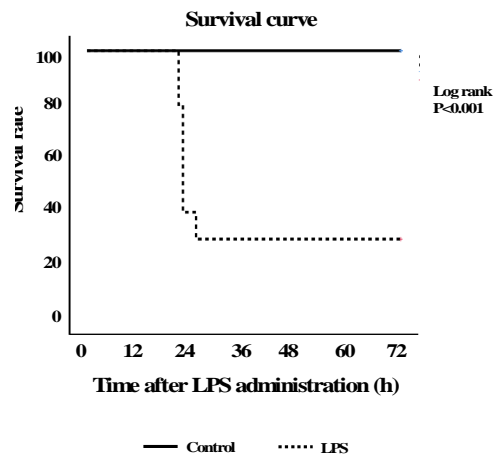


図 3 生存曲線

また、敗血症群及びコントロール群の生存率の推移を図3に示す。図3より敗血症マウスの7割が約24時間で死亡することが明らかになり、これは図2に示した代謝が急激に低下する動きと合致する結果となった。

以上より 敗血症マウスは12時間に向けて代謝が急激に低下すること、24時間前後で7割が死亡すること 生存マウスは72時間に向けて徐々に回復するが完全に代謝が回復するわけではないことが明らかになった。

### (3) 研究3:

運動強度測定の結果を図4に示す。6時間(図4A)では6m/分、12時間後(図4B)では4m/分、24時間後(図4C)では3m/分、36時間後(図4D)では3m/分、48~72時間後(図4E、F、G)では8m/分の強度が低強度運動であることが明らかになった。この運動データは実験1において得られた小括の結果と矛盾せず、24時間に向けて最大運動強度が落ち、72時間に向けてある程度の回復が生じたことが示唆される。また、12、24、36時間の最も重篤な時期と考えられる敗血症マウスにおいては運動強度を上げていく段階の初期に認められる速度への順応に伴うVCO<sub>2</sub>の低下が認められず、緩やかに上昇を続け、一定の速度でオールアウトする現象が認められた。全身状態を反映したものと考えられるが、敗血症児の運動に対する代謝反応の新たな知見の一端とも考えられ、今後詳細なメカニズム解明が必要と示唆された。

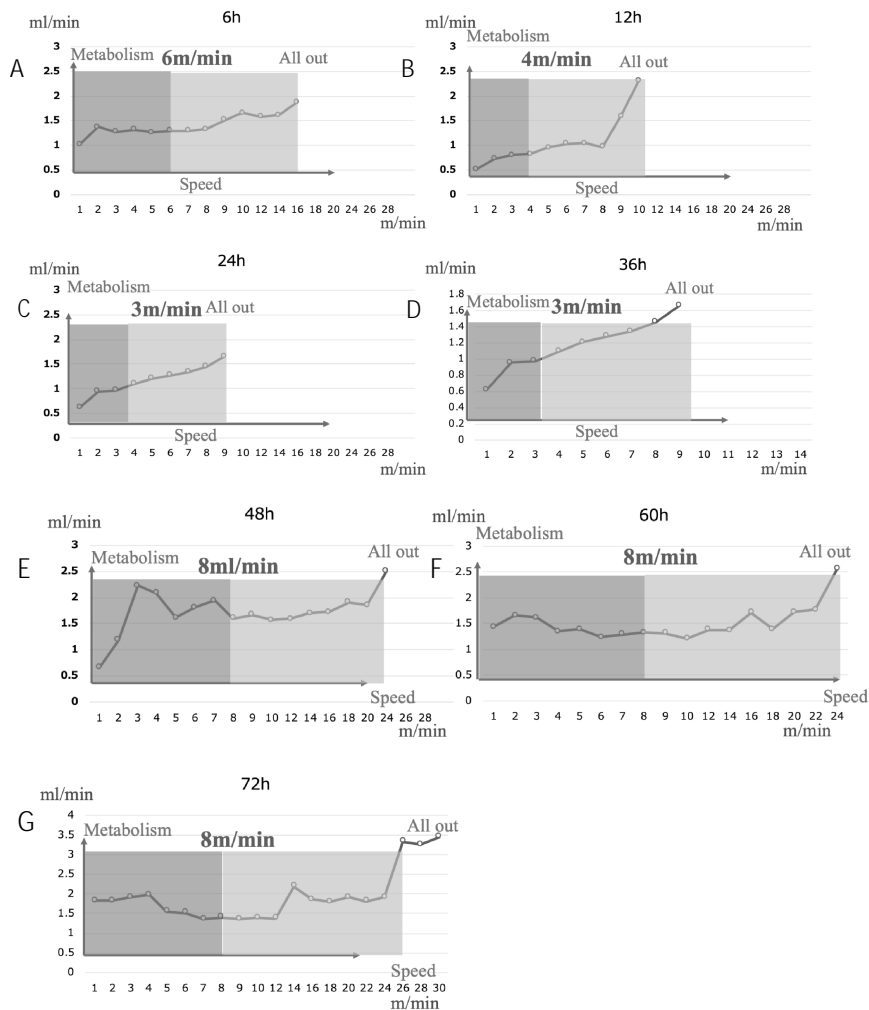


図4 運動強度測定

## 5. 主な発表論文等

(学会発表) (計 1 件)

榎本 有希、大学病院オープン ICU における人工呼吸器患者に対する早期リハビリテーションの現状と課題、第 20 回臨床救急医学会学術集会、2017 年

## 6. 研究組織

研究協力者

研究協力者氏名: 松石 雄二郎

ローマ字氏名: MATSUIISHI Yujiro

研究協力者氏名: 下條 信威

ローマ字氏名: SHIMOJYO Nobutake

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。