

令和元年5月26日現在

機関番号：14101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20385

研究課題名(和文)敗血症における人工呼吸関連肺損傷に対するトロンボモジュリンの抑制効果

研究課題名(英文)Effect of Recombinant Human Thrombomodulin on Ventilator-Induced Lung Injury in Septic Rats

研究代表者

岩下 義明(Iwashita, Yoshiaki)

三重大学・医学系研究科・リサーチアソシエイト

研究者番号：90525396

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：高一回換気量換気による人工呼吸は肺障害をきたす。ラットの敗血症に高一回換気量換気を行うことで生じる肺障害をrTMが抑制するか確認した。ラットを全身麻酔下に、Cecal ligation and puncture (CLP)による敗血症のモデルを作成し、Low tidal volume (6ml/kg)とhigh tidal volume (35ml/kg)の1回換気量で人工呼吸管理を2時間行い肺障害を来し、rTMを投与し、その効果を確認した。高一回換気量換によりPaO₂低下とBALF中のタンパク量の上昇を認めしたが、rTM投与を行っても、PaO₂、BALF中のタンパク量に変化を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、rTMのDICのみならず、炎症性疾患に対する適応を拡大する動きがみられるが、今回の敗血症に人工呼吸関連肺障害を来し、DICは来していないモデルラットに対しては効果が確認できなかった。また、一部の分子学的マーカーでは、肺障害を悪化させる可能性が示唆された。

本研究はこれまでのrTMの有用性に関する研究結果を覆すものではないが、適応を十分に守ったうえで使用しないと病態を悪化させる可能性があることを示したという意味で意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：High tidal ventilation with inflammation causes ventilator-induced lung injury (VILI). This study aimed to investigate the preventive effect of rTM on VILI in sepsis caused by HV ventilation. A total of 46 adult male rats were subcutaneously administered either 3mg/kg of rTM or saline. Twelve hours later, the rats were underwent cecal ligation and puncture (CLP). At 2 h after this procedure, the rats were placed on a ventilator set at either low tidal volume [(LV) 6 ml/kg] or high tidal volume (HV 35 ml/kg) ventilation for another 2 h. After 2 h of mechanical ventilation, the PaO₂ was significantly lower and BALF protein was significantly higher in HV rats than in LV rats. The rTM did not improve oxygenation or BALF protein levels. Also in HV rats, lung tissue IL6 and MCP-1 mRNA levels were significantly higher in the rTM-treated rats. rTM does not improve oxygenation in a non-DIC, CLP-pretreated, high-tidal-ventilation rat model.

研究分野：集中治療

キーワード：人工呼吸関連肺障害 敗血症 リコンビナントトロンボモジュリン

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

1. 研究開始当初の背景

人工呼吸器による高一回換気量換気は炎症を惹起し、人工呼吸関連肺障害を来す(VILI)。研究者らはこれまでに、高濃度酸素での高一回換気量換気による肺障害モデルラットを作成し、リコンビナントトロポモジュリンの投与により肺障害が軽減する可能性を示した。しかし、高濃度酸素での人工呼吸管理は臨床的には一般的ではなく、より臨床に近い形のモデルでの効果の確認はされていない。

2. 研究の目的

今回、敗血症モデルラットに、人工呼吸器による高一回換気量換気を行い、肺障害モデルラットを作成し、rTM を投与することにより肺障害が軽減するか確認することを目的とした。また、肺障害の軽減が起こった場合、どのような分子生物学的メカニズムにより改善するかを明らかにするために、肺の分子生物学的指標も確認する。

3. 研究の方法

計 46 匹のラットに 3mg/kg の rTM または生食を腹腔内投与する。12 時間後、ラットを全身麻酔下に、Cecal ligation and puncture (CLP) を行い、敗血症のモデルを作成する。CLP 手技から 2 時間自発呼吸で管理し、その後、Low tidal volume (6ml/kg) または high tidal volume (35ml/kg) の 1 回換気量で人工呼吸管理を 2 時間行い、Ventilator induced lung injury (VILI) の発生を来たす。右内頸動脈に観血的動脈圧ラインを留置し人工呼吸期間中、血圧を測定する。動脈圧ラインからは 30 分毎に動脈血採血を行い PaO₂ を測定する。人工呼吸開始時と終了時に血液検査を行う。人工呼吸管理終了後は、過量麻酔による殺処分とする。殺処分後、生食で Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) を採取し、解剖を行い肺の分子マーカー、組織標本などを作製する。

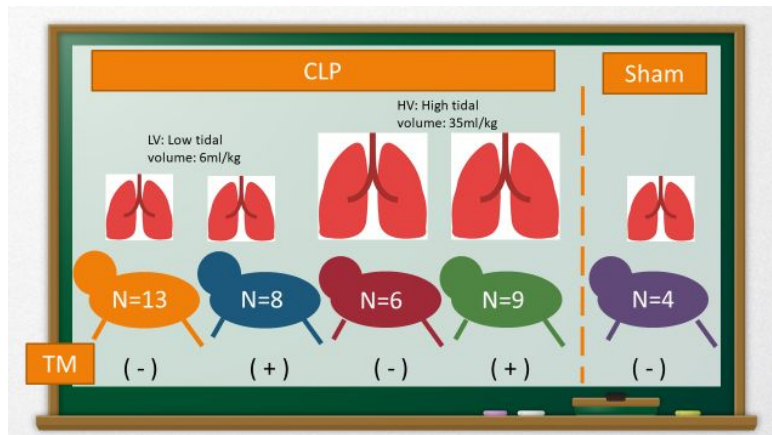


Fig 1. 実験のグループ分け

CLP: Cecal ligation and puncture, TM: thrombomodulin

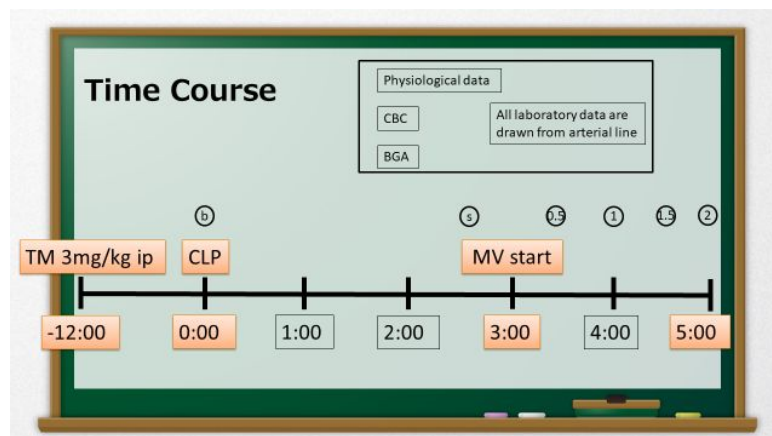
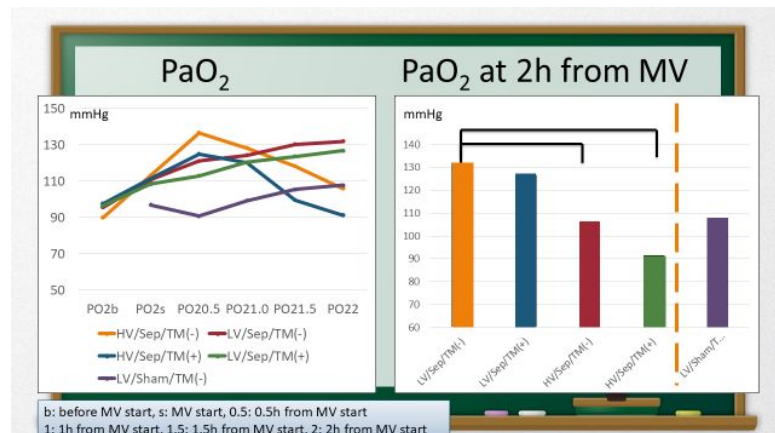


Fig 2. 実験の時間経過

CBC: Complete blood cell count, BGA: blood gas arterial, TM thrombomodulin, MV: mechanical ventilation

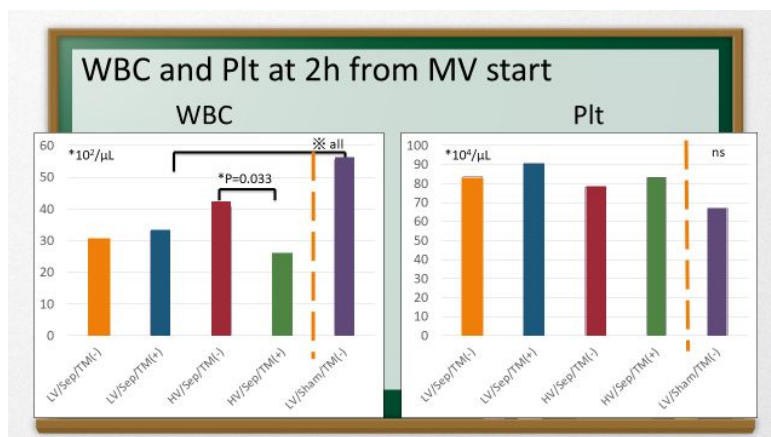
4. 研究成果

High tidal volume による換気は Low tidal volume での換気に比べ、PaO₂ の低下、BALF 中のタンパク量の増加を認め、敗血症に伴う肺障害モデルラットを作成することができたと考え



えられる。
rTM 投与を行っても、PaO₂、BALF 中のタンパク量に変化を認めなかった。

血液検査ではいずれの群も白血球の有意な低下を認めるも、血小板値に有意差はなく、本モデルは敗血症は来しているものの、DIC は来していないと考えられた。

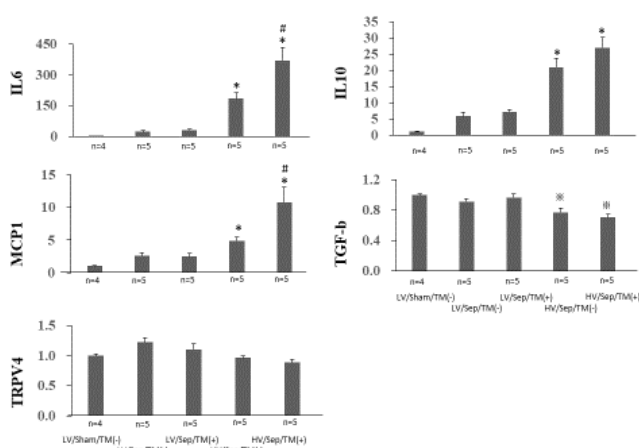


肺の分子マーカーでも炎症性サイトカインの改善効果は見られなかった。MCP1 では rTM 投与群が非投与群に比べ有意に上昇した。

以上のデータより、rTM は敗血症に伴う肺障害を改善しないことがわかった。さらに、悪化させる可能性もあることが示唆された。

本研究の限界として、敗血症モデルラットは血小板値の低下や、凝固データの悪化がみられておらず、敗血症は起きているもののDICは起きていないモデルであった。また、rTM 投与が敗血症・人工呼吸管理開始前であり、これらの要素が rTM の改善効果を認めなかった原因である可能性がある。

また、rTM が高濃度酸素による人工呼吸器関連肺障害は抑制するが、敗血症に伴う肺障害は抑制しない機序については明らかになっていない。今後の研究でこの機序の違いを明らかにしていきたいと考える。



なお、本研究成果は米国集中治療医学会で発表し、現在論文投稿中である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

Yoshiaki Iwashita 45th Annual Congress of Society of Critical Care Medicine, Orland, US (2016). The effect of recombinant thrombomodulin on sepsis-primed ventilator-induced lung injury.

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

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。