

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16427

研究課題名(和文)化学肺臓炎ARDSに対するVV-ECMO下の肺洗浄とサーファクタント補充療法

研究課題名(英文)Lung lavage and surfactant replacement therapy during VV-ECMO for aspiration pneumonia / acute respiratory distress syndrome

研究代表者

橋本 浩平 (Hashimoto, Kohei)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：70464964

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：2018年度は体外膜型肺の臨床の使用に関する研究として、Intraoperative Extracorporeal Support during Lung Transplantation in Patients bridged with Venovenous Extracorporeal Membrane Oxygenationを発表した。また、同論文を日本呼吸器外科学会にて発表した。ラットVV-ECMOモデルの確立に関するPreliminary resultは2020年度日本呼吸器外科学会に提出し採択された。今後データが揃い次第、アッセイ・解析を進めていく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ARDSの原因は多岐にわたるが、誤嚥による直接肺損傷は激しい化学肺臓炎を引き起こし、予後は悪い。誤嚥したものが肺泡を障害してARDSの原因になっている因果関係は明らかであり、特にこの病態では肺の洗浄とサーファクタントの補充が有用な可能性がある。本研究の結果は、予後が悪く、頻度も比較的多い重要疾患であるARDSに対してアプローチの異なる新規治療を提示でき学術的独自性・創造性があるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In 2018, we published the article named “Intraoperative Extracorporeal Support during Lung Transplantation in Patients bridged with Venovenous Extracorporeal Membrane Oxygenation”, in which we described the clinical use of ECMO. We also presented the article in the annual meeting of the Japanese Association for Chest Surgery. Our abstract about the development of this rat ECMO model was accepted by the annual meeting of the Japanese Association for Chest Surgery scheduled in 2020. The future plan includes completion of animal experiments, assays, and ultimately publication.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：ARDS VV-ECMO surfactant

1. 研究開始当初の背景

急性呼吸促拍症候群 Acute respiratory distress syndrome (ARDS)は、直接あるいは全身性の疾患による間接的な肺障害を契機に炎症性の肺水腫を起こし、低酸素血症を来す重篤な症候群である。日本での頻度は、年間6.1人/人口10万人(多治見公高 他、人工呼吸 1999)。集中治療入院中の患者では約1.8%と報告されている(織田成人 他、日救急医学会誌 2007)。死亡率は50%程度と未だ予後不良である。これまで大規模臨床試験で有効とされた治療は、低換気(The ARDS Network, *NEJM*. 2000)・腹臥位(Guerin C et al, *NEJM*. 2013)・筋弛緩(Papazian PL et al, *NEJM*. 2010)と基本的には支持的療法に限られており、有用な薬物療法は知られていない。つまり、これまでの治療体系では、支持的療法で肺の保護を行うことで、肺の回復を待つわけであるが、肺が回復しない場合は有効な手立てがないのが現状である。

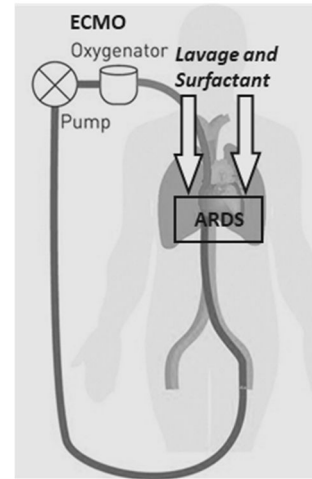


図1 治療の概念図

ARDS患者では肺胞内のサーファクタントの欠如があることが知られている(Gregory TJ et al, *The JCI*. 1991)。ARDSに対するサーファクタント補充療法は、動物実験での有効性が示され、小児症例(1 week to 21 years)を対象とした前向きランダム化比較試験で死亡率を下げる結果がでたものの(Willson et al. *JAMA* 2005)、主に成人を対象とした他の臨床試験では同様の結果ではなく、日本呼吸器学会のガイドラインでは使用の推奨には至っていない。障害肺の肺胞に染み出た血漿成分中にサーファクタントを抑制する因子の存在が指摘されているものの(Dushianthan et al. *Critical Care* 2012)、これらが取り除かれていないことも、これまでの薬剤の有効性が示されなかった原因の可能性もある。しかし、呼吸不全により既に人工呼吸器に高度に依存するARDS患者に対して、肺胞の洗浄を行った上でサーファクタントの経気道的に投与をすることは、呼吸不全を悪化させるリスクが非常に高く現実的ではなかった。

一方で、この10年で重症ARDSに対する体外膜型肺 Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO)は劇的な進歩を遂げてきた。2009年の大規模臨床試験では、ECMOの重症ARDS患者に対する有効性を調べた大規模臨床試験で、予後を改善する可能性が示されている(Peek et al. *Lancet* 2009)。また、2009年のH1N1インフルエンザのパンデミックでは、ECMOの有効性が示唆された(The Australia and New Zealand Extracorporeal Membrane Oxygenation Influenza Investigators. *JAMA* 2009)。しかしながら、ECMOをARDSに対して行うことは、実質的には肺保護による支持療法であり、かつその臨床成績は更に改善の余地がある。現状では特に重症のARDSがECMOの対象となるが、これらの重症ARDS患者にこそ積極的に肺を治療することが予後の改善につながる可能性がある(図2)。患者がECMOに乗った状態であれば、酸素化は膜型肺に大部分が依存しており、ARDSの患者であっても気道に積極的な治療の介入が安全に行える可能性が高い。

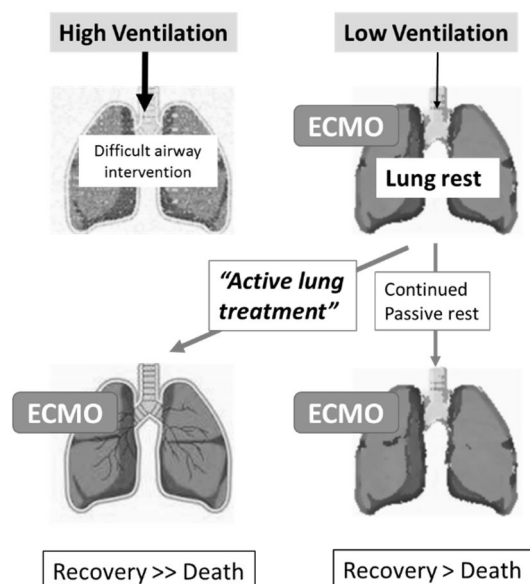


図2 ECMOが肺の積極的な経気道治療を可能にする

## 2. 研究の目的

ARDS の原因は多岐にわたるが、誤嚥による直接肺損傷は激しい化学肺臓炎を引き起こし、予後は悪い。誤嚥したものが肺胞を障害して ARDS の原因になっている因果関係は明らかであり、特にこの病態では肺の洗浄とサーファクタントの補充が有用な可能性がある。本研究では、胃液を直接肺に注入することで作成する直接肺障害 (aspiration pneumonitis) に起因する動物 (ラット・ラットで成功したら豚) ARDS モデルを用いて、ECMO によるサポート下での肺洗浄とサーファクタント補充療法の実行可能性と、これらの治療が ECMO 単独における肺保護に比べて肺修復 (酸素化・炎症マーカーの改善) を促すことができるかを検討することが目的である。

## 3. 研究の方法

### (1) ラット・豚におけるveno-venos ECMO の安定したモデルの確立

呼吸不全に対する ECMO のモードは veno-arterial (VA) でなく、veno-venous (VV) が第一選択である (Combes et al. *Am J Respir Crit Care Med* 2017)。ラットの VV ECMO モデルの報告はないが、VA モデルは報告されており (AA et al. *J Transl Med* 2014)、これを参考にして VV ECMO モデルの確立を目指す。

### (2) 誤嚥による直接 ARDS モデル

誤嚥による直接 ARDS モデルは、胃から直接胃液を取り出したものを凍結保存して、経気道的に散布する。

### (3) ECMO を要する重症 aspiration pneumonitis / ARDS に対する肺の洗浄とサーファクタント治療の検討

肺の洗浄には生理食塩水を使用し、サーファクタントは牛肺から抽出した phospholipid を使用する予定である。ECMO 開始後 1 時間で治療を行い、その後 5 時間の ECMO の後検体を採取する。ラット (300 g 前後、各群 N=10)・豚 (30kg 前後、各群 N=4) を使用する。治療効果の比較として、**A 群) ECMO only B 群) ECMO + surfactant C 群) ECMO + lavage + surfactant** を設定し、対象をランダム化した上でアウトカムを比較する。

**解析の方法**としては、以下の項目を評価し、群間の差を統計学的に検討することで、治療効果を検討する。肺の生理的機能として 1) **肺の酸素化・コンプライアンス**を動脈血液ガス分析と人工呼吸器の計測値を用いて評価する。ARDS の特徴である肺水腫の程度を 2) **Wet/Dry ratio** で評価する。病理学的な変化を 3) **Lung injury score (alveolar hemorrhage, vascular congestion, alveolar fibrin, leukocyte infiltration)** で評価する。炎症変化は 4) **Inflammatory cytokine (IL-1beta, IL-6, IL-8)** を Bronchial alveolar lavage (BAL)、肺組織、血液において PCR と ELISA で評価する。また BAL からは、サーファクタントの機能を 5) **Surfactant biophysical functional analysis** で評価する。更に BAL で、サーファクタント阻害因子の指標である 6) **secretary phospholipase A2** と 7) **タンパク量**を計測する。

#### 4 . 研究成果

ラット VV-ECMO モデルの確立(写真参照)  
Lewis ラット(320g、雄)を使用。全身麻酔として(導入:ミダゾラム, 塩酸メドミジン, 酒石酸ブトルフェールの三種混合液)を腹腔内に投与し、仰臥位とした。脱血用カニューレシオン用に右頸部を切開、右内頸静脈を露出し、静脈末梢を結紮した後に 16 gauge catheter を先端が右房入口部に位置するように留置した。送血用カニューレシオンとして、右鼠径部切開し右大腿静脈を



露出。末梢を結紮し、中枢側に SP チューブを顕微鏡下に挿入して先端を下大静脈に位置した。ヘパリンナトリウムを投与(300U/body)した後、カニュラと膜型肺を含めた回路(priming volume: 8ml)を接続し、ローラーポンプを開始し VV-ECMO を開始した。ECMO の血液の流量は 40ml/min でガス(100%酸素)の流量は 500ml/min とした。動脈血は内頸動脈より採取した。

全身麻酔後、カニューレシオンをした直後の動脈血ガス (pH/PaCO<sub>2</sub>/PaO<sub>2</sub>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) は 7.07/53.5/99/15.6 であった。VV-ECMO 開始後 7 分の膜前の血液ガスは 7.09/76.2/24/22.9 で、膜後の血液ガスは 7.752/8.6/690/11.9 であった。人工呼吸管理無しでの 15 分の VV-ECMO の維持が可能であった。

上記のごとくラットの VV-ECMO モデルに於いて、膜型肺による酸素と炭酸ガスの十分な交換能が確認された。ラット VV-ECMO モデルの確立に関する Preliminary result は 2020 年度日本呼吸器外科学会に提出し採択された。

研究者の異動や COVID19 の影響などで、2 年の期間で予定していた実験がすべて終了できていないが、今後実験を進めていきデータが揃い次第、アッセイ・解析を進めていく予定である。

尚、2018 年度は体外膜型肺の臨床の使用に関する研究として、Intraoperative Extracorporeal Support during Lung Transplantation in Patients bridged with Venovenous Extracorporeal Membrane Oxygenation を発表した。また、同論文を 2018 年日本呼吸器外科学会にて発表している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hashimoto Kohei, Hoetzenecker Konrad, Yeung Jonathan C., Jeagal Luke, Donahoe Laura, Pierre Andrew, de Perrot Marc, Yasufuku Kazuhiro, Waddell Thomas K., Keshavjee Shaf, Cypel Marcelo	4. 巻 37
2. 論文標題 Intraoperative extracorporeal support during lung transplantation in patients bridged with venovenous extracorporeal membrane oxygenation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Heart and Lung Transplantation	6. 最初と最後の頁 1418 ~ 1424
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.healun.2018.07.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 K Hashimoto, K Hoetzenecker, L Jeagal, J Yeung, L Donahoe, A Pierre, M de Perrot, K Yasufuku, T Waddell, S Keshavjee, M Cypel
2. 発表標題 Selection of intraoperative cardiopulmonary support during lung transplantation in patients bridged with veno-venous ECMO
3. 学会等名 第35回日本呼吸器外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤大喜, 橋本浩平, 森 彰平, 重盛林太郎, 野田祐基, 松平秀樹, 平野 純, 藤井 豊, 大塚 崇
2. 発表標題 ラットveno-venous extracorporeal membrane oxygenation (VV-ECMO)モデル
3. 学会等名 第37回日本呼吸器外科学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	大塚 崇 (Ohtsuka Takashi)	東京慈恵会医科大学・呼吸器外科・教授  (32651)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	藤井 豊  (Fuji i Yutaka)	新潟医療福祉大学・医療技術学部  (33111)	
研究協力者	加藤 大喜  (Kato Daiki)	東京慈恵会医科大学  (32651)	
研究協力者	森 彰平  (Mori Shohei)	東京慈恵会医科大学  (32651)	