

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20791326

研究課題名（和文）敗血症に対するニカラベン投与の臓器保護効果

研究課題名（英文）The effect of nicaraven to organ dysfunctions in sepsis

研究代表者

鈴木 武志（SUZUKI TAKESHI）

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：80327600

研究成果の概要（和文）：

本研究においては、盲腸穿孔術によって作成するラット敗血症モデルを用いて、ニカラベン投与の効果を検討した。まずはじめに、ニカラベン投与の生存率および敗血症心機能障害に対する効果の検討を行った。心機能評価については、順行性摘出灌流心標本を用いて、心拍出量、心仕事量、心筋酸素利用率などのパラメーターを測定した。データ数がまだ少ないものの、現時点では、生存率および心機能に関して、治療を行わない対象群とニカラベン投与群とで有意差は認めていない。

研究成果の概要（英文）：

I examined the effects of nicaraven to sepsis, using a rat cecal ligation and perforation model. At first, I evaluated whether a nicaraven infusion has beneficial effects to mortality and cardiac dysfunction or not. In the evaluation of cardiac function, I measured cardiac output, cardiac work and cardiac efficiency using a working heart model. Although there are only a few datas, a nicaraven therapy has little beneficial effects to mortality and cardiac dysfunction at this time.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：敗血症、臓器障害、活性酸素種、ニカラベン

1. 研究開始当初の背景

現代医学の急速な進歩にも関わらず、感染に伴う全身性炎症反応から多臓器不全を併発する敗血症の死亡率は、依然として高い。これまで、いくつもの治療法が試みられてきたものの、死亡率を有意に低下させる治療法はこれまでのところほとんどない。

敗血症における臓器機能障害には、様々な因子が関与していることが指摘されているが、その原因の一つに活性酸素種が挙げられている。活性酸素種は、敗血症における心機能障害をはじめとした臓器障害に関与していることがこれまでの研究にて報告されている。活性酸素種が悪影響をおよぼすとされる脳虚血・再灌流障害においては、活性酸素種除去薬の効果も指摘されている。よって、敗血症における活性酸素種の軽減は、臓器障害の軽減から死亡率を改善する可能性がある。

本研究では、ラット敗血症モデルを用いて、活性酸素種除去薬であるニカラベンの臓器保護効果および生存率に与える影響について検討を行った。

2. 研究の目的

本研究は、ラット敗血症モデルを用いて、敗血症に対する活性酸素除去薬であるニカラベンの投与が、心臓をはじめとした各臓器障害に対する保護効果を発揮し、生存率を改善することができるかどうかを検討することを目的とする。ニカラベン投与の臓器保護効果を証明することができれば、いまだに治療に難渋している敗血症の予後改善に向かって一歩前進できる。

3. 研究の方法

(1) ラット敗血症モデルの作成

ラット敗血症モデルには、ゴールドンスタンダード法である、CLP(cecal ligation and perforation)モデルを用いた。まず、ラットに全身麻酔を行ったうえで、右頸部に約1cmの切開を入れ、内頸動静脈を露出する。動静脈にそれぞれカニューレーションを行い、動脈ラインからは観血的動脈圧を測定し、静脈ラインは、輸液および薬剤の投与ルートとする。次に、腹部正中に約1cmの切開を入れ、虫垂を腹腔外へ露出し、虫垂を回盲部近辺で結紮した後に、20ゲージ針にて、虫垂を2箇所穿孔させ、内容物を搾り出す。その後、虫垂を

腹腔内へ戻し、腹部切開創を二層縫合にて閉創する。全身麻酔から覚醒した後は、静脈ラインより2ml/hrにて輸液を行い、鎮痛目的にて、塩酸ブプレノルフィンを1mg/kg/hrの速度にて持続投与する。ラットはケージ内を自由に動き回り、食事および飲水も自由に行うことができるようにする。ニカラベン投与群に対しては、全身麻酔覚醒直後より、静脈ラインより持続的に薬物投与を行う。

(2) 順行性摘出灌流心標本による心機能の評価

心機能の評価は、盲腸穿孔術を施行して24時間後に行った。再び全身麻酔を行い、胸部正中切開をした後に、心臓および肺を摘出する。食道および肺を心臓より剥がした後に、上行大動脈にカニューレーションを行い、逆行性に心臓を灌流する。次に、上下大静脈を結紮、肺静脈から左房にカニューレーションを行い、逆行性灌流から順行性灌流に切り替える。ペースメーカーは用いずに、自己心拍にて評価を行う。前負荷は一定の10cmH₂Oとする。上行大動脈および肺動脈に流量計を取り付け、左室には圧プローベを留置してそれぞれ経時的に測定する。また、冠動脈流入前後の灌流液の酸素分圧の差および冠動脈流量(=肺動脈流量)から心筋の酸素消費量を算出する。これらの値から、心拍出量(上行大動脈流量+肺動脈流量)、心仕事量(心拍出量×左室最高収縮期圧)および心筋の酸素利用率の指標であるcardiac efficiency(心仕事量/心筋酸素消費量)を算出して、ニカラベン投与を行わない対象群とニカラベン投与を行う治療群との間で各パラメーターを比較検討する。統計処理については、2群間の各パラメーターをpaired t-testにて比較してp<0.05を有意とした。各測定が終わった後に、心筋の組織学的検討の目的にて、心臓を液体窒素を用いて-80にて凍結保存とした。

(3) 生存率の評価

まず、治療を行わない対象群の48時間生存率の目標を50%とした。敗血症モデルの作成は、方法(1)と同様である。本モデルの生存率は侵襲の程度によって差がでるため、侵襲の程度を虫垂から搾り出す内容物の量により調整した。対象群の48時間生存率がおおよそ50%となった段階で、ニカラベン投与を行う治療群との生存率の違いを検討した。全身麻酔から覚醒した時間から、5分ごとにモニター上に記録される観血的動脈圧が0mmHgとなるまでの時間を生存時間とした。両群間の生存率は、Kaplan Meierの生存曲線を用いて比較し、有意差の検討にはlog-rank testを用

いて、 $p < 0.05$ を有意とした。

4 . 研究成果

(1)心機能の評価

心機能評価については、現段階で各群 3 匹ずつのデータがあるのみである。心拍出量、心仕事量、cardiac efficiency いずれのパラメーターにおいても両群間で有意差を認めていない。

(2)生存率の検討

現在、各群 3 匹ずつのデータしか収集できていないのが現状であるが、48 時間生存率は、対象群と治療群との間で有意差を認めていない。

本来ならば、各実験において、今後データ数を増やした段階で統計処理を行い、具体的な数値を提示すべきである。また、心臓以外の臓器に対する影響も検討すべきである。しかし、研究代表者本人が 2009 年 7 月よりアメリカにて研究留学をすることとなったため、これ以上本研究が進んでいないのが現状である。

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)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[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 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

[その他]

とくになし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 武志 (SUZUKI TAKESHI)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：80327600

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし