

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25560192

研究課題名(和文)人工呼吸関連肺炎を抑制する革新的気管挿管チューブの開発

研究課題名(英文)Development of Innovative Intubation Tube inducing Less-Ventilator-associated pneumonia

研究代表者

鄭 雄一(Chung, Ung-il)

東京大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：30345053

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文): 本研究では、既存の挿管チューブを生体親和性の高いMPCによってコーティングすることにより、気道粘膜損傷を主因とする人工呼吸関連肺炎を抑制することを目指した。表面コート効率やチューブ本体からの溶出物の抑制効果の検討を行い、現実的でバランスのとれたコーティング条件を設定することができた。また、MPCによって溶出が抑制される可塑剤のうち代表的な物質であるDEHPは、濃度依存的に炎症を惹起することが明らかになり、毒性低減の面でもMPCが寄与することを示した。

研究成果の概要(英文): In this study, we aimed to suppress ventilator-associated pneumonia by coating commercial intubation tubes with MPC, which is a biocompatible polymer. We investigated a coating efficiency and a suppressive effect on elution, and decided an appropriate coating condition. We also found that DEHP (Di-(ethylhexyl)phthalate), the most famous plasticizer used in medical plastics, induced pro-inflammatory response in a dose dependent manner. It means that the coating with MPC can reduce plasticizers-possessing toxicity in clinical use.

研究分野：医工学

キーワード：人工呼吸関連肺炎 可塑剤溶出抑制

1. 研究開始当初の背景

気管挿管は日常的な医療行為であるが、合併症が起こる頻度も高い。VAP (Ventilator-associated pneumonia, 人工呼吸器関連肺炎) は気管挿管中に発生する重篤な合併症の一つであり、高い死亡率や入院期間増加による医療コストの増大などからその予防は重要である。VAP は人工呼吸そのものが原因ではなく、気管チューブが留置されることで、挿管チューブを構成するポリ塩化ビニル (PVC) からの可塑剤の溶出や、挿管チューブの動きが原因となって生じる粘膜損傷によって、過剰な粘液産生が誘導されて生体防御機構が低下するため、気管チューブ表面に病原性細菌によってバイオフィーム (菌膜, 細菌が作る構造体) が形成されることが原因の一つとして挙げられる (Anesthesiology, 110:673, 2009)。

本研究の先行研究において、生体膜類似構造をもつ MPC に着目し、気管チューブに MPC をコーティングすることで気道粘膜損傷を明確に低減することを示した (Eur J Anaesthesiol, 29:100, 2012)。

2. 研究の目的

本研究では、既存のチューブに生体親和性の高い物質を塗布することにより、気道粘膜損傷を主因とする VAP を抑制することを考え、先行研究と同様に MPC に着目した。イヌを用いた実験では、MPC によるコーティングは、気道粘膜損傷及び過剰粘液産生の抑制に有効であることが確認されており (Eur J Anaesthesiol, 29:100, 2012)、さらに可塑剤溶出抑制や細菌感染を防止する効果も期待できるため、本研究においては VAP を予防する新規挿管チューブを創出することを目指した。

3. 研究の方法

(1) PVC 製挿管チューブへの MPC ポリマーのコーティング法の検討

MPC ポリマーを、挿管チューブのカフ部へ塗布し、チューブのコーティングを行った。コーティングの条件として、塗布液の濃度 (0.5~5%)、積層回数の 2 項目を検討した。

(2) MPC コーティングによる PVC からの DEHP 溶出抑制検討

PVC 製品を液体培地中に静置し、溶出する可塑剤 DEHP (Di-(ethylhexyl)phthalate) の量を UV/VIS 分光光度計を使用して吸光波長 270nm を指標に評価し、コーティング効果を検討した。また、挿管時においては細胞と直接接触することから、脂溶性画分への溶出を評価するため、血清を溶媒とし、同様に溶出する DEHP の量を GC/MS (ガスクロマトグラフィー/質量分析法) を使用して解析した。

(3) DEHP の毒性評価

エンドトキシンフリー環境下において、血

清に 2.5 mg/mL の濃度で分散した DEHP をさらに血清を用いて 1-5 倍に段階希釈し、培養細胞系に 1:9 になるよう添加することで、毒性評価を行った。炎症性サイトカインとして特に感度の良い IL-6 を指標とし、産生量を ELISA 法にて測定した。

4. 研究成果

(1) PVC 製挿管チューブへの MPC ポリマーコーティング法の検討

(2) MPC コーティングによる PVC からの DEHP 溶出抑制検討

塗布液の濃度について、図 1 に示すように先行研究の細胞接着抑制試験の結果では 5% 溶液において最も効果が見られた。

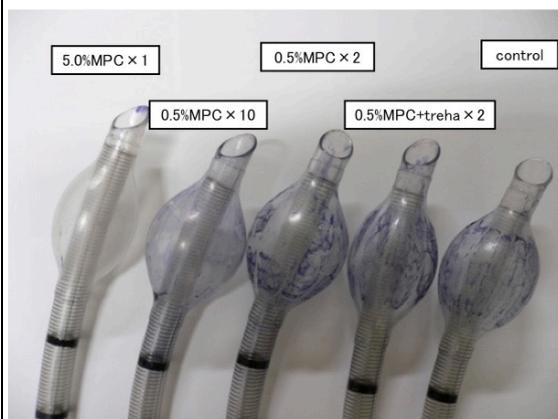


図 1 塗布剤濃度の検討 (Eur J Anaesthesiol, 29:100, 2012 を改変)

本研究において X 線光電子分光法 (XPS) を用いて表面原子を検出した結果を表 1 に示した。PVC 製品に特異的にみられる塩素原子を指標にして判断すると、5%コーティング溶液を用いたサンプルでは被覆されていることが示され、代わりに MPC に特有のリン原子の割合が増していることが明らかとなった。

表 1 XPS による表面原子解析

	Atomic ratio				
	C	O	N	P	Cl
control	81.53	15.49	0.44	0.00	2.54
0.5%MPC x 2	73.04	22.50	2.14	2.32	0.00
0.5%MPC x 10	75.27	21.12	1.82	1.78	0.00
1.0%MPC x 1	75.27	20.63	2.23	1.77	0.09
2.0%MPC x 1	77.79	17.93	2.58	1.57	0.13
5.0%MPC x 1	73.75	21.81	1.97	1.97	0.50
0.5%MPC/10%trehalose x 2	66.84	29.23	1.38	0.70	1.84
theoretical	70.08	25.20	2.36	2.36	0.00

PVC 製品からの DEHP 溶出を UV/VIS 分光光度計にて測定した結果を図 2 に示した。吸光波長 270 nm において、MPC コートしたサンプルでは溶出物濃度が低いことが示された。

この評価系を用いてコーティング条件の検討を行った。

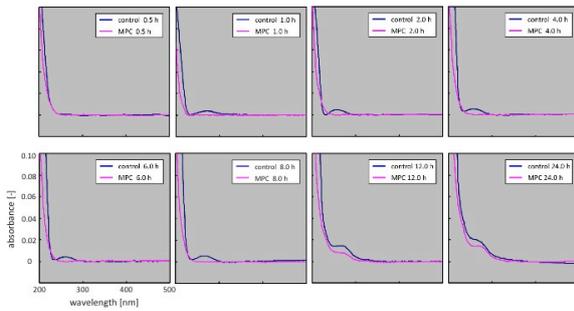


図 2 溶出可塑剤の検出

次に、コート剤の積層回数について検討した結果を図 3 に示した。1 回、3 回、6 回の各条件について溶出物濃度を経時的に測定したところ、6 回コートでは浸漬開始直後より高値の溶出が観察されており、溶媒であるエタノールの作用が強く出ていることが示唆された。より低回数の積層条件では、浸漬開始直後の溶出は抑制されていたが、単回塗布条件は 3 回積層条件と比較してより高い溶出を示した。

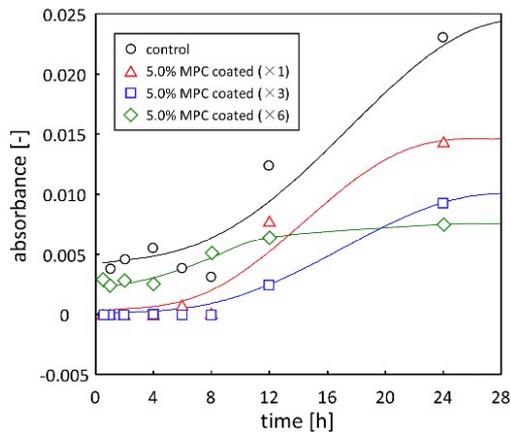


図 3 MPC コーティング回数の検討

以上の結果から、積層回数の増加は必ずしも溶出量の減少と比例せず、3 回積層をバランスのとれたコーティング条件として設定した。

適切にコートされたサンプルについて、血清および液体培地を抽出溶媒とし、DEHP 標準物質を用いて GC/MS 解析を行った結果を表 2 に示した。液体培地よりも血清を抽出溶媒に用いた場合で、より多くの DEHP 溶出が確認され、挿管チューブ留置時の細胞への移行状態をより反映していると考えられる。

表 2 GC/MS/MS による DEHP 溶出量測定

	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	
	Medium	Serum
control	18	153
MPC x 3	13	79

MPC コーティングを行ったサンプルでは、

確かに DEHP 溶出が抑制されていることが明らかとなった。

(3) DEHP の毒性評価

生体での毒性評価に先んじて、細胞での毒性評価を行った結果を図 4 に示す。血清に分散した DEHP は、さらに血清を用いて 1~5 倍に希釈して培養系に添加したところ、濃度依存的に炎症性サイトカインの産生が見られ、毒性を示すことが明らかとなった。

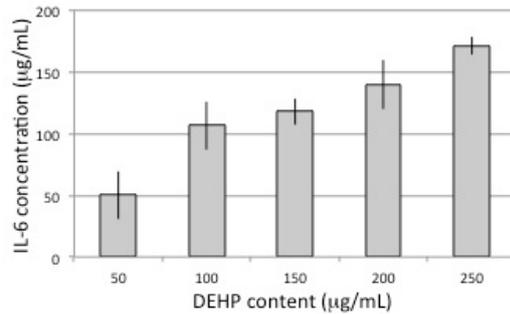


図 4 細胞暴露による DEHP 毒性の評価

(1)~(3)の結果より設定した MPC コーティング法は、挿管チューブからの可塑剤溶出を抑制することを確認した。溶出する可塑剤は DEHP を含み、また DEHP の炎症惹起能が示されたことで、MPC コーティングは化学的な炎症を抑制する作用を併せ持つことが明らかとなった。

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 1 件)

FUJISAWA Ayano, SHIMOHATA Nobuyuki, ITOH Seiko, NAKAGAWA Takayuki, MOCHIZUKI Manabu, HAISHIMA Yuji, FUKUI Chie, KAWAKAMI Tsuyoshi, CHUNG Ung-il, SASAKI Nobuo. **Development of Less-Invasive Tracheal Tube Using Beagle Dogs**. *Experimental Animals* (査読有), Vol. 64(2015); Supplement (in press)

[学会発表] (計 1 件)

藤澤彩乃、下畑宣行、齋島由二、鄭雄一、佐々木伸雄「ビーグル犬を利用した人工呼吸関連肺炎を抑制する低侵襲性気管チューブの開発」第 62 回日本実験動物学会学術集会、平成 27 年 5 月 29 日、京都

6. 研究組織

(1)研究代表者

鄭 雄一 (CHUNG, Ung-il)

東京大学・大学院工学系研究科・教授

研究者番号：30345053

(2)研究分担者

下畑 宣行 (SHIMOHATA, Nobuyuki)

立命館大学・生命科学部・助教

研究者番号：30419709