

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25871231

研究課題名(和文)体外循環中の高酸素管理下における炎症反応機序の解明 - 理想的な体外循環法の検討 -

研究課題名(英文)The elucidation of inflammatory response mechanism in the hyperoxic condition during extracorporeal circulation

研究代表者

藤井 豊 (FUJII, Yutaka)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・特任研究員

研究者番号：20589303

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：人工心肺に代表される体外循環法は心臓手術や急性期の心肺補助には無くてならない手技である。しかしながら、この体外循環法は生体に様々な悪影響を及ぼすことが知られている。今回、我々は、体外循環中の高酸素管理が炎症反応を助長しているという仮定を持ち、研究を行ってきた。今回の研究で、体外循環中の高酸素管理は活性酸素を発生させ、全身性の炎症反応を助長していることが確認できた。今後、臨床へフィードバックすることができると考える。

研究成果の概要(英文)：Systemic inflammatory responses in patients receiving cardiac surgery supported by cardiopulmonary bypass (CPB) significantly contribute to CPB-associated morbidity and mortality. We hypothesized that hyperoxia insufflation aggravates the inflammatory responses and organ damage during CPB. To verify this hypothesis, we investigated the inflammatory responses at high and normal levels of arterial pressure of oxygen (PaO₂) in the rat CPB model.

In this study suggest that it is better to avoid too much oxygen insufflation for attenuating organ damage associated with the superoxide production and inflammatory responses during CPB.

研究分野：循環生理学 体外循環学 臨床工学

キーワード：体外循環 高酸素 活性酸素 炎症反応 サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

心臓血管外科領域の手術において、人工心肺に代表される体外循環法は無くしてはならない手技であり、本邦では年間4万症例以上行われている。しかしながら、この体外循環は生体に様々な悪影響を及ぼすこと知られている。具体的には、循環動態の変動、各臓器への血流の不均衡分布、虚血再灌流、炎症反応など多岐に渡っておりこれらが複雑に関連し術中・術後の合併症を引き起こすとされている。その中でも血液が体外循環回路・血液ポンプ・人工肺を中心とした体外循環デバイスなどの異物に接触することで起こるとされている炎症反応は臓器障害につながる重要な因子となっている。また、一般的に患者は体外循環中、非生理的な高酸素状態管理されることが多い。近年、生体中の過剰な酸素は hydroxyl radical 等の oxygen free radical を産生し炎症や細胞障害を起こすことが分かってきている。また、一般的に患者は人工心肺中、高酸素状態管理されることが多く、非生理的な状態である。近年、生体中の過剰な酸素は oxygen free radical を産生し炎症や細胞障害を起こすことが分かってきている。加えて、心停止患者救命の際に PaO₂:300mmHg 以上の高酸素管理は生存率を下げるという報告もある。

これまでに、我々は体外循環に関連する研究を効率的に継続するために、実際の臨床で行われている体外循環を模擬でき、再現性の高い、ラットを用いた小動物体外循環モデルを構築してきた。

2. 研究の目的

本研究では、我々が構築した小動物体外循環システムを用いた実験を行い、体外循環中の炎症反応と生体の高酸素の関係を確認にし、理想的な体外循環法を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

以下の課題を設定し研究を行ってきた。課題 1. 高酸素管理体外循環において酸化ストレス及び炎症反応が増大されていることの証明。課題 2. 体外循環中の高酸素のレベルによる酸化ストレス及び炎症反応の程度の評価。課題 3. 体外循環による酸化ストレス及び炎症反応が主要臓器に引き起こす障害の評価。

実験は、ラット (SD ラット、雄、400-450 g) を用い、非体外循環群、普通酸素体外循環群および高酸素体外循環群の 3 群 (高酸素のレベルによる酸化ストレス・炎症反応の程度を検討する際は、高酸素体外循環群を PaO₂ のレベルによりさらに群分け) に分け、体外循環前、体外循環中、体外循環終了時で採血し、血球分析、生化学データ、炎症マーカーを検査し比較検討を行った。加えて、実験終了後、主要臓器を取り出し、スーパーオキシドが測定可能なジハイドロエチジ

ウム (DHE) 染色法などを用い酸化ストレスを評価しメカニズムを検討した。ラット体外循環モデルの模式図を図 1 に示す。

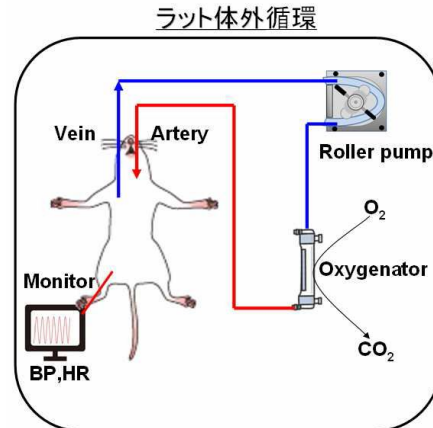


図 1. ラット体外循環モデル

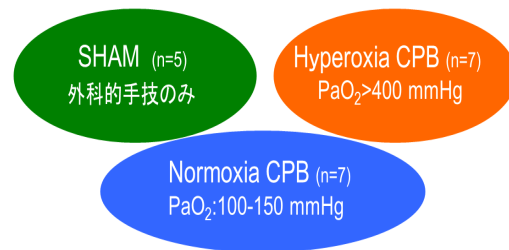


図 2. 実験グループ分け

・ SHAM 群: 外科的手技のみを行い、体外循環は非導入。

・ Hyperoxia CPB 群: 体外循環中、動脈血酸素分圧 (PaO₂) を 400mmHg 以上に維持。

・ Normoxia CPB 群: 体外循環中、動脈血酸素分圧 (PaO₂) を 100-150mmHg に維持。

4. 研究成果

研究の方法の項で述べた課題に沿って研究を進めた結果。体外循環中、動脈血酸素分圧 (PaO₂) を 400 mm Hg 以上で維持したグループで炎症反応の増大、活性酸素 (スーパーオキシド) の発現が顕著であった。サイトカイン値を図 3a-c, DHE 染色を図 4 に示す。

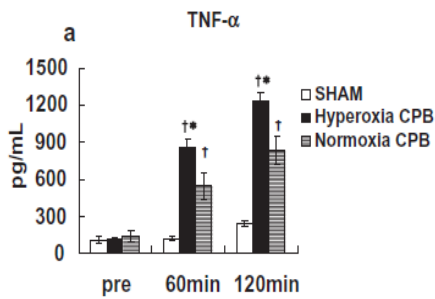


図 3a. TNF-

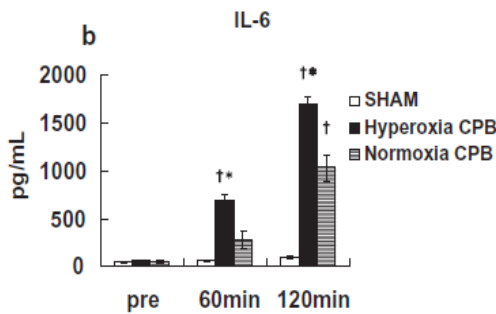


図 3 b . IL-6

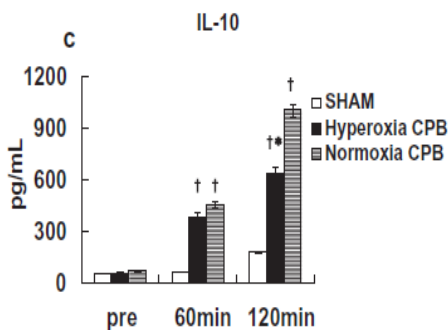


図 3c. IL-10

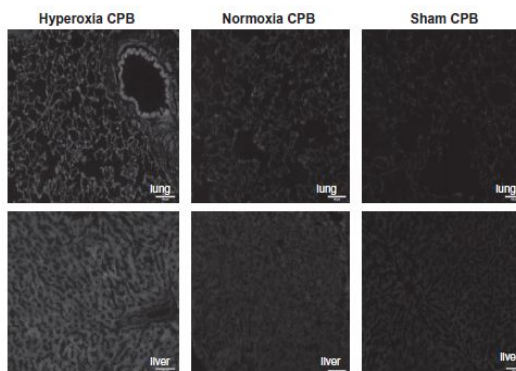


図 4.DHE 染色

以上の結果から、生体の高酸素分圧管理が体外循環中の炎症反応および臓器の酸化ストレスを助長していることが証明できた。

今回の研究で、我々は、体外循環中の非生理的な高酸素管理が酸化ストレスと関連し炎症反応を助長しているという仮説を立て、証明することができた。これまでの体外循環下の患者管理方法に一石を投じることとなり、インパクトは非常に強い研究になったと考える。

さらに本研究ではラット小動物体外循環システムを使用して実験を行うことも大きな特色であった。世界的に見ても体外循環に関する研究を小動物実験で行い、評価できるグループは少ない。小動物体外循環システムを使用することで、再現性の高い安定した実験プロトコルを遂行することが可能であることから、今後の新しい体外循環デバイス開発の大動物を用いた臨床前実験に先立った基礎的実験にも役立つと考える。

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3件)

Fujii Y, Shirai M, Inamori S, Takewa Y, Tatsumi E. A novel small animal extracorporeal circulation model for studying pathophysiology of cardiopulmonary bypass. J Artif Organs 2015;18(1) : 35-39

DOI: 10.1007/s10047-014-0804-y

査読有

Fujii Y, Shirai M, Inamori S, Takewa Y, Tatsumi E. Investigation of the biological effects of artificial perfusion using rat extracorporeal circulation model. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2014;4483-6. DOI: 10.1109/EMBC.2014.6944619.

査読有

Fujii Y, Shirai M, Tsuchimochi H, Pearson JT, Takewa Y, Tatsumi E, Taenaka Y. Hyperoxic condition promotes an inflammatory response during cardiopulmonary bypass in a rat model. Artificial Organs 2013;37(12)1034-1040

DOI: 10.1111/aor.12125.

査読有

(学会発表)(計10件)

Fujii Y, Shirai M, Takewa Y, Tatsumi E. 「Development of new leukocyte removal column aimed at suppression of the inflammatory response during cardiopulmonary bypass. Biological

evaluation in a rat model」
The 92th Annual Meeting of the
physiological Society of Japanese 2015.3.22
Kobe・Hyogo

藤井豊, 白井幹康, 武輪能明, 巽英介
体外循環中の炎症反応抑制を目指した白血
球除去カラムの開発 -ラット補助循環モデ
ルを用いた検討-第 42 回日本集中治療学会
学術集会 2015.2.9 東京

藤井豊, 白井幹康, 武輪能明, 巽英介
補助循環中の高酸素管理が生体に及ぼす影
響 小動物補助循環モデルを用いた検討-
第 52 回日本人工臓器学会大会 2014.10.18
札幌市

Fujii Y, Shirai M, Takewa Y, Tatsumi E.
「The effect of blood contact surface area
reduction during cardiopulmonary bypass
in a rat model」41st Annual ESAO
Congress 2014.9.20 Roma, Italy

Fujii Y, Shirai M, Inamori S, Takewa Y,
Tatsumi E. 「Investigation of the Biological
Effects of Artificial Perfusion Using Rat
Extracorporeal Circulation Model」
36th Annual International IEEE EMBS
2014.8.29 Chicago, USA

Fujii Y, Shirai M, Takewa Y, Taenaka Y,
Tatsumi E. 「High Oxygen Partial Pressure
Promotes an Inflammatory Response
During Extracorporeal Circulation in a
Rat Model」ASAIO 60th Annual Conference
2014.6.19 Washington.D.C. USA

Fujii Y, Shirai M, Takewa Y, Tatsumi E.
「The effect of blood contact surface area
during cardiopulmonary bypass
-Biological body evaluation in a rat
model-」The 91th Annual Meeting of the
physiological Society of Japanese 2014.3.16
Kagoshima

Fujii Y, Tatsumi E, Shirai M, Takewa Y,
Taenaka Y. 「Hyperoxia condition Promotes
an inflammatory response during
extracorporeal circulation in rat model」
51st Annual Meeting of Japanese Society
of Artificial Organs (JSAO2013)/The 5th
Congress of the International Federation
for Artificial Organs (IFAO2013)
2013.09.28 Yokohama

Fujii Y, Shirai M, Takewa Y, Tatsumi E,
Taenaka Y 「Hydrogen gas suppresses
systemic inflammatory response during
cardiopulmonary bypass in a rat model」
ASAIO 59th Annual Conference 2013.6.15

Chicago, USA

藤井豊, 白井幹康, 武輪能明, 巽英介, 妙
中義之「低侵襲体外循環を目指した低充填量
回路の作製 -ラット体外循環モデルを用い
た評価-」第 36 回日本バイオレオロジー学
会 2013.6.7 福岡市

6. 研究組織

(1)研究代表者 藤井 豊 (FUJII, Yutaka)
国立循環病研究センター・研究所・特任
研究員
研究者番号: 20589303