

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462367

研究課題名(和文) 亜硝酸塩と新規代用血漿剤を用いた出血性ショックに対する新たな治療戦略の開発

研究課題名(英文) Different effects of colloid and crystalloid solutions for fluid resuscitation on hemodynamics and peripheral organ functions in acute hemorrhagic shock rats

研究代表者

平田 直之(Hirata, Naoyuki)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：00438045

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：麻酔や手術手技の進歩により、周術期の安全性は飛躍的に高まってきた。一方、手術中における予期せぬ出血は術後の臓器障害や生存率に大きな影響を与えるため、出血後にどのように輸液や輸血で蘇生を行うかは重要である。本研究では、動物出血性モデルを用いて、様々な輸液製剤の効果を比較するとともに、臓器障害を軽減し、より良好な予後を達成するための輸液戦略について検討を行った。その結果、新規代用血漿剤である130kDヒドロキシエチルデンプンは、出血による低血圧を速やかに是正し、臓器保護効果を示すことが明らかとなった。同時に、臓器保護効果を有する亜硝酸塩との併用を行なったが、相乗効果は限定的であった。

研究成果の概要(英文)：The impact of fluid resuscitation on hemorrhagic shock may depend on the type of fluids used. This study investigated the specific effects of fluid resuscitation with colloids or crystalloids on the hemodynamics and peripheral organ functions, including mitochondrial activities, inflammation, blood rheology, clotting and platelet functions.

Hemorrhagic shock was induced in 48 anesthetized rats. Rats received fluid resuscitation with 6% hydroxyethyl starch 130/0.4 (HES), 5% albumin (ALB), normal saline (NS). Changes investigated included hemodynamics and peripheral organ functions after hemorrhage and fluid resuscitation.

Results: MAP in HES and ALB were significantly higher than NS 45 (P < 0.001). HES and ALB, but not NS significantly attenuated mitochondrial dysfunction and inflammatory responses.

Fluid resuscitation with colloids but not crystalloids preserved hemodynamics and peripheral organ function after hemorrhagic shock.

研究分野：麻酔科学

キーワード：周術期輸液管理

1. 研究開始当初の背景

周術期管理の安全性と質が向上しているにも関わらず、予期しない危機的出血の予後は未だ不良である(麻酔 2009)。出血性ショックによる臓器障害は、出血時の低灌流、低酸素、ATP の涸渇による細胞ネクロシスがその本態と考えられているが、治療後に生じる再灌流傷害も看過できない。すなわち、出血性ショック後の輸液、輸血療法による“再灌流療法”は酸素化の改善と同時に活性酸素種(ROS; reactive oxygen species)を大量発生させ、カルシウム過負荷をもたらす(ROS induced Ca release)、ミトコンドリア電子伝達鎖機能障害、チトクロームCの放出により細胞アポトーシスが誘導される。つまり出血性ショック及びそれに続く治療後の臓器障害の本態は、虚血再灌流傷害である。従って、出血性ショックに対峙する場合には、単純に大量輸液、輸血を行うだけでなく、再灌流傷害を軽減させるという観点が必要である。

2. 研究の目的

一方、出血性ショック時の治療は、速やかな輸液、輸血療法による血管内容量維持が治療の原則である。しかしながら、危機的出血時においては、大量の輸血入手が困難な場合があり、代用血漿剤やアルブミン投与での対応が求められる。

(1) 新規代用血漿剤による出血性ショックに対する臓器保護効果の検討

代用血漿剤として、2013年10月より分子質量130kDaの中分子代用血漿剤ヒドロキシエチルデンプンが使用可能となった。130kDaヒドロキシエチルデンプンは欧米ですでに使用されており、本薬剤を用いたショック治療は、血管内容を効果的に維持するだけでなく、抗炎症作用を示すという報告もあり(Crit Care 2013, Anesthesiology 2013)、次世代の出血性ショックの治療製剤として注目されている。

本研究では、出血性ショックモデルラットに対して、分子質量130kDa代用血漿剤ヒドロキシエチルデンプンを用いた治療を行い、臓器保護効果とその機序について検討する。

(2) 亜硝酸と新規代用血漿剤併用による臓器保護効果の検討

これまでわれわれは、急性心筋梗塞モデルラットや重症敗血症性心機能障害ラットを用いた研究において、亜硝酸塩が心筋虚血再灌流傷害を軽減することを報告した。(Anesthesia and Analgesia 2016, Journal of Anesthesia 2017)。病態は異なるが、虚血再灌流傷害という観点から、出血性ショッ

クおよびその治療による臓器障害を亜硝酸塩が軽減する可能性が示唆される

3. 研究の方法

(1) 出血性ショックに対する130kDヒドロキシエチルデンプンの有用性の検討
 ラット出血性ショックモデルを用いて、出血性ショック後の輸液製剤による血行動態の反応性について比較した。ラット48匹を麻酔後に脱血速度1ml/kg/minで15分間かけて平均動脈圧30mmHgの出血性ショックを導いた。20分間の出血性ショック維持後、蘇生補液として脱血量に対し、等量生理食塩水(以下NS群, n=12)、3倍量生理食塩水(以下3-NS群, n=12)、等量ヒドロキシエチルスターチ(以下HES群, n=12)、等量アルブミン(以下ALB群, n=12)のいずれかを用いて補液を施行し4群に分けた。血行動態への影響、臓器灌流不全の指標である乳酸値などについて血液ガス分析で調べた。

(2) 130kDヒドロキシエチルデンプンによる輸液蘇生が炎症反応、臓器ミトコンドリア機能、血液凝固機能に及ぼす影響についての検討。
 出血、輸液蘇生後にin vitro解析を行い、輸液製剤の違いが、TNF- α 、IL-6、IL-1 β などの炎症性サイトカインに及ぼす影響を比較した。また、心筋および腎臓からミトコンドリアを単離し、酸化リン酸化の指標であるRespiratory Control Ratio(RCR)により蘇生後の臓器機能評価を行った。さらに、血液凝固機能に加え、血液流動性の評価を比較した。

(3) 亜硝酸塩と130kDヒドロキシエチルデンプンの併用による出血性ショック蘇生後の臓器保護効果についての検討。
 130kDヒドロキシエチルデンプンに亜硝酸塩を併用することで、出血性ショックに対し、より効果的な蘇生が行えるかどうか検討した。

4. 研究成果

(1) 130kDヒドロキシエチルデンプンによる輸液蘇生効果。

本研究により、130kDヒドロキシエチルデンプンを用いることでより出血後の血行動態は速やかに改善した(図1)

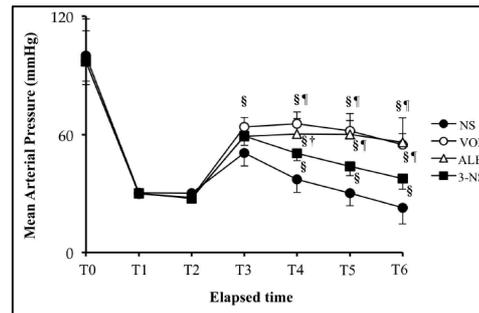


図1. 新規代用血漿剤 (VOL)が血圧へ及ぼす影響

また、130kD ヒドロキシエチルデンプンは、出血性ショックによる乳酸値の上昇やアシドーシス化を軽減した（図2）。

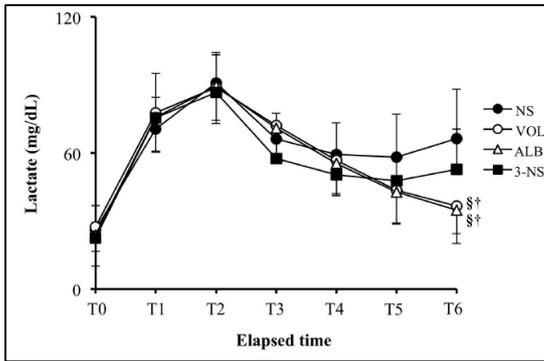


図2. 新規代用血漿剤 (VOL) が乳酸値へ及ぼす影響

(2) 130kD ヒドロキシエチルデンプンによる臓器保護効果

in vitro における解析により、130kD ヒドロキシエチルデンプンによる蘇生は、心臓および腎臓ミトコンドリア機能を保護することが明らかとなった（図3）。従来、高分子 (>200kD) のヒドロキシエチルデンプンには腎障害作用が指摘されてきたが、本研究結果により、130kD 製剤では、直接的腎機能障害作用がないことが示唆された。

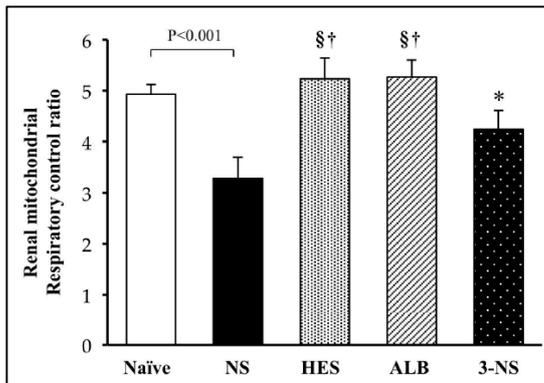


図3. 新規代用血漿剤 (HES) が腎臓ミトコンドリアへ及ぼす影響

さらに、130kD ヒドロキシエチルデンプンにより蘇生を行うことで、出血性ショックに伴う炎症反応が軽減されることが明らかになった（図4）。

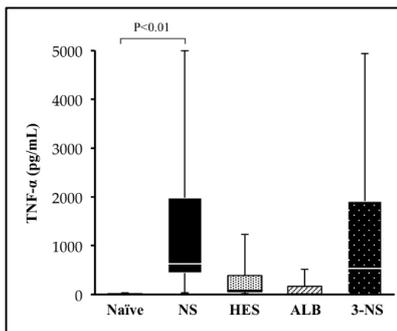


図4. 新規代用血漿剤 (HES) 蘇生は炎症反応を抑制

(3) 130kD ヒドロキシエチルデンプンとアルブミン製剤との比較

130kD ヒドロキシエチルデンプンは、晶質液輸液蘇生と比較して、血行動態維持効果、臓器保護効果、炎症反応を抑制する蘇生ができることが明らかとなった。一方、同時に比較したアルブミン製剤も同等の効果を示した。両者の違いを明らかにするために、血液凝固機能、血液流動性の評価も行なった。その結果、ヒドロキシエチルデンプンとアルブミン製剤は、いずれも血液希釈による凝固機能低下が見られた。両者に差はなかった（図5）

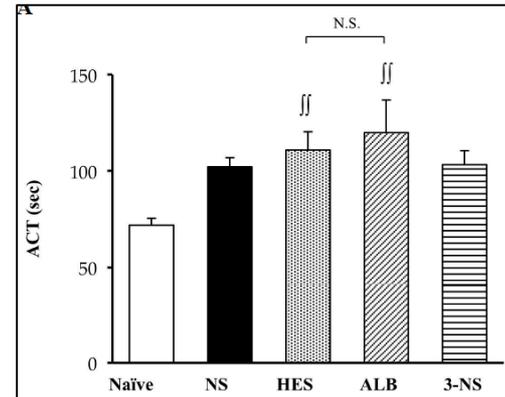


図5. 蘇生輸液製剤による凝固機能への影響

一方、血液流動性の評価では、ヒドロキシエチルデンプンを用いた蘇生を行った血液の流動性は、アルブミンを用いた蘇生時の血液流動性よりも高く、末梢循環維持では、ヒドロキシエチルデンプンの方が有用である可能性が示唆された（図6）。

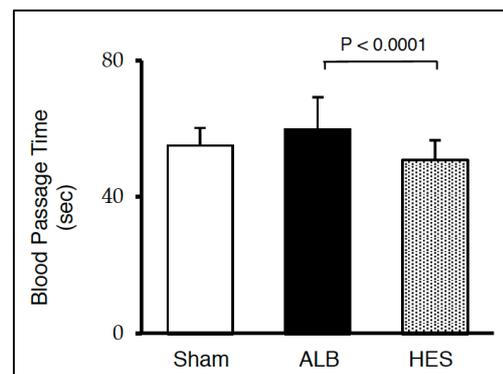


図6. 新規代用血漿剤 (HES) が血液流動性へ及ぼす影響

(4) 亜硝酸塩と130kD ヒドロキシエチルデンプン併用による蘇生輸液効果

臓器保護効果を示す亜硝酸塩 (1mg/kg) を用いて出血性ショック時の臓器効果を評価したが、晶質液を溶媒とした場合には、血行動態維持効果および臓器保護効果に差がなかった。そこで、130kD ヒドロキシエチルデンプンを溶媒として、蘇生効果について検討を行った。

血行動態および臓器保護効果で相加的効果が期待されたが、明らかな改善は認めなかった。炎症反応において、亜硝酸塩を併用した場合に改善傾向があったため、炎症性サイトカイン解析を網羅的に解析中である。また、血管内皮増殖因子（VEGF）は血管透過性に関与し、毛細血管からの輸液製剤漏出の程度に深く関わっていることから、現在解析を進めている。

（研究成果のまとめ）

ラット急性出血性ショックに対する新規代用血漿剤ヒドロキシエチルデンプンによる蘇生補液は、晶質液による蘇生と比べて血行動態と末梢臓器機能を保持した。膠質液は血液希釈を伴い凝固能に影響を及ぼしたが、ヒドロキシエチルデンプンとアルブミン製剤に差はなかった。亜硝酸塩との併用は、臓器保護効果には差がなかったが、炎症反応および血管透過性への関与が示唆され、今後とも研究を継続する予定である。

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3件）

- ① Miyashita R, Hirata N, Kawaguchi R, Yoshikawa Y, Yamakage M. Different effects of colloid and crystalloid solutions for fluid resuscitation on hemodynamics and peripheral organ function in acute hemorrhagic shock rats. 札幌医学雑誌 2017; 85: 133-145 (査読あり)
- ② Kawaguchi R, Hirata N, Tokinaga Y, Hayashi S, Inoue S, Watanabe N, Yamakage M. Nitrite administration improves sepsis-induced myocardial and mitochondrial dysfunction by modulating stress signal responses. J Anesth 2017; 31: 885-894 (査読あり)
- ③ Maruyama D, Hirata N, Tokinaga Y, Kawaguchi R, Yamakage M. Nitrite reduces ischemia-induced ventricular arrhythmias by attenuating connexin 43 dephosphorylation in rats. Anesth Analg 2016; 122: 410-7 (査読あり)

〔学会発表〕（計2件）

- ① Miyashita R, Hirata N, Kawaguchi R, Yoshikawa Y, Yamakage M. Different effects of colloids and crystalloid solutions for fluid resuscitation on renal function and blood coagulation in acute hemorrhagic shock rats. American Society of Anesthesiologists Annual Meeting.

2015. Oct. 24-28. San Diego, USA.

- ② Kawaguchi R, Hirata N, Yamakage M. Nitrite ameliorates septic myocardial dysfunction via mitochondrial protection. 2017. Oct. 21-25. Boston, USA.

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平田 直之 (Hirata Naoyuki)
札幌医科大学・医学部・講師
研究者番号：00438045

(2) 連携研究者

宮下 龍 (Miyashita Ryu)
札幌医科大学・医学部・研究員
研究者番号：50560877

(3) 研究協力者

川口 亮一 (Kawaguchi Ryoichi)
札幌医科大学・医学部・研究員
研究者番号：30609003