

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462371

研究課題名(和文)術後回復を促進し合併症軽減を可能にする新しい周術期抗酸化ストレス治療戦略の確立

研究課題名(英文) New therapeutic strategy for perioperative oxidative stress and postoperative complication

研究代表者

土屋 正彦 (TSUCHIYA, MASAHIKO)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：80253350

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：手術の安全性は向上してきたが、一方で回復が不十分で社会復帰できないという患者も増えている。手術からの十分な回復を可能にする治療戦略が求められている。その治療戦略の確立に向けて、基礎・臨床の両面から研究を行なった。臨床面では、手術患者は大きな酸化ストレスを受ける事を明らかにした。さらに、手術患者の血液中総過酸化脂質量が術後合併症発症の予測因子になる可能性を明らかにした。基礎研究では、局所麻酔薬は強い抗酸化作用を持つ事を明らかにし、局所麻酔薬を用いる事により手術に伴う酸化ストレスを制御できる可能性を示した。さらに、局所麻酔薬に低分子デキストランを添加すると、その作用を安全に増強できる事も発見した。

研究成果の概要(英文)：Recently, the safety of surgery has greatly improved. However, poor postoperative recovery sometimes developed in some patients. Thus, new therapeutic strategy for improved postoperative recovery is required. We have studied this issue from the standpoint of both basic and clinical aspects. We have found that surgical patient received great oxidative stress during surgery. Preoperative blood hydroperoxides level in surgical patients could be a good predictor of their risk of postoperative complication. We have found that local anesthetics have strong antioxidant activity, and could control surgical oxidative stress in clinical use. We have also found that the addition of low molecular weight dextran to local anesthetics safely improved its potency.

研究分野：麻酔・集中治療医学

キーワード：活性酸素 酸化ストレス 手術侵襲 術後合併症 過酸化脂質 局所麻酔薬 神経ブロック 低分子デキストラン

1. 研究開始当初の背景

(1) 好気性生物は、酸素の持つ高いエネルギーを活用する事により、大型化・多様化を伴った進化を加速して、多大な繁栄を享受して来た。しかし、一方で酸素の持つ高い反応性から生ずる中間代謝産物、つまり活性酸素により、様々な障害を受ける危険にもさらされる事になった。人類もその例外ではない。我々においても、酸素を活用する上で生ずる活性酸素による酸化ストレスは、癌ばかりでなく、老化、糖尿病、狭心症や動脈硬化などの循環器系疾患、肺気腫などの呼吸器疾患、さらには敗血症などの重症感染症、創傷治癒などあらゆる疾患の発病あるいは進行に大きく影響している^[1]。

(2) 手術を受ける事で、患者は術後に一時的に病的状態になる。我々は、それはあたかも当然の事と捉え、手術侵襲と呼んでいる。しかし、手術侵襲の本体は未だに十分に解明できていない。これまでの研究から、手術により酸化ストレスが増大すると共に酸化ストレス防御機構の破綻が生じ、その結果生ずる異常な酸化ストレスが手術侵襲の一因との仮説が有力である^[2]。また、それに加えて、手術に伴う痛みも侵襲制御の成否に大きく影響していると考えられている。

(3) 周術期管理に用いられている全身麻酔薬の一部や局所麻酔薬には、一定の抗酸化力の保持が示唆されており、それらを効率的に用いる事により、酸化ストレスに関わる手術侵襲を軽減できる可能性がある^[3]。

2. 研究の目的

(1) これまでに蓄積した実験動物からのデータを元に、ヒトにおいても、安定してかつ正確に酸化ストレス病態を解析できる測定方法を確立する。

(2) 手術患者の周術期の酸化ストレス病態の変化を解析し、手術侵襲と酸化ストレスの関係を明らかにする。

(3) 手術侵襲の一角を担う疼痛について、その軽減方法を研究し、疼痛管理の面からの手術侵襲の制御手法を確立する。特に神経ブロックは、疼痛軽減効果が高いため期待も大きいですが、その作用には限界がある。大量に用いる為に局所麻酔薬中毒の危険が常に付きまとい、その安全性に不安もある。酸化ストレスの観点から局所麻酔薬の作用を解明し、その上で、より安全に作用時間とその効果を伸ばす方法を研究する。

3. 研究の方法

(1) 呈色反応を利用した新しい血液中の総過酸化脂質量測定法を用いて、臨床患者でも安定して測定できるかを検討する。

(2) 最も侵襲の強い手術の一つと言われている食道癌手術患者を対象に、術前から術後までの周術期での、酸化ストレス病態を、血液中の総過酸化脂質量濃度、血漿鉄還元力、乳酸値などを測定し解析する。

(3) 食道癌手術患者を対象に、麻酔管理により、周術期酸化ストレス病態がどのように変化するか、さらには一定の改善をもたらす事ができるかを検討する。

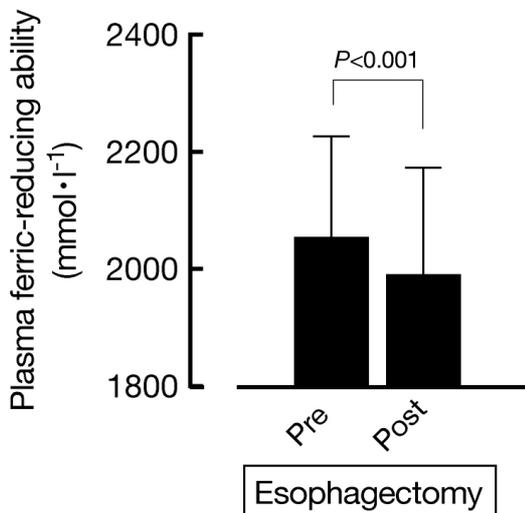
(4) 局所麻酔薬の薬理作用を酸化ストレス制御の観点から解析し、より効果的で安全な使用法を確立する。

(5) 手術患者を対象に、局所麻酔薬の作用を安全に増強する方法を検討する。局所麻酔薬に低分子デキストランを添加して神経ブロックを行い、局所麻酔薬の薬物動態やその作用がどのように変わるかを明らかにする。

4. 研究成果

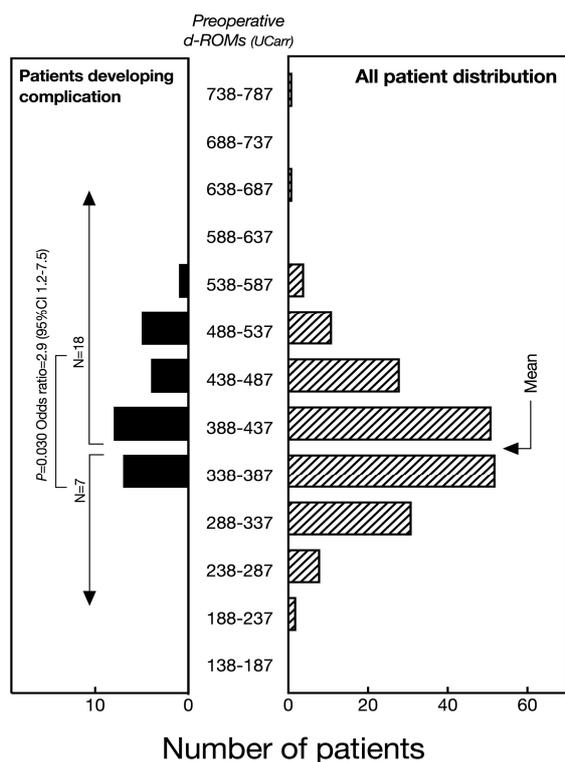
(1) 酸化ストレスを誘発する活性酸素はごく短時間で体内から除去される。そのため、臨床患者でその消長を測定することは簡単ではない。それが、臨床条件で酸化ストレス研究が進まない原因の一つである。そこで我々は、血液中の総過酸化脂質量に注目した。過酸化脂質の変動の解析では、どの活性酸素が発生したか等の個々の反応は明らかにできないが、固体全体としての酸化ストレスの大きさを評価する事ができる。さらに、過酸化脂質は比較的安定しているのも、挟雑物質の多い臨床条件でも安定して測定できる利点もある。我々は、過酸化脂質ラジカルと反応して呈色するN,Nジエチルパラフェニレンジアミン(DEPPD)の反応を利用し、過酸化脂質由来のヒドロペルオキシドの量を定量化する方法を研究した。臨床患者を対象とした測定結果は非常に安定しており、この測定方法は、臨床患者の血液中の総過酸化脂質量解析に最適である事が明らかとなった。

(2) 食道癌手術患者において、手術前後で血漿の鉄還元力を測定した(図1)。その結果、手術後、その還元力が有意に低下することが明らかとなった。鉄還元力は、血液中の抗酸化力の総体と考えられるので、手術中に大きな酸化ストレスが加わった結果、抗酸化力が低下したと解釈された。手術が患者に大きな酸化ストレスを与えている事を証明した。



【図1】食道癌患者での手術前(pre)と手術後(post)の血漿鉄還元力(plasma ferric-reducing ability)の比較。術後に血漿鉄還元力は有意に低下した。

(3) 新たに確立した血液中総過酸化脂質量測定法を用いて、食道癌手術患者を対象とした前向き研究を行った(図2)。



【図2】食道癌手術患者の手術前の血液中総過酸化脂質量(preoperative d-ROMs)によるヒストグラム。縦軸が

手術前の血液中総過酸化脂質量(単位: UCarr)で13グループに分けたもの、横軸がそれぞれのグループに対する患者数(人)。右のグラフが患者全体(all patient)の度数分布で、左のグラフが術後合併症を発生した患者のみ(patients developing complication)の度数分布。合併症発生患者を、血液中総過酸化脂質量の平均値(mean)の387 UCarrで2群に分けると、387 UCarr以上の患者の合併症発生数は387 UCarr以下の患者に比べると有意に多く、そのオッズ比は2.9であった。

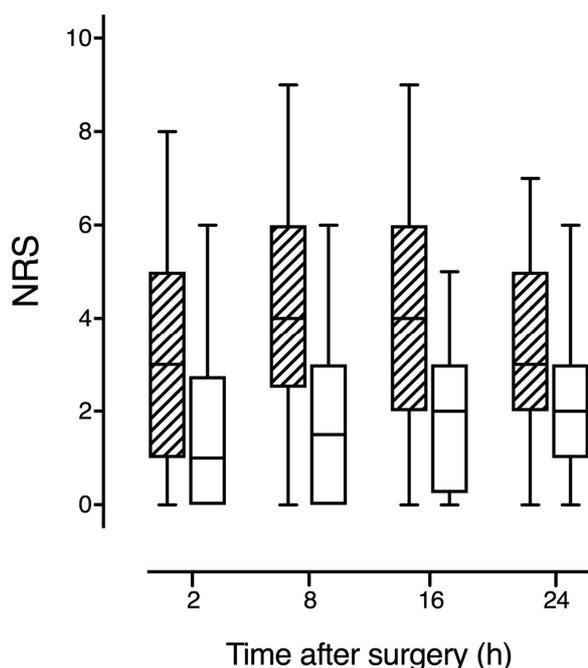
その結果、手術前の総過酸化脂質量の高い患者ほど、手術後の合併症発生頻度が高い事が明らかとなった(オッズ比: 2.9)。手術により患者は大きな酸化ストレスを受けると言う図1の研究成果と、これまでの我々の基礎的研究成果を合わせて考えると、血液中の総過酸化脂質量が高い患者ほど、手術により大きな酸化ストレスを受け、術後合併症発症のリスクが高まると解釈される。この結果は、手術が予定される患者の血液中総過酸化脂質量を予め測定する事により、その患者の術後合併症発症のリスクを予測できる可能性を示している。もし、それが可能であれば、合併症発生が予測されたハイリスク患者では、術後慎重な治療を行い合併症予防を測ることが可能になるだけでなく、場合によっては手術以外の治療法の選択も考慮できる。医療費と人的資源の有効な活用にも貢献できる。しかし、術前血液中総過酸化脂質量の術後合併症発症予測因子としての信頼性についての検討はまだ十分でなく、今後さらに症例を集めて解析を進めたい

(3) 手術患者での解析により、全身麻酔法の違いにより、受ける酸化ストレスが異なり、その結果、術後合併症の発生頻度が異なる可能性が示された。しかし、まだ症例数が少なく、十分な結論を出す事ができなかった。この課題についても、今後、症例数をさらに増やして検討する計画である。

(4) 局所麻酔薬は、ミトコンドリアの呼吸を障害するが、一方で好中球の活性化を抑制し、ミトコンドリアの膜電位の変化を抑制し細胞膜を安定化する。さらにプロテインキナーゼCの活性化も強力に抑制する。ペルオキシラジカルを補足消去し、強力な抗酸化剤としても機能する。これらの作用は、吸入麻酔薬とは全く相反する作用であり、局所麻酔薬を用いた神経ブロックが手術侵襲を軽減するメカニズムの一つと考えられた。以上に関して、本研究期間に追加実験を行い、さらに詳細に解析を進めた。その成果は、以前の研究成果を合わせ、総説として発表した。

(5) 大腸切除術の患者を対象に、腹壁の神経ブロックを、通常の局所麻酔薬で行なった場合と、局所麻酔薬濃度は同濃度であるが低分子デキストランを添加した局所麻酔薬で行った場合で、局所麻

酔薬の血液中濃度の変化と、術後鎮痛への作用を比較検討した(図3)。その結果、低分子デキストラン添加局所麻酔薬で神経ブロックを行った方が、局所麻酔薬の血中濃度上昇が抑制されると共に、より良好な術後鎮痛が得られた。局所麻酔薬に低分子デキストランを添加すると、局所麻酔薬の作用が強化されるばかりか、局所麻酔薬の血中濃度の上昇が抑制されるため、全身性の局所麻酔薬中毒の危険も回避できる。今後は、この低分子デキストラン添加局所麻酔薬を用いた神経ブロックにより、酸化ストレスをも軽減し手術侵襲を制御できるかを検討する計画である。



【図3】大腸切除術術後の疼痛変化を示したボックスプロット。斜線のボックスが通常の局所麻酔薬のみのブロック群で、白抜きのボックスが低分子デキストランを添加した局所麻酔薬でのブロック群。局所麻酔薬の濃度はどちらも同じで、0.2%レボピバカインを用いた。神経ブロックは、手術開始前に両側の腹横筋膜面ブロックと腹直筋鞘ブロックを行なった。横軸が術後の時間経過 (time after surgery)、縦軸が疼痛レベル(NRS)。値が大きいほど疼痛が強い事を示す。手術直後から24時間まで、いずれの時間帯でも、低分子デキストラン添加局所麻酔薬でブロックをした方が痛みが少ない。

(6) iPS細胞を用いた研究で、フラボノイド配糖体の一種が酸化ストレスを軽減すると共に神経細胞への分化を促進する事が示された。外傷や手術からの回復過程での再生治療に有効である可能性がある。今後、さらに研究を進め、手術侵襲軽減への有効性を検討する。

(7)核酸の酸化的代謝物である8OH-dGの臨床検体での測定の確立について、引き続き研究を行う

た。この研究中の測定法は、挟雑物質の多い臨床検体を用いても、簡便かつ短期間で行うことが可能で、再現性も高い事が判明した。今後は、この方法により、実際の手術患者等で、その酸化ストレスを正確に評価できるかについて検討する計画である。

<引用文献>

[1] 土屋正彦、浅田章、井上正康：生体にとっての活性酸素の意義。ICUとCCU 27: 649-660, 2003.

[2] Tsuchiya M, Sato EF, Inoue M and Asada A: Open abdominal surgery increases intraoperative oxidative stress: can it be prevented? *Anesthesia & Analgesia* 107: 1946-52 2008.

[3] Kang MY, Tsuchiya M, Packer L and Manabe M: In vitro study on antioxidant potential of various drugs used in the perioperative period. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 42: 4-12 1998.

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11件)

(1) Large volume of low concentration of local anesthetic dissolved with low-molecular weight dextran as adjuvant for ultrasound-guided posterior quadratus lumborum block (QLB2) greatly enhances and extends analgesic effects. Tsuchiya M, Mizutani K, Ueda W. *Minerva Anesthesiol.* 2018 Mar 27. doi: 10.23736/S0375-9393.18.12653-8. (査読有り)

(2) Gp91phox NADPH oxidase modulates litter size by regulating mucin1 in the uterus of mice. Hiramoto K, Yamate Y, Sato EF. *Syst Biol Reprod Med.* 2017 Apr;63(2):130-139. doi: 10.1080/19396368.2017.1282063. Epub 2017 Feb 17. (査読有り)

(3) The Preventive Effect of Coffee Compounds on Dermatitis and Epidermal Pigmentation after Ultraviolet Irradiation in Mice. Yamate Y, Hiramoto K, Sato EF. *Skin Pharmacol Physiol.* 2017;30(1):24-35. doi: 10.1159/000455237. Epub 2017 Feb 3. (査読有り)

(4) Levobupivacaine-dextran mixture for transversus abdominis plane block and rectus

sheath block in patients undergoing laparoscopic colectomy: a randomised controlled trial. Hamada T, Tsuchiya M, Mizutani K, Takahashi R, Muguruma K, Maeda K, Ueda W, Nishikawa K. *Anaesthesia*. 2016 Apr;71(4):411-6. doi: 10.1111/anae.13408. Epub 2016 Feb 26. (査読有り)

(5) The Effects of Ultraviolet Eye Irradiation on Dextran Sodium Sulfate-Induced Ulcerative Colitis in Mice. Hiramoto K, Yamate Y, Sato EF. *Photochem Photobiol*. 2016 Sep;92(5):728-34. doi: 10.1111/php.12620. Epub 2016 Aug 17. (査読有り)

(6) Minimal systems analysis of mitochondria-dependent apoptosis induced by cisplatin. Hong JY, Hara K, Kim JW, Sato EF, Shim EB, Cho KH. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2016 Jul;20(4):367-78. doi: 10.4196/kjpp.2016.20.4.367. Epub 2016 Jun 23. (査読有り)

(7) In-line positioning of ultrasound images using wireless remote display system with tablet computer facilitates ultrasound-guided radial artery catheterization. Tsuchiya M, Mizutani K, Funai Y, Nakamoto T. *J Clin Monit Comput*. 2016 Feb;30(1):101-6. doi: 10.1007/s10877-015-9692-9. Epub 2015 Apr 14. (査読有り)

(8) Neuronal differentiation of human iPS cells induced by baicalin via regulation of bHLH gene expression. Morita A, Soga K, Nakayama H, Ishida T, Kawanishi S, Sato EF. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015 Sep 25;465(3):458-63. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.08.039. Epub 2015 Aug 13. (査読有り)

(9) Illustration of O₂ and CO₂ recirculation to interpret respiratory and circulatory physiology. Mizutani K, Suwa K, Tsuchiya M. *J Clin Anesth*. 2015 Jun;27(4):363-5. doi: 10.1016/j.jclinane.2015.03.014. Epub 2015 Mar 22. (査読有り)

(10) UVA irradiation of the eye modulates the contact hypersensitivity of the skin and intestines by affecting mast cells in mice. Yamate Y, Hiramoto K, Kasahara E, Sato EF. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2015 May;31(3):129-40. doi: 10.1111/phpp.12157. Epub 2015 Jan 8. (査読有り)

(11) Role of adrenocorticotrophic hormone in the modulation of pollinosis induced by pollen antigens. Hashimoto M, Sato EF, Hiramoto K, Kasahara E, Inoue M, Kitagawa S. *Neuroimmunomodulation*. 2015;22(4):256-62. doi: 10.1159/000368309. Epub 2014 Dec 10. (査読有り)

〔学会発表〕(計5件)

(1) 土屋正彦. 明日からの麻酔に役立つ活性酸素の知識. 麻酔科学会関西支部症例検討会(教育講演). 大阪. 2017.

(2) 星知秀, 矢部充英, 桑田繁宗, 森隆, 土屋正彦, 西川精宣. 覚醒下開頭術中に脳内出血を来した1症例. 日本臨床麻酔学会第37回大会. 東京. 2017.

(3) 土屋正彦. 麻酔科医と泌尿器科医が共に幸せになるために 特別提言(シンポジウム). 第30回日本泌尿器内視鏡学会総会. 大阪. 2016.

(4) 土屋正彦. なぜ全身麻酔は神経ブロックを必要とするのか?簡単にブロックができるようなコツとは?今まで、あまり触られていなかった神経ブロックの話題を満載(招待講演). 日本麻酔科学会第62回関西支部学術集会. 大阪. 2016.

(5) 小谷百合子, 土屋正彦, 千葉朋子, 沼本阿也加, 西川精宣. 末梢神経ブロックにて麻酔管理を行ったオリーブ橋小脳萎縮症の1症例. 日本臨床麻酔学会第34回大会. 大阪. 2014

〔図書〕(計1件)

(1) Regional Anesthesia: Advantages of Combined Use with General Anesthesia and Useful Tips for Improving Nerve Block Technique with Ultrasound Technology. in *Current topics in anesthesiology*, Tsuchiya M. InTech, pp25-50 2017

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土屋正彦 (TSUCHIYA Masahiko)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号: 80253350

(2) 研究分担者

佐藤英介 (SATO Eisuke)
鈴鹿医療科学大学・薬学部・教授
研究者番号：60211942