

200908011A

厚生労働科学研究費補助金

政策創薬総合研究事業

人工赤血球のICU使用を目的とした最適化およびME技術の改良

(研究課題番号：H20-政策創薬-一般-005)

平成21年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 武田 純三

(慶應義塾大学 医学部 麻酔科)

平成22(2010)年5月

別添 1

厚生労働科学研究費補助金

政策創薬総合研究事業

人工赤血球の I C U 使用を目的とした最適化およびME技術の改良

(研究課題番号：H20-政策創薬-一般-005)

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 武田 純三

(慶應義塾大学 医学部 麻酔科)

平成 22 (2010) 年 5 月

別添 2

目次

I. 総括研究報告書	1～5
武田 純三（慶應義塾大学医学部 教授）	
II. 分担研究報告書	
1. 武田 純三（慶應義塾大学医学部 教授）	6～12
2. 泉 陽太郎（慶應義塾大学医学部 助教）	13～16
3. 小松 晃之（早稲田大学 理工研 准教授）	17～22
4. 富田 裕（慶應義塾大学医学部 助教）	23～28
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	29～31
IV. 研究成果の刊行物・別冊	32～

人工赤血球の ICU 使用を目的とした最適化および ME 技術の改良

主任研究者 武田 純三 慶應義塾大学医学部 麻酔科 教授

研究要旨

本研究では複数の専門科が関与しながらも原疾患に関らず様々な合併症を有する症例が集まる集中治療室(Intensive Care Unit: ICU)において、人工赤血球、Hb 小胞体の臨床応用を想定した際に不可欠と考えられる基礎的実験を継続した。期限切れ赤血球より精製した高純度・高濃度ヒトヘモグロビン (Hb) を、リン脂質小胞体に内包した Hb 小胞体 (平均粒径 250nm) の基本物性と製造法に関する基礎技術は確立されつつある。さらに、生体に投与した際の安全性に関する研究が厚生労働科学研究として多角的に進行している。製造技術の移転が完了し、GMP 製造、非臨床・臨床試験の準備も進行中である。本研究では ICU 管理と極めて密接な関係があり、人工赤血球投与の想定に際して必ず問題となると考えられる合併症や管理方法から複数の実験モデルを提案、最適化し検討を行った。今回は人工呼吸器管理、SIRS、モニターとして ICU 管理に不可欠であるパルスオキシメータとの相互干渉、出血性ショック時における虚血再還流障害、そして脳微小循環動態解析と人工赤血球使用への関与について検討した。それぞれの検討では主として Hb 小胞体の使用を想定し、個々の課題の側面を反映した動物モデルを用いた検討を行った。

①ICU 管理を要する病態において人工呼吸器管理はほぼ必須であるといっても過言ではない。しかし、近年人工呼吸器管理に伴い人工換気それ自体が肺障害を惹起する可能性が指摘されている (ventilator induced lung injury: VILI)。本研究ではウサギにおける VILI モデルに人工赤血球、Hb 小胞体の投与を行いその肺機能への影響を検討した。生理食塩水分散液では循環動態を維持できない交換率 60%を 5%アルブミン分散液を使用することにより実験し、人工赤血球使用量を増加させ、5%アルブミン分散液を中心に検討を行った。検討した交換率では Hb 小胞体投与の VILI への悪影響は明らかではなく、さらに 5%アルブミン分散液に比べ VILI を軽減する可能性が示唆された。

②原疾患によらず炎症に関与するカスケードが増強した状態として Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)がある。SIRS は複数の原因による複合的な誘因により全身的に炎症反応が亢進した状態を指す。原因に関らず SIRS には共通の臨床所見と病態があり、対処方法もある程度共通している可能性がある。人工赤血球の臨床応用が想定される出血性ショックは SIRS を惹起する代表的な病因の一つである。本研究では主にマウスを用い、SIRS 状態の簡便な評価方法として腸間膜リンパ節の採取、および培養方法を検討した。また腸管を損傷し、限局性の腹膜炎惹起するモデルを用いて SIRS 状態を誘発、評価するモデルを検討した。このモデルではマウス腸間膜リンパ節の培養の陽性所見が得られ、実際に敗血症も誘発している可能性が示唆されたが、マウスの全身状態が安定しなかった。またもう一つのアプローチとして腸管吻合不全モデルにおける肺組織所見の評価を試みた。腸間膜リンパ節に比べ肺の組織学的変化はより顕著であり、評価方法として有用である可能性が示唆された。今後これらのモデルに人工赤血球投与

を行うことにより、SIRS 状態における投与を想定したモデルが構築可能と考えられた。

③血代替物としての Hb 小胞体の使用が多いと想定される集中治療室(ICU)では、各種検査や医療機器により患者をモニターしながら治療が行われる。Hb 小胞体投与時でもこれらの検査やモニターが適切に行われる必要がある。特に、経皮的に動脈血酸素飽和度をモニターするパルスオキシメータは麻酔や呼吸管理の重要な指標となるため、Hb 小胞体による干渉作用を検討してきた。ヘモグロビン小胞体を投与後、パルスオキシメータで血中ヘモグロビン酸素飽和度を測定すると、実際よりも低い値が観測される。これはヘモグロビン小胞体が光散乱特性を持つことに起因する。我々はプログラムの部分変更や多波長レーザーの利用により、これを改善してきたが、測定項目によってはその干渉作用を完全に消去できていない。本研究では積分球を用いる方法により、ヘモグロビン小胞体粒子の光散乱が分光測定に及ぼす影響を低減できることを見出した。積分球式反射型パルスオキシメータの利用は、今後 精度高い測定を可能にする有効な手段になると期待される。また、出血性ショックの蘇生に際しては、虚血再灌流障害を抑制する必要があるが、酸素を結合した Hb 小胞体の投与は、かえって再灌流障害を増大させる可能性もある。本研究では先ず蘇生液として晶質液を投与し、経過を見ながら Hb 小胞体を投与する蘇生法が障害を低減させるために有効であることを示唆する結果を得た。また、CO を結合した Hb 小胞体の投与は、初期段階でも再灌流障害を抑え、徐々に酸素運搬機能を回復させることがわかった。

④人工赤血球(Hb 小胞体)1) はヒト赤血球よりも 1/30 の小粒径で粘度も低く、既に出血性ショック時における蘇生液として検証され、赤血球と同等の酸素運搬機能を有することが示唆されている。血液型を問わず、室温で備蓄可能なことから、Hb 小胞体を緊急時に投与することにより出血性ショック状態の患者を蘇生させる可能性が期待される。しかし、出血性ショック時の Hb 小胞体投与による脳微小循環に与える影響はいまだ不明な点が多い。脳梗塞時、微小循環の維持は患者の予後を左右する。中大脳動脈(middle cerebral artery; MCA)梗塞時、前大脳動脈(anterior cerebral artery; ACA)から血液が供給されると思われるが、その動態については不明な点が多い。本研究では、MCA と ACA 間に形成される細動脈吻合(arteriolo-arteriolar anastomose; AAA)の挙動と血流動態、血管新生の様子を検討することによって微小循環動態を明らかにすることを目的とした。また、その際の人工赤血球の投与による影響を検討した。さらに、これまでラットにおいて確立してきた高速度カメラ共焦点レーザー顕微鏡および KEIO-IS2 を用いた赤血球速度測定法をマウスにも応用するため、ラットと同様にマウスの赤血球速度を測定して、種差があるか否かを検討した。AAA が、正常状態時および脳虚血時の側副血行路そして再血管構築の進展における、局所の血行動態のホメオスタシスに重要な役割を果たしていると考えられた(下記業績<原著>1にて報告)。このモデルを用いることにより、MCAO 後に人工赤血球を投与した場合の影響について、より詳細な情報が得られると考えられ、さらなる検討が必要である。また、当研究室において、ラットを用いて確立した毛細血管内赤血球速度計測法はマウスにも応用できることがわかった。さらに、従来から知られているような脳代謝速度などの生理的パラメータの差異にもかかわらず毛細血管内赤血球速度が同程度であったことから、赤血球速度は酸素交換に最適な物理的要因によって調節されていることが推察された。

分担研究者

泉 陽太郎 慶應義塾大学医学部 助教

A. 研究目的

厚生労働科学研究として推進されている人工赤血球：ヘモグロビン（Hb）小胞体は、感染や血液型不適合の心配がなく、長期間保存が可能で、十分な安全性と機能が実証されつつある。我々が現在開発を展開している人工赤血球は長期保存が容易であり、いつでもどこでも血液型に関係なく、必要量を安全に供給できることを第一の目標としている。このような人工赤血球の開発は今後の医療に高い貢献度を示すと考えられる。この有力な候補の一つであるリン脂質小胞体(リポソーム)に精製したヒトヘモグロビンを内包した人工赤血球、Hb小胞体の開発を我々は現在展開している。現在物性規格上の処方決定、製造技術・工程の確立とともに、臨床応用に向けて必要となる安全性評価指針および大量製造に関する検討が進行中である。人工赤血球の実際の臨床応用を考えた場合には、手術室における術中の使用とともに集中治療室(Intensive Care Unit: ICU)という特殊な設定における使用が多く想定される。ICUにおいては様々な合併症を併発した状態においての使用が必然的に多くなる。本研究ではICU管理において遭遇する頻度の高い合併症の中から、人工呼吸器管理、出血性ショックおよびSIRS、人工赤血球投与の脳微小循環や脳梗塞への影響を想定し、それぞれ動物モデルの開発と検討を行った。更にICUでは様々な機器使用下における人工赤血球投与が想定される。特に動脈血中の酸素飽和度測定は重要である。現在パルスオキシメータを使い簡単に、継続的にモニタリングが可能であるが、人工赤血球が血液に混在している場合の測定に関しては十分な知見が得られていないため検討した。

B. 研究方法

A 本研究ではウサギのVILIモデルに人工赤血球Hb小胞体(HbV)を投与し、肺障害の程度に影響を与えるか否かを検討した。ICU管理症例においては循環血液量維持のため膠質を投与する可能性

が高く、また交換率を増大させ循環動態を保つためには膠質添加が不可欠であるため、膠質液として5%アルブミン溶液を分散液として検討した。実験には雄、日本白色家兔(2.0~2.5 kg)を用いた。全身麻酔下に気管切開を行い、高一回換気量(30 ml/kg)での人工換気を約4時間行った。循環血液量の約60%を交換して実験を行った。試料としては5%アルブミン溶液に分散したHbVと各分散液を比較検討した。

B Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)のモデル作成についてマウスを用い、腸管に創を作成し限局性の腹膜炎を作成するモデルを検討した。また腸管縫合不全のモデルについても検討した。その際に腸間膜リンパ節とともに肺の所見の評価を試みた。

C 臨床現場においてはヘモグロビンの可視吸収スペクトルをもとに、血液ガス測定装置、パルスオキシメータ、血球数測定装置などで、Hb濃度、met化率、HbCO濃度、酸素飽和度などを定量的に測定している。Hb小胞体が血中に存在すると、二波長パルスオキシメータ(日本光電製)では酸素飽和度が実際よりも低く測定されることが明らかにされた。この対処法としては、二波長を四波長とし、プログラム変更することで対処できる(須崎ほか、多波長パルス分光法を用いたHb小胞体用パルスオキシメータに関する研究. 人工血液, 16, 198-204 (2008))。また、最近日本で臨床認可された多波長(七波長)パルスオキシメータ(マシモ社製)を用いると、Hb小胞体を投与した後も酸素飽和度とmetHbレベルが精度高く測定できることを家兔による実験で明らかにした。しかし、HbCOレベルの測定には誤差があり、光散乱の影響をさらに排除することが課題として残った。

近年、患者への侵襲を抑えるため非接触型の積分球式反射型パルスオキシメータが試験的に開発されている。この装置はHb小胞体による光散乱

の影響を低減させるためには有効であると思われる。そこで本研究では、まず Hb 小胞体の紫外可視吸収スペクトルにおける光散乱の影響を明らかにするため、積分球を用いたスペクトル測定を行い、分光学的に詳細な検討を行った。

出血性ショックからの蘇生は、全身的な虚血再灌流を伴う。虚血状態では細胞内 ATP が代謝されヒポキサンチンとなり、これが組織内に高濃度で蓄積する。また、マクロファージが活性化されて炎症性サイトカインを産生し、これに応答して好中球などが遊走される。各種接着因子も誘導され、好中球は血管内皮細胞に接着、血管外組織にまで浸潤する。このような状態で再灌流により酸素が供給されると、再灌流傷害を助長する可能性がある。通常の医療処置では、先ず生理食塩水やリンゲル液などの晶質液を投与し、その後コロイドの投与や輸血へと移行する。また、外傷部位の止血が施される前に血圧を正常値に戻すと出血が促進され、却って死亡率を増大させることがあるので、血圧を低く保つ Hypotonic resuscitation が行われる。つまり、人工赤血球(酸素運搬体)を用いる出血性ショックからの蘇生については、単なる酸素供給の観点のみならず、後続する障害についても充分考慮した対応が求められる。内因性の CO が情報伝達分子として極めて重要な役割を果たすことも明らかにされているが、CO の抗炎症作用も興味深い。実際に CO を結合した Hb 小胞体(CO-HbV)を出血性ショック状態のラットに投与すると、蘇生 6 時間後に細胞保護効果が得られることを見出している。そこで本研究では、同一実験モデルを用い、酸素輸液のみならず晶質液を投与し、6 時間後の肝機能パラメータを評価した。

D 脳梗塞時、微小循環の維持は患者の予後を左右する。中大脳動脈(middle cerebral artery; MCA)梗塞時、前大脳動脈(anterior cerebral artery; ACA)から血液が供給されると思われるが、その動態については不明な点が多い。本研究では、MCA と ACA 間に形成される細動脈吻合(arteriolo-arteriolar anastomose; AAA)の挙動と血流動態、血管新生の様子を検討することによ

って微小循環動態を明らかにすることを目的とした。また、その際の人工赤血球の投与による影響を検討した。さらに、これまでラットにおいて確立してきた高速度カメラ共焦点レーザー顕微鏡および KEIO-IS2 を用いた赤血球速度測定法をマウスにも応用するため、ラットと同様にマウスの赤血球速度を測定して、種差があるか否かを検討した。

C. 研究結果・考察

A 血液ガスデータおよび体血圧は実験中ほぼ安定していた。動脈血酸素分圧は人工呼吸開始後 5% アルブミン溶液群では時間経過とともに低下がみられた。これに対して 5% アルブミン溶液分散 HbV 群ではほぼ一定に保たれた。二酸化炭素分圧は 5% アルブミン溶液群において一過性に低下が見られた。切除肺においては両群で肺水腫が見られたが HbV 投与群では軽減されている可能性があった。さらなる組織学的検討を要する。5% アルブミン溶液分散においては Hb 小胞体の投与が VILI を軽減する可能性が示唆された。

B 本実験では、動物における SIRS モデル作成を継続した。腸間膜リンパ節の培養では盲腸結紮後穿孔モデルにて陽性結果が得られたが、本モデルでは全身状態の悪化が顕著であった。これに対し腸管縫合不全を模したモデルはより安定しており、肺に顕著な傷害が見られ、これを病理組織学的あるいは分子生物学的に評価することにより、SIRS の評価モデルとなり得る可能性が示唆された。本モデルにより SIRS 状態における人工赤血球投与の影響に関する予備的知見が得られる可能性が示唆された。

C 今回の実験は、キュベットを用いた通常の分光測定における検討であったが、光散乱の影響は、①特に短波長域で顕著であること、②積分球の利用によりこれを低減できることが明確となった。パルスオキシメータは、拍動のある末梢血管、つまり細動脈での酸素飽和度を計測する装置であり、透過性の高い近赤外領域のレーザーを利用している。多波長計測にはより短波長のレーザーが必要

で、その場合には積分球式反射型パルスオキシメータの活用が有効であると期待される。

出血ショック蘇生液としてHb小胞体を投与する際は、虚血再灌流障害を低減させることを考慮する必要がある。酸素を結合したHb小胞体を使用する場合には、先ず晶質液を投与してから経過を見ながら投与することが好ましい。また、COを結合したHb小胞体は、初期段階で投与しても再灌流障害を惹起することなく、徐々に酸素運搬機能を回復させるので、理想的な蘇生液といえる。

D AAAが、正常状態時および脳虚血時の側副血行路そして再血管構築の進展における、局所の血行動態のホメオスタシスに重要な役割を果たしていると考えられた。このモデルを用いることにより、MCAO後に人工赤血球を投与した場合の影響について、より詳細な情報が得られると考えられ、さらなる検討が必要である。

また、当研究室において、ラットを用いて確立した毛細血管内赤血球速度計測法はマウスにも応用できることがわかった。さらに、従来から知ら

れているような脳代謝速度などの生理的パラメータの差異にもかかわらず毛細血管内赤血球速度が同程度であったことから、赤血球速度は酸素交換に最適な物理的要因によって調節されていることが推察された。

D. 結論

ICU環境における人工赤血球使用に関する複数の知見が得られた。本研究ではICUにおいて想定される病態および疾患管理方法として人工呼吸器管理下における肺への影響、SIRS、モニター装置、パルスオキシメータとの相互作用、さらに脳微小循環、脳梗塞への影響を検討した。さらなる検討が必要であるが、いずれの使用状況においても人工赤血球、Hb小胞体の有用性が示唆された。またICU管理における病態に対応する小胞体の適正使用についても可能性が示唆された。次年度のさらなる研究の進展が期待される

分担研究報告書

人工赤血球の ICU 使用を目的とした最適化および ME 技術の改良

分担課題： ICU における呼吸障害の分析と人工赤血球利用法の開発

主任研究者	武田 純三	慶應義塾大学医学部	麻酔科	教授
研究協力者	長田 大雅	慶應義塾大学医学部	麻酔科	助教
	森崎 浩	慶應義塾大学医学部	麻酔科	准教授

研究要旨

集中治療室 (ICU) 管理においては人工呼吸器管理が行われている症例も多く、程度の差はあるものの何らかの肺障害の発生を前提に治療が必要となる症例が多い。本研究では、引き続き人工赤血球の投与が人工呼吸器管理下にある肺に及ぼす影響について検討した。人工呼吸器管理はそれ自体が肺障害を惹起する可能性が指摘されている (ventilator induced lung injury: VILI)。ウサギの VILI モデルに人工赤血球 Hb 小胞体 (HbV) を 5%アルブミン分散液として投与し、主として肺障害の程度に悪影響を及ぼすか否かを検討した。60%交換率では HbV 群では VILI の度合いが 5%アルブミン投与と比較して軽減される可能性が示唆された。

A. 研究目的

集中治療室(Intensive Care Unit: ICU)においては様々な疾患が包括的に集中治療される。病因、主な障害臓器は症例により様々であるが、この際対象症例の多くは肺に何らかの障害がみられる。この場合には全身状態を維持するために肺機能を補助する必要があり、その代表的なものが人工呼吸器管理である。人工呼吸器は換気量、換気回数、酸素濃度などが設定可能であり、障害肺の機能を極めて効果的に補助する。ただし換気方法は胸郭を筋肉により拡張してその陰圧により肺を拡張させる生理的な呼吸とは異なり外から空気を送り込む陽圧換気となる。このため肺胞は非生理的な陽圧および過進展を受ける。近年、この機械的刺激が肺胞および肺毛細血管領域で炎症反応を惹起し、肺胞-肺毛細血管バリアを障害し、ガス交換を障害する可能性 (ventilator induced lung injury: VILI) が指摘されている。詳細な機序は未だに明らかで

はない部分が多いが、人工呼吸器管理そのものが肺に及ぼす障害について我々は従来から様々な検討を行ってきた。その中で血液中の白血球や血管内皮における接着因子および様々なサイトカインの関与が明らかになってきている。これらの知見は人工呼吸器管理自体が肺に及ぼす影響は全身状態と密接に関連していることを示唆しており全身管理における重要性を意味している。一方、様々な動物実験において人工赤血球投与の安全性が確認されているが、ICU における投与を想定した場合には、人工呼吸器管理施行中の投与が行われる状況を考えざるを得ない。本研究では人工呼吸器管理下に人工赤血球を投与した際の肺機能への影響を検討するための基礎的な知見を得るためのモデル作成を目標とした。この可能性のあるモデルの一つとしてウサギを用いた VILI モデルを考えた。状況として極端なモデルとなるが、人工赤血球投与が VILI を増悪させる可能性があるか否かを中心

に検討した。ICUにおける投与においては循環血液容量を保つためにも人工赤血球に膠質液を添付して使用する可能性が高いと考えられる。VILIにおける肺血管透過性の変化の可能性を考えると、膠質液に分散させた人工赤血球は、生理食塩水などの晶質液に比べて異なった影響をVILIに与えることも考えられた。このため本研究では5%アルブミン液に分散させたヘモグロビン小胞体試料を中心に検討した。投与量(交換率)は60%交換を中心に検討した。

B. 研究方法

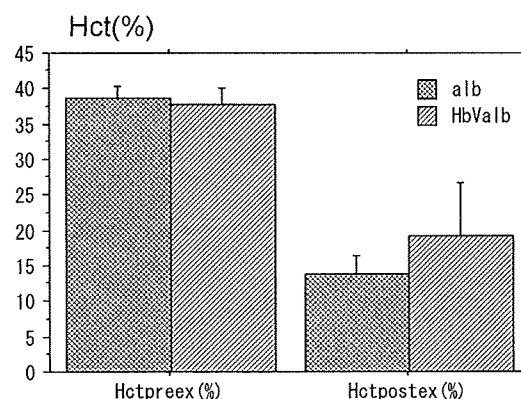
動物種：雄、日本白色家兔(2.0~2.5 kg)。

実験操作：麻酔導入薬としてケタミン 100 mg を筋注。鎮静が得られた後 22G 針にて耳静脈を確保した。耳静脈より鎮静薬 0.5% ペントバルビタール 4 ml/kg/hr の投与を開始した。頸部に枕木をあて、仰向けに固定した。頸部および胸部腹側を剃毛した後消毒を行った。頸部に局所麻酔薬 0.5% リドカイン 3 ml を皮下投与した。頸部に皮切を加え気管切開を施行し、気管周囲を剥離した。気管近傍の内頸動脈を露出し、内頸動脈ラインを確保した。内頸動脈ラインより持続的に動脈圧を測定し、また動脈血採血用ラインとして用いた。循環動態が安定した後、ほぼ通常の換気圧(本実験では低一回換気圧と定義する、12cmH₂O)にて人工換気を開始した。換気と呼吸状態が安定した後、筋弛緩薬 パンクロニウム 1 mg 静脈投与を行った。その後は筋弛緩を得るため、0.3 mg/kg/hr にてパンクロニウムを経静脈持続投与した。血圧、脈拍、呼吸状態が安定した後ベースラインの動脈血液ガス分析とヘマトクリット測定を行った。その後動脈ラインより脱血、静脈ラインより試料の投与を行い(約 10ml/min)、循環血液量の約 60% を試料で置換した。この交換スピードでは交換中の循環動態に明らかな変化は見られなかった。なお循環血液量は従来の検討より 56ml/kg とした。交換終了後再び動脈血液ガス分析およびヘマトクリット値の測定を行った。測定終了後一回換気量を増加させ、高一回換気圧(30 cmH₂O)での人工換気を開始した。高一回換気開始後 30 分、120 分、180 分、240 分後に、動

脈血液ガス分析を行った。この間の人工呼吸器の設定は、換気回数を 20 回/分とし、動脈血 pCO₂ が 35~45 mmHg となるように適宜回路内に死腔を挿入した。高一回換気圧による人工呼吸開始 240 分後に、最終動脈血液ガス分析を行った後、5% ペントバルビタール 4 ml を投与して犠牲死させた。両側肺を摘出後、右主気管支を閉鎖し、右肺を切離した。気管より約 20cm 水柱にて 10% 緩衝ホルマリンを注入し、左肺を充填した。左肺は病理組織標本を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色を行った。右肺は湿乾重量比の測定に用いた。試料としては人工酸素運搬体 Hb 小胞体 5% アルブミン分散液(HbValb)と 5% アルブミン(alb)を用いた。各群間の比較を行った。データは平均値±標準偏差で表した。昨年度に引き続き本研究で使用した Hb 小胞体は、(株)ニプロにて調製、物性値評価され研究用試料として配布された。

C. 研究結果・考察

昨年度に引き続き予備実験として生理食塩水群を行ったが 60% 交換では実験期間中の生存が維持できなかった。このため 5% アルブミンを含む群のみの検討となった。ヘマトクリットは HbValb 群では交換前 37±3% から交換後 15±4%、alb 群では交換前 36±3% から交換後 17±8%、へ低下した。

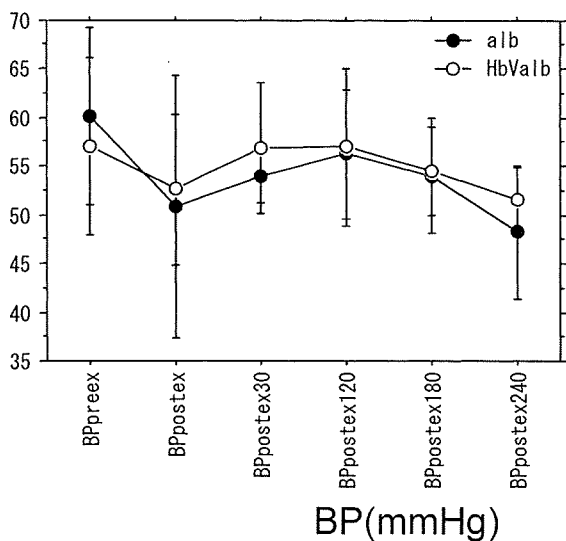


両群間に有意差は無く、両群ともに循環血液量のほぼ 60% が実際に交換されたと考えられた。Alb 群で若干ヘマトクリットの低下が顕著であったが、循環動態が HbV 群に比較して不安定であった点と

関連があったかもしれない。いずれの群でも膠質である5%アルブミンを含む試料ではより循環血液量が保たれるためか、交換後のヘマトクリットは生理食塩を使用した実験に比べてやや低めであった。

平均体血圧は麻酔深度の影響もあり全体的に低めに推移した。時間とともに徐々にやや低下する傾向はあったものの有意な低下ではなかった (preex: 脱血交換前、postex: 脱血交換後)。肺障害が急性に進行するモデルであり、麻酔深度は深く保つ必要があるため、このようなデータとなった。また群間に明らかな差は見られなかった。

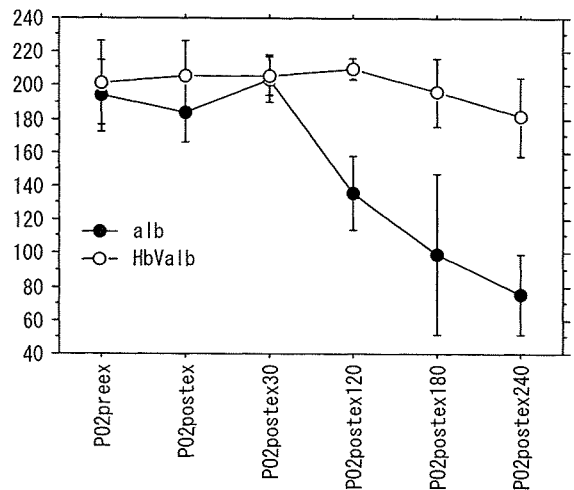
BP(mmHg)



生理食塩水をベースにした試料では、血液希釈が起こり、その結果循環血液量が低下するため、血圧の低下さらに生存率の低下につながったと考えられたが、この傾向は5%アルブミンに分散した際には軽減されると考えられ、今回の実験においても5%アルブミンに分散したためか交換率を60%に増加したにもかかわらず安定であった。

動脈血酸素分圧は時間経過とともに両群で若干低下傾向が見られた。(preex: 脱血交換前、postex: 脱血交換後)。Alb 群では時間経過とともに有意な低下がみられたが、HbValb 群では有意な低下は見られず、alb 群に比べて有意に高く推移した。

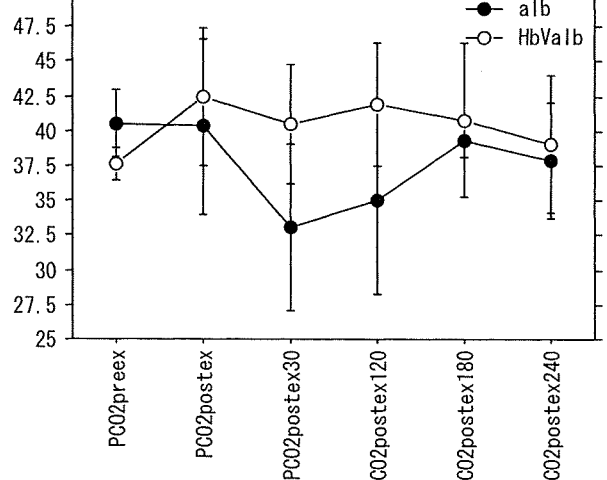
PaO2(mmHg)



PaO2(mmHg)

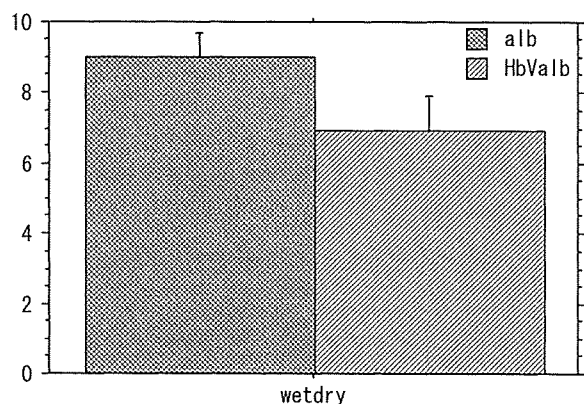
PaCO2 は alb 群で一過性に低下したが、時間経過とともに復帰した。

PaCO2(mmHg)



PaCO2(mmHg)

さらに肺への水分貯留量、すなわち肺水腫/肺障害を反映する指標となる湿乾重量比は alb 群に比べて HbV を含んだ試料で低く抑えられた。



湿乾重量比

採取した肺の HE 染色においては両群で肺水腫の存在が疑われた。その程度は alb 群でより高い可能性が疑われた。肺胞隔壁の肥厚およびうっ血所見も alb 群で高度な傾向と思われた。VILI の発生原因については近年様々な知見が蓄積されつつある。陽圧換気による肺の非生理的進展がきっかけになり、その後肺毛細血管内皮細胞や白血球の活性化を介して、様々なシグナル経路の関与が考えられている。このため VILI の病態は全身状態と密接に関連すると思われる。この意味で、人工呼吸器管理の行われる頻度が高い ICU において人工赤血球を投与する場合には、VILI あるいはそれに類似した状況を想定する必要があると考えられる。本実験では基礎的検討として兎における VILI のモデルを用い、人工赤血球、Hb 小胞体を投与した際の影響を検討した。投与方法は交換輸血とし、交換率を 60% に設定した。さらなる検討が必要であるが、HbV 投与が VILI に影響を及ぼしていると考えられるような所見は今回の検討では得られなかった。また、VILI によりもし肺毛細血管透過性が高まるのであれば、それに伴う肺水腫や肺障害は 5% アルブミン投与群においてより顕在化する可能性が考えられた。これに対し 5% アルブミン溶液分散 HbV 群では動脈血酸素分圧は有意に維持される結果となり、この機序についてさらなる検討を要する。

D. 結論

人工赤血球を ICU で使用する場合、そして人工呼吸器管理下の使用に際して高頻度に合併、遭遇する可能性がある VILI を動物モデルで再現し、人工赤血球投与の影響を検討した。本研究で設定した VILI のレベルでは、人工赤血球投与による VILI の修飾、少なくとも悪影響は明らかではなかった。また分散液として 5% アルブミン溶液を検討したが、交換率を 60% とすると HbV により VILI のレベルが軽減される可能性が示唆された。

E. 健康危険情報

該当なし

F. 研究業績

1. 論文発表

1. Hypercapnic acidosis minimizes endotoxin-induced gut mucosal injury in rabbits
Hiroshi Morisaki, Satoshi Yajima, Yoko Watanabe, Takeshi Suzuki, Michiko Yamamoto, Nobuyuki Katori, Saori Hashiguchi, Junzo Takeda, *Intensive Care Med* (2009) 35:129-135
2. Difference in autologous blood transfusion-induced inflammatory responses between acute normovolemic hemodilution and preoperative donation. Yoshifumi Kotake, Michiko Yamamoto, Midori Matsumoto, Takashige Yamada, Hiromasa Nagata, Hiroshi Morisaki and Junzo Takeda. *J Anesth* (2009) 23:61-66
3. An individualized recruitment maneuver for mechanically ventilated patients after cardiac surgery. Ryohei Serita, Hiroshi Morisaki and Junzo Takeda. *J Anesth* (2009) 23:87-92
4. Recurrent ST-segment elevation on ECG and ventricular tachycardia during neurosurgical anesthesia. Yoshifumi Kotake, Midori Matsumoto, Tomoko Yorozu and Junzo Takeda. *J Anesth* (2009) 23:115-118
5. Watanabe-Fukuda Y, Yamamoto M, Miura N, Fukutake M, Ishige A, Yamaguchi R, Nagasaki M, Saito A, Imoto S, Miyano S, Takeda J, Watanabe K.

Orengedokuto and berberine improve indomethacin-induced small intestinal injury via adenosine. *J Gastroenterol.* 2009;44(5):380-9

6. Tumor necrosis factor- α mediates hyperglycemia-augmented gut barrier dysfunction in endotoxemia. Satoshi Yajima, Hiroshi Morisaki, Ryohei Serita, Takeshi Suzuki, Nobuyuki Katori, MD; Takashi Asahara, Koji Nomoto, Fujio Kobayashi, Akitoshi Ishizaka, Junzo Takeda. *Crit Care Med* 2009; 37:1024-1030
7. ステントグラフト内挿術後の腹部大動脈瘤に対し人工血管置換術を施行した1例. 鈴木康生、加藤純悟、藍 公明、森山 潔、志水秀行、武田純三. *臨床麻酔.* 33(6) : 1049-1050、2009
8. Yoshifumi Kotake, Takashige Yamada, Hiromasa Nagata, Takeshi Suzuki, Junzo Takeda, Can Mixed Venous Hemoglobin Oxygen Saturation Be Estimated Using a NICO Monitor? *Anesth Analg* 2009;109:119-23
9. Akiko Ishikawa, Atsuo Mori, Nobuyuki Kabei, Akihiro Yoshitake, Takeshi Suzuki, Nobuyuki Katori, Hiroshi Morisaki, Ryohei Yozu, Junzo Takeda. EPIDURAL COOLING MINIMIZES SPINAL CORD INJURY AFTER AORTIC CROSS-CLAMPING THROUGH INDUCTION OF NITRIC OXIDE SYNTHASE. *Anesthesiology* 2009 111(4):818-25.

2. 学会発表

1. H. S 超音波ガイド下神経ブロック時の探触子ホルダーの使用経験. 逢坂 佳宗 1 山田 達也 1 加藤 純悟 1 武田純三. 第 56 回 日本麻酔科学会学術集会 2009 年 5 月 22-24 日 神戸
2. 大血管外科手術における腹部大動脈遮断中の内臓血流の評価. 小竹 良文 1 山田高成 2 長田大雅 2 武田純三. 第 56 回 日本麻酔科学会学術集会 2009 年 5 月 22-24 日 神戸
3. 多施設共同研究による脈波伝播時間を用いた非侵襲的連続心拍出量測定法の検証. 山田 高成 1 原澤栄志 2 筒井雅人 3 佐藤哲文 4 赤澤年正 5 佐藤暢一 6 山下幸一 7 石原弘規 8 武田純三 1 第 56 回 日本麻酔科学会学術集会 2009 年 5 月 22-24 日 神戸

4. 麻酔資料館の設立とその意義. 武田 純三. 第 56 回 日本麻酔科学会学術集会 2009 年 5 月 22-24 日 神戸
5. 周術期の人工呼吸管理を HFO にて行った劇症肝炎の 1 例. 櫻井裕教、鈴木武志、矢島 聡、山田高成、長田大雅、森崎 浩、武田純三. 第 18 回 日本集中治療医学会関東甲信越地方会 2009 年 7 月 4 日 (土) 松本
6. 両側性自然気胸の治療に際し発症した再膨張性肺水腫に対し非侵襲的人工呼吸を用いて管理した一例. 山田高成、櫻井裕教、長田大雅、矢島 聡、鈴木武志、森崎 浩、武田純三. 第 18 回 日本集中治療医学会関東甲信越地方会 2009 年 7 月 4 日 (土) 松本
7. リドカインはエンドセリンの分泌を抑制し、肝虚血再灌流障害を抑制する. 長田大雅、山田高成、小竹良文、武田純三. 第 18 回 日本集中治療医学会関東甲信越地方会 2009 年 7 月 4 日 (土) 松本
8. Massive retained air in the ascending aorta after unclamping the aorta during port-access mitral valve repair surgery. Ai K, Kato J, Yamada T, Takeda J The 8th Meeting of the Asian Society of Cardiothoracic Anesthesia & The 14th Annual Meeting of the Japanese Society of Cardiovascular Anesthesiologists 2009 年 9 月 10-12 日 東京
9. Impact of intraoperative transesophageal echocardiography for emergency cross-clamping of the major vessel. Kato J, Ai K, Ueda T, Yamada T, Takeda J. The 8th Meeting of the Asian Society of Cardiothoracic Anesthesia & The 14th Annual Meeting of the Japanese Society of Cardiovascular Anesthesiologists 2009 年 9 月 10-12 日 東京
10. 術中・術後に急性副腎不全が原因と考えられる循環虚脱を呈した後腹膜線維症の一例. 荒木奈帆、加藤純悟、西脇千恵美、印南靖志、津崎晃一、武田純三. 第 49 回 日本麻酔科学会関東甲信越・東京地方会 合同学術集会 2009 年 9 月 26 日(土) 松本
11. レミフェンタニルで容易に管理しえた褐色細胞腫の腹腔鏡下副腎摘出術. 荒木奈帆、武田純三、木山秀哉、吉田民子、日山敦子. 第 49 回 日本

- 麻酔科学会関東甲信越・東京地方会 合同学術集会 2009年9月26日(土) 松本
12. 低侵襲血行動態モニタリング下に麻酔管理を行った褐色細胞腫の1症例。細井卓司、関 博志、渡邊陽子、上田朝美、津崎晃一、武田純三。第49回 日本麻酔科学会関東甲信越・東京地方会 合同学術集会 2009年9月26日(土) 松本
 13. 甲状腺癌多発両肺転移による気管支閉塞に対してステント挿入術を施行した1例。菅間剛、中村教人、西脇千恵美、山田高成、森崎 浩、武田純三。第49回 日本麻酔科学会関東甲信越・東京地方会 合同学術集会 2009年9月26日(土) 松本
 14. 腹部脂肪吸引術後、脂肪塞栓症候群よりARDSを発症した一例。重城聡、矢島 聡、武田純三。第49回 日本麻酔科学会関東甲信越・東京地方会 合同学術集会 2009年9月26日(土) 松本
 15. 全身麻酔覚醒時に不穏となり、レミフェンタニルの急性離脱症状を疑った1症例。三輪桜子、香取信之、新原朗子、関 博志、大西 幸、武田純三。第49回 日本麻酔科学会関東甲信越・東京地方会 合同学術集会 2009年9月26日(土) 松本
 16. 巨大腹腔内腫瘍摘出術の麻酔経験。増田義之、渡邊陽子、矢島 聡、佐伯陽子、中塚逸央、武田純三。第49回 日本麻酔科学会関東甲信越・東京地方会 合同学術集会 2009年9月26日(土) 松本
 17. 気管支食道瘻を有する患者に対し、硬膜外麻酔で自発呼吸を温存して管理した一例。土屋智重、加藤純悟、石川明子、高木美沙、中塚逸央、武田純三。第49回 日本麻酔科学会関東甲信越・東京地方会 合同学術集会 2009年9月26日(土) 松本
 18. 中心静脈カテーテルが内頸静脈、椎骨動・静脈を貫通し、胸腔内に留置された1症例。阪本浩平、小河アイリーン尚美、櫻井裕教、勝又 澄、橋口さおり、武田純三。第49回 日本麻酔科学会関東甲信越・東京地方会 合同学術集会 2009年9月26日(土) 松本
 19. 0.35 mg/kg/min のレミフェンタニル持続投与によっても自発呼吸が認められた症例。佐藤正顕、藍 公明、新原朗子、香取信之、大西 幸、武田純三。第49回 日本麻酔科学会関東甲信越・東京地方会 合同学術集会 2009年9月26日(土) 松本
 20. R Serita, Hiroshi Morisaki, Toshiya Koitabashi, Junzo Takeda. Effect of nicaraven, a radical scavenger, on cardiac function and cytokine production in lipopolysaccharide induced sepsis. 22nd ESICM Annual Congress – Vienna, Austria – 11–14 October 2009
 21. R Serita, Hiroshi Morisaki, Toshiya Koitabashi, Junzo Takeda. Effect of oxytocin on cardiac function in lipopolysaccharide induced sepsis. 22nd ESICM Annual Congress – Vienna, Austria – 11–14 October 2009
 22. Negative Pressure Ventilation Reduces Persistent Chest Tube Drainage after the Fontan Operation. Nobuyuki Katori, Jungo Kato, Tatsuya Yamada, Junzo Takeda. 2009 ASA Annual Meeting, 2009年10月17–21日 New Orleans
 23. Transient Hemodynamic Change and the Bias of Arterial-Pressure Based Cardiac Output. Yoshifumi Kotake, Takashige Yamada, Hiromasa Nagata, Junzo Takeda. 2009 ASA Annual Meeting, 2009年10月17–21日 New Orleans
 24. Verification of the Pulse Wave Transit Time-Based Cardiac Output in Post-Aortic Surgery Patients. Takashige Yamada, Hiromasa Nagata, Takeshi Suzuki, Hiroshi Morisaki, Junzo Takeda. 2009 ASA Annual Meeting. 2009年10月17–21日 New Orleans
 25. Change of Hemoglobin Concentration at the Finger after Major Cardiovascular Surgery. Hiromasa Nagata, Takashige Yamada, Yoshifumi Kotake, Junzo Takeda. 2009 ASA Annual Meeting, 2009年10月17–21日 New Orleans
 26. Beta-Blocker, Esmolol, Infusion Improves Survival of Septic Rats. Hiroshi Morisaki, Katsuya Mori, Satoshi Yajima, Takeshi Suzuki, Junzo Takeda. 2009 ASA Annual Meeting. 2009年10月17–21日 New Orleans
 27. 下咽頭悪性腫瘍切除により咽頭瘻孔形成を認め、再挿管が必要となった一例。竹田 悟宇、藍 公明、櫻井 裕教、中塚 逸夫、津崎 晃一、武

- 田 純三。日本臨床麻酔学会 第 29 回大会
2009 年 10 月 29-31 日 浜松
28. 重症先天性横隔膜ヘルニア胎児の選択的帝王切開術における麻酔管理。簗島 梨恵、長田 大雅、山田 高成、中塚 逸夫、橋口 さおり、武田 純三。日本臨床麻酔学会 第 29 回大会 2009 年 10 月 29-31 日 浜松
29. 経尿道前立腺核出術で呼吸困難を起こした一。小松崎 崇、中村 教人、長田 大雅、山田 高成、山田 達也、武田 純三。日本臨床麻酔学会 第 29 回大会 2009 年 10 月 29-31 日 浜松
30. エアウェイスコープ使用により舌裂傷をきたしたシェーグレン症候群の患者の一例。佐々木 綾、印南 靖志、小河 アイリーン尚美、吉川 ひろか、中村 教人、中塚 逸夫、武田 純三。日本臨床麻酔学会 第 29 回大会 2009 年 10 月 29-31 日 浜松
31. 危機的出血に対し異型適合血の使用を余儀なくされた 1 例。西村 大輔、中村 教人、櫻井 裕教、山田 高成、橋口 さおり、武田 純三。日本臨床麻酔学会 第 29 回大会 2009 年 10 月 29-31 日 浜松
32. 内頸静脈穿刺時に超音波検索により静脈内血栓を指摘した 1 症例。中村 理紗、勝又 澄、加藤 純悟、濱田 祐子、山田 高成、森崎 浩、武田 純三。日本臨床麻酔学会 第 29 回大会 2009 年 10 月 29-31 日 浜松
33. 多発性硬化症合併妊娠の無痛分娩。福田陽子、細川幸希、山田高成、橋口さおり、森崎 浩、武田純三。第 113 回 日本産科麻酔学会 2009 年 12 月 19 日 横浜
34. 重症患者における酸素消費量の病態別比較。小竹良文、山田高成、長田大雅、武田純三。第 37 回日本集中治療医学会学術集会 2010 年 3 月 4 日-6 日(広島)
35. エビデンスに基づく急性期 NPPV -特発性間質性肺炎の急性増悪。櫻井裕教、矢島 聡、森崎 浩、武田純三。第 37 回日本集中治療医学会学術集会 2010 年 3 月 4 日-6 日(広島)
36. 心臓血管手術術後患者の経皮的ヘモグロビン値と CO-oximeter によるヘモグロビン値の差の推移。長田大雅、小竹良文、山田高成、小林直樹、武田純三。第 37 回日本集中治療医学会学術集会 2010 年 3 月 4 日-6 日(広島)
37. 敗血症患者に対する塩酸ランジオロール投与の効果と安全性。御園生与志、矢島 聡、森崎 浩、武田純三。第 37 回日本集中治療医学会学術集会 2010 年 3 月 4 日-6 日(広島)
38. 人工呼吸回路の加湿制度の検討。平林則行、矢島 聡、高沢天湖、又吉 徹、安藤朋子、森崎 浩、武田純三。第 37 回日本集中治療医学会学術集会 2010 年 3 月 4 日-6 日(広島)

分担研究報告書

人工赤血球の ICU 使用を目的とした最適化および ME 技術の改良

分担課題： SIRS 状態に於ける人工赤血球の機能解析

分担研究者 泉 陽太郎 慶應義塾大学医学部 呼吸器外科 助教

研究要旨

集中治療室 (ICU) 管理を要する症例の多くにおいて見られる Systemic Inflammatory Response Syndrome : (SIRS) とは様々な原因により全身性に炎症反応が亢進した状態であり、原因によらずある程度共通した治療法が必要である。人工赤血球は赤血球輸血の代替として開発が進められているが、人工赤血球投与の必要性が予測される出血性ショックにおいてはほぼ全例に、また術後に人工赤血球投与を要する症例の少なくとも一部には SIRS 状態あるいは潜在する SIRS 状態が見られる可能性が考えられる。このような状態において人工赤血球の投与を行った場合には正常な状態とは異なる影響が見られる可能性がある。本研究では SIRS 状態を再現し評価する動物モデル作成を試みた。出血性ショックにおいて腸間膜リンパ節への腸内細菌の移行が報告されており、SIRS 状態の指標の一つになり得ると考えられる。以前我々は人工赤血球を用いた出血性ショック蘇生において条件を変化させて腸管膜リンパ節の培養を行った。また、いくつかの条件において血中の複数のサイトカインを測定した。しかしそれらの条件設定では腸管膜リンパ節培養で細菌は検出されず、培養方法の再検討および出血性ショック状態をさらに遷延させる必要があると考えられた。また血中のサイトカインについては因子により増加時期が異なるため、異なった検出時期が必要と考えられた。これらの結果を踏まえて、本研究では SIRS 状態を再現するモデルとして腸管損傷モデルを検討した。マウスを用いた盲腸結紮後穿刺モデルでは限局性の腹膜炎が発生し、腸間膜リンパ節腫大が高率に見られたが、炎症が強く安定したモデルにはならなかった。またリンパ節培養にて大腸菌、腸球菌、B 溶連菌が検出されたが、再現性と評価の定量性に問題が見られた。一方肺組織は全身状態を反映する可能性があり、実際に肺ではより顕著な変化が見られた。特に腸管縫合不全のモデルは全身状態も安定していた。今後人工赤血球投与による SIRS 状態の変化を検討する有用なモデルになり得ると考えられた。

A. 研究目的

ICU の概念は近年変遷を遂げつつあるが、依然として病院の 1 施設としての概念である。各臓器別の治療法は重要であるが、それとともに呼吸、循環、代謝などについて短時間に急性の管理を要する患者が集められ、集中的管理が行われる。従って、管理を要する症例の原疾患は多岐にわたる。

これらの症例では原疾患に加え様々な疾患あるいは合併症を併発している。このため、個々の原因疾患に関わらず各時点における全身状態を包括的に把握する必要がある。このような観点から提唱された概念の一つが Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) である。SIRS は多岐にわたる原因により全身的に炎症反応が亢進した状

態を指す。SIRS を定義する意義としては、SIRS にはその原因に関らず共通の臨床所見と病態があり、加えて対処方法も共通している部分が多いことが挙げられる。一方、ICU あるいは ICU 環境において人工赤血球を使用する代表的な対象の一つとして出血性ショックがある。出血性ショックは様々な疾患に顕在あるいは潜在的に関与する。出血性ショックはまた SIRS 状態を惹起する代表的な原因の一つでもある。出血性ショックから SIRS 状態への重要な移行原因の一つとして腸管の粘膜バリアの破壊と腸内細菌の移動の可能性が考えられている。この際の人工赤血球投与の影響について、我々は以前出血性ショック時の腸管虚血が人工赤血球、Hb 小胞体投与により軽減される興味深い知見を得ている (Yoshizu et al., ASAIO J 2004;50:458-463)。また同じモデルにおいて出血性ショック時に血中の TNF α が上昇することが確認されており、この上昇は Hb 小胞体投与により有意に抑制された。本研究では類似したモデルを検討して複数のサイトカインの推移を確認できるモデルを樹立することを目指した。まず出血性ショック時の SIRS 状態のより簡便かつ早期に行える評価法として、腸管リンパ節の培養を試みたが、出血性ショック単独では培養陽性所見は得られなかった。この結果を踏まえて、アプローチを変更し腸管の損傷モデルおよび腸管縫合不全モデルを検討した。ラットに代え、分子生物学的検討がより行いやすいマウスにおいて知見を得た。また腸管膜リンパ節に加え、ショック時に全身傷害を反映する可能性がある肺において所見を検討した。

B. 研究方法

動物種：マウス、雄、約 20g。

実験方法：マウスにケタミンとキシラジンの混合液を筋注 (10mg/kg) し麻酔を行った。腹部を剃毛後 70%アルコールで消毒を行った。腹部正中切開を行い、小腸をたどり、上腸間膜動静脈を確認する。上腸管膜リンパ節はその近傍の脂肪組織中に存在する。また胸腔内および肺組織の観察も行った。

実験①：腹部正中切開を行い、盲腸を回盲部より

末梢で結紮後 28G 針で穿刺し、腸管内容物を直径 1 mm 程度に押し出してから閉腹した。マウスは生存させ、体重、活動度などを観察した。1～2 日後から 1 週間後に開腹し腹腔内を観察した。また、上腸間膜動静脈近傍の脂肪組織を採取し病理組織学的検査と嫌気性および好気性培養検査を行った。

実験②：腹部正中切開を行い、盲腸と回盲部を腸間膜脈管を損傷しないように切断し、再度腸管吻合を行った。吻合糸の数を変化させ、吻合不全のモデルを作成した。対象として開腹を行った後その他の処置は行わず閉腹した群も検討した。また、開胸し胸腔内を観察した。肺を採取し、組織学的、分子生物学的検討を行った。

本研究で使用した Hb 小胞体は、(株)ニプロにて調製、物性値評価され研究用試料として配布された。

C. 研究結果・考察

無処置のマウスにおいても上腸管膜動静脈周囲の脂肪組織中には少量のリンパ節が存在した。肉眼的には脂肪組織中に微小なリンパ節が少数確認でき、病理組織学的にもこれらがリンパ節であることが確認できた。

実験①マウスの活動性、食欲は実験②に比べ著名に低下、軟便、下痢が多くのマウスで見られた。2 日目以降死亡例も見られ、実験②に比べて有意に高い実験的負荷であった。主に 1 から 2 日目に開腹して観察を行った。結紮部より末梢の盲腸部分は全体に黒く変色し壊死に陥っている可能性が示唆された。その周囲には限局されてはいるものの、強い腹膜炎が見られた。癒着が見られ、腹腔内に腹水が存在した。腸間膜リンパ節は腫大していたが、その程度は昨年度の実験とほぼ同等であった。好気性培養にて大腸菌、腸球菌、B 群溶連菌が数回検出された。嫌気性培養は陰性であった。

腸間膜リンパ節の所見とともに肺の所見も顕著であった。胸腔内に異常所見は無かったが、肺は肉眼的に赤みが増しており、固定時のホルマリン注入にても拡張は明らかに不良であった。肺水腫が疑われた。病理組織所見では対照群に比べ肺水腫、肺胞内出血、肺胞隔壁の肥厚および白血球浸

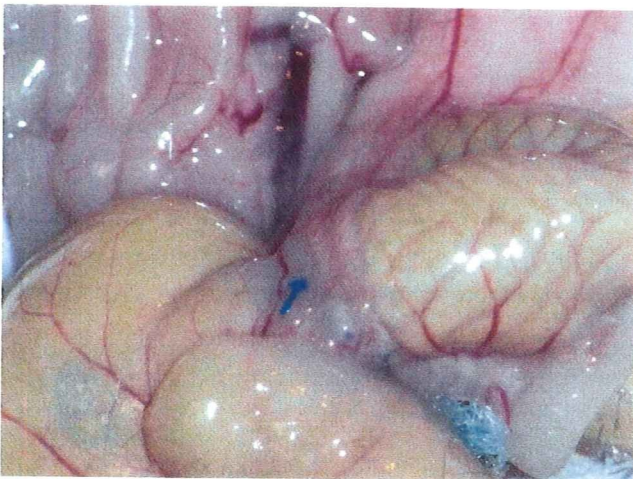
潤が見られた。

実験②腸管縫合糸を 4 針から 8 針の間を変化させてモデルを作成した。8 針では縫合不全は起こらなかったが、



マウスの縫合不全発生群ではマウス体重は軽度減少したが、死亡例は見られなかった。この意味で実験①より適切なモデルと考えられた。ただし腸間膜リンパ節所見としては有意な腫大は見られなかった。

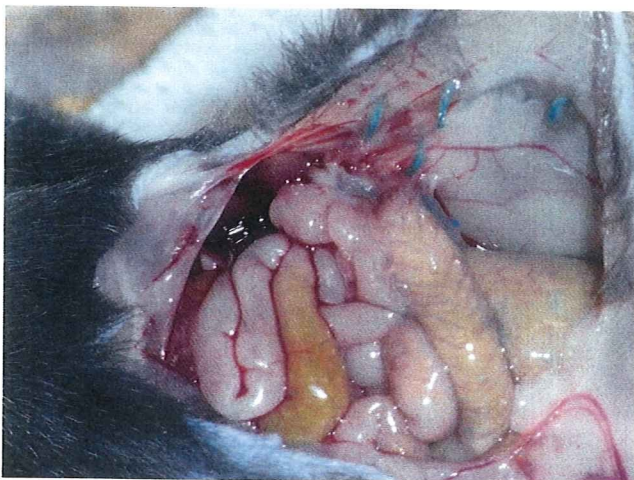
全身状態は比較的良好であったが肺の所見は実験②とほぼ同様に顕著であった。胸腔内に異常所見は無かったが、肺は肉眼的に明らかに赤みが増しており、固定時のホルマリン注入にても拡張は明らかに不良、肺水腫および肺胞内出血が疑われた。

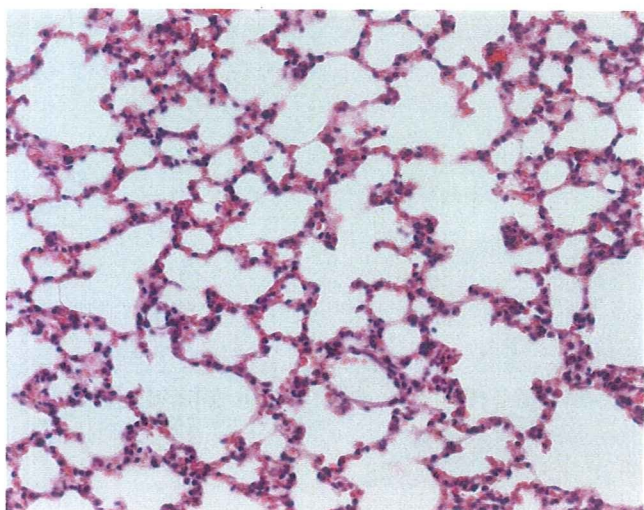


4 針では縫合不全が発生した。



病理組織所見では対照群に比べ肺水腫、肺胞内出血、肺胞隔壁の肥厚および白血球浸潤が見られた。





また、昨年度に引き続き DNA チップを用いて肺の網羅的解析を行った。DNA チップはマイクロアレイに比し低発現領域の比較が可能と考えられている。数百の候補遺伝子があり現在解析中である。

ラットを用いたエンドトキシン投与モデルや出血性ショックモデル、および腸管結紮や腸管虚血再還流モデルにおいて腸間膜リンパ節の細菌培養の陽性化が報告されている。これらの病態において全身的にサイトカインの産生が亢進するとされている。これらの知見から出血性ショックから SIRS 状態への移行原因の一つとされている腸管の虚血による粘膜バリアの破壊と腸内細菌の移動の可能性を再現し評価し得る動物モデルの作成を試みたが、腸管膜リンパ節培養陽性所見は不安定であった。また今回行ったマウス盲腸結紮後穿刺モデルでは、顕著な限局性腹膜炎が見られ、また腸間膜リンパ節の腫大、好気性菌培養陽性所見が得られたが、死亡例もみられモデルとしての安定性に欠けた。これに対し今回検討した腸管吻合モデルではマウスの全身状態は保たれた状態で SIRS を再現するモデルになり得る可能性が考えられた。このモデルにおいて人工赤血球を投与し、その影響を観察できる可能性が示唆された。また、このプロトコールにおいてサイトカイン測定を計画することが可能と考えられた。また今回の実験では腸管膜リンパ節とともに肺への影響を検討した。肺は全身状態を写す鏡となり得る臓器であり興味深い知見が得られた。特に SIRS に関連する肺障害

因子について今後解析が必要である。

D. 結論

本実験では、動物における SIRS モデル作成を継続した。腸間膜リンパ節の培養では盲腸結紮後穿刺モデルにて陽性結果が得られたが、本モデルでは全身状態の悪化が顕著であった。これに対し腸管縫合不全を模したモデルはより安定しておりかつ、肺に顕著な傷害が見られ、これを病理組織学的あるいは分子生物学的に評価することにより、SIRS の評価モデルとなり得る可能性が示唆された。SIRS における人工赤血球投与時に影響を評価するモデルとしての応用が考えられた。

E. 健康危険情報

該当なし

F. 研究業績

1. 論文発表

1. Kuroda H, Mochizuki S, Shimoda M, Chijiwa M, Kamiya K, Izumi Y, Watanabe M, Horinouchi H, Kawamura M, Kobayashi K, Okada Y. ADAM28 is a serological and histochemical marker for non-small-cell lung cancers.. *Int J Cancer*. 2010 Jan 28. [Epub ahead of print]
2. Izumi Y, Kawamura M, Gika M, Nomori H. Granulation tissue formation at the bronchial stump is reduced after stapler closure in comparison to suture closure in dogs. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2010 Mar;10(3):356-9.

2. 学会発表

1. 堀之内宏久、泉陽太郎、酒井宏水、小松晃之、土田英俊、小林紘一 / 実験腫瘍における腫瘍酸素分圧のマッピングと人工酸素運搬体投与による腫瘍の酸素加 / 第16回 日本血液代替物学会年次大会 / 慶應義塾大学北里講堂 / 2009.10.16-17.

分担研究報告書

人工赤血球の ICU 使用を目的とした最適化および ME 技術の改良

分担課題：

1. ヘモグロビン小胞体分散液の光散乱効果が分光法に与える影響の検討
2. 出血性ショック蘇生における再灌流障害の低減に関する検討

分担研究者	小松 晃之	早稲田大学 理工学研究所	准教授
研究協力者	酒井 宏水	早稲田大学 理工学研究所	准教授

研究要旨

(1) ヘモグロビン小胞体を投与後、パルスオキシメータで血中ヘモグロビン酸素飽和度を測定すると、実際よりも低い値が観測される。これはヘモグロビン小胞体が光散乱特性を持つことに起因する。我々はプログラムの部分変更や多波長レーザーの利用により、これを改善してきたが、測定項目によってはその干渉作用を完全に消去できていない。本研究では積分球を用いる方法により、ヘモグロビン小胞体粒子の光散乱が分光測定に及ぼす影響を低減できることを見出した。積分球式反射型パルスオキシメータの利用は、今後 精度高い測定を可能にする有効な手段になると期待される。

(2) 出血性ショックの蘇生に際しては、虚血再灌流障害を抑制する必要があるが、酸素を結合した Hb 小胞体の投与は、かえって再灌流障害を増大させる可能性もある。本研究では先ず蘇生液として晶質液を投与し、経過を見ながら Hb 小胞体を投与する蘇生法が障害を低減させるために有効であることを示唆する結果を得た。また、CO を結合した Hb 小胞体の投与は、初期段階でも再灌流障害を抑え、徐々に酸素運搬機能を回復させることがわかった。

1. ヘモグロビン小胞体分散液の光散乱効果が分光法に与える影響の検討

A. 緒言

ヘモ 1. ヘモグロビン小胞体分散液の光散乱効果が分光法に与える影響の検討

A. 緒言

ヘモグロビン小胞体 (HbV) は、濃厚ヒトヘモグロビン (Hb) 溶液をリン脂質小胞体に内包した人工酸素運搬体 (粒子径: 250~280 nm) であり、赤血球と類似の細胞型構造を有する。内包されている Hb は赤血球のそれと同一なので、両者の紫外可視吸収

スペクトルパターンは必然的に一致するはずである。しかし、実際の Hb 小胞体分散液の色調は赤血球とは明らかに異なり、乳赤色ともいえるピンクに近い色を呈している。これは光散乱 (Mie scattering) の影響で、粒子径と入射波長が近い場合、牛乳などのエマルジョンが白く見えるのと同じ原理である (照射された光が吸収せずに散乱光となる)。臨床現場においてはヘモグロビンの可視吸収スペクトルをもとに、血液ガス測定装置、パルスオキシメータ、血球数測定装置などで、Hb 濃度、met 化率、HbCO 濃度、酸素飽和度などを定量的に