

「中山人間科学振興財団活動報告書 2018」 「時間の心理と生理」

平成 30 年度国際交流助成(海外渡航)

研究テーマ：心肺停止蘇生後脳症の機序解明，創薬に向けて

氏名：大熊佑 (Post doctoral researcher)

所属： 広島市立広島市民病院脳神経外科 ・脳血管内治療科

留学先：Department of Emergency Med-Cardiopulmonary, Feinstein Institute for Medical Research, NY, USA

〔背景と研究目的〕

心肺停止は生命にかかわる重篤な状態であり、高い死亡率を有し、更に、救命後も、多くが重篤な神経機能障害後遺を有する。社会低損失が大きく病態解明および治療法の確立は喫緊の課題である。低酸素状態に起因するミトコンドリア機能障害と細胞アポトーシスの結果あるいは原因は、代謝障害によるものと考えられ、心肺停止からの蘇生が代謝傷害をもたらすという概念は広く受け入れられている。一方で、その代謝障害を簡便かつ経時的に計測し、治療に生かす方法をこれまで我々は持ち合わせてこなかった。酸素消費量（以下 V_{O2} ）および二酸化炭素産生量（以下 V_{CO2} ）の比率である呼吸商（respiratory quotient、以下 RQ）は、燃焼するエネルギー源となる栄養素により一定した値となる。糖質だけが燃焼したときには 1.0、脂肪だけが燃焼したときには 0.707 となると共に、RQ と V_{O2} がわかれば、発生したエネルギー量が算出できる為、古くから代謝の指標の一つとして考えられてきた。しかし、 O_2 、 CO_2 の正確な圧力はある程度測定できて、その量を正確に把握することは困難なため、Haldane 変換（図）がこれまで用いられてきたが、

図

$$VI = VE \times \frac{1 - FE_{O_2} - FE_{CO_2}}{1 - FI_{O_2}}$$

fraction of expired O_2 (FE_{O_2}), fraction of inspired O_2 (FI_{O_2}), Volume of exhaled gas (VE), Volume of inhaled gas (VI)

その式からわかるように、 FI_{O_2} が大きくなればなるほど、誤差が大きくなるため、 FI_{O_2} 0.6 が上限とされており¹⁾、治療中に FI_{O_2} が 1.0 近くなることとの多い集中治療領域では、使用困難であった。

本研究では、げっ歯類モデルで、 FI_{O_2} に関わらず V_{O_2} および V_{CO_2} を測定するシステムをまず確立し、それをを用いることによって、心肺停止後の代謝障害の経時的なモニタリングを目指す。更に、ミトコンドリア機能、糖・酸素代謝、活性酸素測定により蘇生後の組織障害の機序を探る。

〔研究の方法〕

(1) ラットの窒息心停止モデルを用い、10 分間の心停止の後、自己心拍を再開させる。以下の 3 群を設ける：(a) コントロール群、(b) 心停止後胸骨圧迫で蘇生の後標準濃度酸素で治療を施す群、(c) 心停止胸骨圧迫で蘇生の後高濃度酸素で治療を施す群。独自に作成した real time での V_{O_2} 、 V_{CO_2} 測定可能なシステムにより、経時的に V_{O_2} 、 V_{CO_2} そして RQ をモニタリングする。それぞれの群において、心停止より 30 分、60 分、120 分後で、damage associated molecular patterns (DAMPs) を中心に、様々なマーカーの血中濃度測定を行う。120 分後にサクリフェイスし、種々の組織を採取の上、蘇生後脳症を評価すべく、脳の reactive oxygen species (ROS) 産生を、Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法や immunohistochemistry 法により、測定する。また別個体では、ミトコンドリア抽出を行い、その V_{O_2} の評価、糖代謝、活性酸素生成量の定量検査を行う。

(2) (1)でのラットへの胸骨圧迫において、標準的な方法に加え、改良を加えた胸骨圧迫を考案し、その蘇生率を比較し、蘇生までの時間も評価する。その循環に及ぼす効果を調べるべく、左心室にコンダクティブカテーテルを挿入し、血圧および一回拍出量を評価する。更に、総頸動脈と大腿動脈の血圧の同時測定を行い、どの部位に血圧

がより加わっているかを評価する。特に頭蓋内への循環に注目し、硬膜下に O₂ クエンチングプローブを挿入、あるいは近赤外光プローブを頭部に装着し、脳組織酸素の経時的モニタリングを行う。既に胸骨圧迫の質を評価する indicator としての地位が確立している end tidal CO₂ (EtCO₂) を測定する。最終的に、Cardiopulmonary bypass でしか不可能とされた窒息時間 12 分モデルを超える、窒息時間 15 分迄での蘇生率を評価する。

(3) (1) で実験中に経時的に採取した血液ガス、およびサクリファイスの段階で採取した脳以外の組織、特に肺に注目した。これまで集中治療領域で注目されてきた、種々計算式 (特に RQ が有効活用できるもの) にプロットし、蘇生後の酸素濃度の影響を評価する。次に、サクリファイス時の肺水腫状態と、それらの相関関係を評価する。更に、肺自体、および気道分泌物の ROS 産生を ELISA 法により測定する。

〔現在の研究の状況と今後の展望〕

これまでの留学期間中に上記の実験系は、ミトコンドリアの機能評価と immunohistochemistry 法の一部を残し、ほぼ確立した。(1)を通じて、FI_{O₂} が 1.0 となっても、精度の高い RQ を導き出すシステムの確立 (これまで²⁾ のものの改良) に成功した。(2)を通じて、非常に再現性の高い蘇生モデルの確立に成功し、窒息 10 分では蘇生率 100%、窒息 14 分でも蘇生率 75%を達成した。また(1)、(3)を通じて、高酸素投与の漫然とした継続が、生体にとって毒性をもつことも証明しつつある。酸素の生理的な功罪が、その継続時間に依りてどう変わるのか、これは 2018 のテーマとも関連すると思われる。(1)、(2)、(3)について、いずれもその全部もしくは一部内容を今年度の AHA の学術集会で発表予定である。現在留学期間は継続中であり、本研究更には次のプロジェクト (心肺停止蘇生後脳症の機序に基づいて治療法を開発する) も現在進行中であるため記載内容は上記のように研究の進捗状況にとどめること、特に全体に寄与する(1)の方法論について、supervisor が特許化も検討しており、その全容を提示できないこと、を陳謝する。残された留学期間を有効活用し、更に研究を発展させ、有意義な研究成果を残せるよう努めていきたい。

〔謝辞〕

留学にあたり、助成いただきました公益財団法人中山人間科学振興財団の皆様に厚く御礼申し上げます。また、留学期間中にご指導を賜っております、North Shore University Hospital・Feinstein Institute for Medical Research 救急科 Lance B Becker 教授、篠崎広一郎先生、留学前よりご指導を賜っております、岡山大学大学院脳神経外科伊達勲教授をはじめ医局の皆様、岡山大学大学院薬理学西堀正洋教授をはじめ医局の皆様、広島市立広島市民病院救命センター長西野繁樹先生、脳神経外科主任部長廣常信之先生をはじめ医局の皆様に厚く御礼申し上げます。そして何より共に渡米し、異国の地での困難な日々をサポートし続けてくれている家族にこの場を借りて深謝申し上げます。

〔参考文献〕

- 1) Wilmore JH, Costill DL. J Appl Physiol 1973;35:85-89
- 2) Shinozaki K, Becker LB, Saeki K, Kim J, Yin T, Da T, Lampe JW. J Am Heart Assoc 2018;7. pii: e007721. doi: 10.1161/JAHA.117.007721.