

氏名(本籍)	高村 一 樹(東京都)
学位の種類	博士(獣医学)
学位記番号	甲第 168 号
学位授与年月日	令和 3 年 3 月 15 日
学位授与の要件	学位規則第 3 条第 2 項該当
学位論文題名	犬の人工心肺下僧帽弁修復術における周術期炎症反応抑制に関する研究
論文審査委員	(主査) 折 戸 謙 介 (副査) 村 上 賢 藤 井 洋 子

論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】

心臓手術での人工心肺の使用は全身性炎症反応を引き起こし、術後の死亡率や合併症発生率を増加させる潜在的な要因となっている。そのため、炎症反応を抑制および制御することは生命維持、手術成績向上のために重要であると考えられる。近年、犬の心臓病においても人工心肺を用いた開心術が行われるようになり、予後の改善が可能となった。しかしながら、周術期炎症反応およびその制御に関する報告は少なく、不明な点が多い。

そこで本研究では、薬学的戦略により犬の人工心肺下僧帽弁修復術における周術期炎症反応の制御について検討を行った。まず研究 1 では、抗炎症薬として一般的に広く使用されているステロイド剤の影響を評価した。次に研究 2 では人工心肺を用いた僧帽弁修復術の炎症病態の解明のため、血中サイトカイン濃度測定および血中サイトカイン濃度の推移を調査し、抗炎症薬の投与タイミングを推察した。さらに、研究 3 ではステロイド剤とは別の作用により抗炎症作用が得られるフザプラジブナトリウムの効果を検討した。

【第 1 章】メチルプレドニゾロンが人工心肺を用いた僧帽弁修復術に与える影響に関する検討

〔目的〕人医療において、人工心肺時におけるコハク酸メチルプレドニゾロン投与は炎症反応を抑制し、患者の予後改善効果を期待して使用される。本章では、人工心肺下僧帽弁修復術を実施した犬におけるメチルプレドニゾロン投与の有用性を臨床的に検討した。

〔方法〕2016 年 11 月から 2017 年 3 月までに僧帽弁修復術を実施した犬を回顧的に調査した。対象を手術中にコハク酸メチルプレドニゾロンを使用していた群 (MP 群) と使用していなかった群

(non-MP 群) に分類した。有用性の評価として、血液検査結果（総白血球数および血漿中 C 反応性タンパク濃度）および術中イベント、術後合併症、術後 30 日死亡率を両群間で比較した。

【結果】 MP 群が 24 症例、non-MP 群 26 症例であった。評価項目全てにおいて両群間で有意な差は認められなかった。術後 30 日以内に死亡した症例は 3 症例であった。全て急性呼吸不全が原因であり、MP 群であった。急性呼吸不全の原因は横隔神経麻痺、肺水腫、急性呼吸窮迫症候群を疑う症例がそれぞれ 1 症例ずつであった。

【小括】 本研究では、コハク酸メチルプレドニゾロンの有用性を明らかにすることはできなかった。術後 30 日以内に死亡した症例は全て MP 群であり、死因は全症例急性呼吸不全であった。投与量や投与時期について更なる研究が必要である。

【第 2 章】人工心肺使用時の抗炎症薬投与時期を推察するための炎症関連因子測定

【目的】 人医療では人工心肺を用いた心臓手術における抗炎症薬の投与時期は様々であり、投与時期は統一されていない。抗炎症薬の種類により作用発現時間は異なるため、投与時期によっては抗炎症作用が十分に得られない可能性がある。そのため、本章では犬の人工心肺装置を用いた僧帽弁修復術時の抗炎症薬の投与時期を推察するために総白血球数および血漿中 C 反応性タンパク濃度、血中サイトカイン濃度測定を行なった。

【方法】 2019 年 5 月から 6 月までに僧帽弁修復術を実施した体重 5.0kg 以上の犬を対象とした。総白血球数および血漿中 C 反応性タンパク濃度、血中サイトカイン (IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α) 濃度の測定を術前、人工心肺中、大動脈遮断解除後自己心拍開始時 (リビート)、手術終了後 3、12、24、48、72 時間に実施した。

【結果】 組み入れ基準に満たした症例は 5 症例であった。総白血球数は術後 3 時間で術前と比較し高値を示し、血漿中 C 反応性タンパク濃度は術後 24、48 時間で術前と比較し有意な高値を示した。IL-6 および IL-10 は術後 3 時間で高値を示したが、IL-8 は有意な変動は示さなかった。TNF- α はすべての測定ポイントにおいて定量限界未満であった。

【小括】 血中サイトカイン濃度は術前と比較し術後 3 時間から高値を示し、血漿中 C 反応性タンパク濃度は術後 24、48 時間で有意に高値となることが明らかとなった。人工心肺後から血中サイトカイン濃度が上昇し、総白血球数および血漿中 C 反応性タンパク濃度は術後も高値が続くことから、人工心肺開始前には抗炎症薬を投与し、術後も継続して抗炎症薬を投与することが望ましいと考えられた。

【第 3 章】人工心肺を用いた僧帽弁修復術におけるフザブラジブナトリウム水和物の抗炎症作用の評価

【目的】 第 1 章において人工心肺を用いた開心術におけるメチルプレドニゾロン投与の有用性を明らかにすることはできなかった。人工心肺材料と血液との表面接触は過剰な好中球の活性化を引き起し、好中球エラスターゼなどの蛋白分解酵素を誘導する。これらの反応は呼吸不全や臓器障害の要因の一つとなっている。そこで、白血球遊走阻害薬であるフザブラジブナトリウム水和物を予防的に投

与し、その炎症反応抑制効果を評価した。

〔方法〕2020年9月から11月までに僧帽弁修復術を実施した体重3.5kg以上の犬を対象とした。フザプラジブ群(n=9)とコントロール群(n=9)に振り分け、薬剤使用に対しては二重盲検法をとった。それぞれ、麻酔導入時にフザプラジブナトリウム水和物、0.9%生理食塩水を静脈内投与し、その後4日間連続投与した。血液サンプルとして総白血球数および血漿中C反応性タンパク濃度、IL-6、IL-8、IL-10測定を第2章と同様のタイミングで行った。総白血球数および血漿中C反応性タンパク濃度測定については術後96、120時間まで実施した。

〔結果〕患者背景および麻酔時間、人工心肺時間、大動脈遮断時間に差は認められなかった。また、総白血球数およびIL-6、IL-8、IL-10に有意な差を認めなかった。血漿中C反応性タンパク濃度は術後120時間後にコントロール群で有意に低値を示した。好中球/リンパ球比はフザプラジブ群で低値を示したものの、有意な差は認められなかった。血漿中フザプラジブナトリウム濃度は術後12時間で最低有効血中濃度を下回る症例がいた。

〔小括〕本研究では、人工心肺使用に対する抗炎症薬としてのフザプラジブナトリウムの有用性を明らかにすることはできなかった。重症疾患モデルに対しては臨床用量よりも高濃度での投与で薬効を示すことが確認されている。そのため、今後はフザプラジブナトリウム水和物の用法用量を検討する必要があると考えられた。

【総括】

本研究は犬の人工心肺を用いた僧帽弁修復術における周術期炎症反応の解明およびその抗炎症療法の確立を目的とした。

本研究の結果からはコハク酸メチルプレドニゾロンによる僧帽弁修復術後の総白血球数および血漿中C反応性タンパク濃度の抑制効果は認められなかった。今回の投与量では炎症反応を抑制することはできなかったと考えられる。投与量に比較検討や他の炎症指標の検討が必要である。また、術後30日以内死亡した症例は全てMP群であり、死因は全症例急性呼吸不全であった。しかしながら、術後合併症との関連性については症例数を増やし、更なる研究が必要である。

血中サイトカイン濃度は術前と比較し術後3時間から高値を示し、血漿中C反応性タンパク濃度は術後24、48時間で有意に高値となることが明らかとなった。人工心肺後から血中サイトカイン濃度が上昇し、総白血球数および血漿中C反応性タンパク濃度は術後も高値が続くことから、人工心肺開始前には抗炎症薬を投与し、術後も継続して抗炎症薬を投与することが望ましいと考えられた。

さらに、白血球遊走阻害薬であるフザプラジブナトリウム水和物の炎症反応抑制効果を評価した。本研究では、ベットサイドで評価可能な総白血球数および血漿中C反応性タンパク濃度に加え、血中サイトカイン濃度を測定したが人工心肺使用に対する抗炎症薬としてのフザプラジブナトリウムの有用性を明らかにすることはできなかった。血漿中フザプラジブナトリウム濃度は術後12時間で最低有効血中濃度を下回る症例がいた。そのため、今後はフザプラジブナトリウム水和物の用法用量を検討

する必要があると考えられた。

本研究の成果は、犬の人工心肺使用時の血中サイトカイン濃度の推移が明らかとなり、その挙動を抑制するための抗炎症薬の投与時期の推察に貢献するものであると考えられる。今後は各種抗炎症薬の投与量の比較検討を行うとともに術後合併症や死亡率との関連性について研究を進める。

論文審査の結果の要旨

1. 論文内容

心臓手術での人工心肺の使用は全身性炎症反応を引き起こし、術後の死亡率や合併症発生率を増加させる要因となる。炎症反応を抑制することは手術後の良好な回復につながり、治療成績向上のために重要であると考えられる。近年、犬の僧帽弁疾患に対して人工心肺を用いた開心術が行われるようになってきたが、周術期炎症反応およびその制御に関する報告は少ないのが現状である。そこで申請者は、犬の人工心肺下開心術周術期の炎症反応を明らかにするとともに、炎症反応の薬物による制御について検討を行った。

第一章では、抗炎症薬として一般的に使用されている合成副腎皮質ホルモン薬コハク酸メチルプレドニゾロン (MP) の犬人工心肺下僧帽弁修復術周術期投与の有用性を回顧的研究で検討した。その結果、MP 投与群 24 症例中 3 症例が術後 30 日以内に死亡しており、全例が急性呼吸不全がその原因であった。MP 非投与群ではこのような事象は認められなかった。

第二章では、周術期の炎症反応を調査した。術前と比較すると、術後では総白血球数や血漿中 C 反応性タンパク濃度 (CRP)、IL-6、IL-10 は高値を示した。この結果より、手術侵襲に加えて人工心肺で炎症がさらに進んでいる可能性が明らかとなった。

第三章では、合成副腎皮質ホルモン薬とは異なり、白血球遊走阻害作用で抗炎症作用を発揮するフザプラジブナトリウム水和物 (FZP) の周術期投与の有用性・安全性を検討した。その結果、炎症性サイトカインや CRP、白血球数の抑制は認められなかったものの、安全性に特段問題となる事情は認められなかった。

本研究では、犬人工心肺下僧帽弁修復術の周術期における炎症反応の経時的推移とともに、FZP の周術期投与の安全性について明らかにした。これらの成果は、犬人工心肺時の薬物による炎症反応制御に関する研究の礎となり、今後の小動物獣医循環器学分野の発展に貢献する知見である。

2. 論文審査

1) テーマの立て方

申請者は、循環器科を専門とする獣医師として、犬人工心肺下僧帽弁修復術を実施している。本研究

では、今まで不明であった手術時炎症反応に着目し、薬物による炎症制御法の提案を試みている。小動物臨床上の課題とその解決方法について明確なテーマが設定されている。

2) 研究の背景

僧帽弁閉鎖不全は、犬の心臓病として最も多い疾患であり、循環動態の悪化により運動不耐や肺水腫を引き起こし、死に至らしめることもある。循環動態改善・悪化抑制を目的とした継続的な薬物療法がある一方で、近年、人工心肺下僧帽弁修復術が行われるようになってきた。手技の向上や道具の改良により手術成績は向上しているものの、周術期の炎症反応やその制御の有用性については明らかになっていないのが現状であった。

3) 研究の方法

第一章では、MP の有用性について、JASMINE どうぶつ循環器病センターで人工心肺下僧帽弁修復術を実施した臨床症例の手術時のパラメータと予後に着目して回顧的研究を実施した。

第二章では、人工心肺症例の周術期の炎症反応を CRP やサイトカイン、白血球数を測定しこれらの経時的推移を明らかにした。

第三章では、FZP の人工心肺下僧帽弁修復術における有用性を、上述の炎症パラメータに着目して、FZP 非投与群を設けて盲検比較試験にて評価した。

4) 研究の結果

第一章では、回顧的研究として人工心肺下僧帽弁修復術を実施した症例の予後を、MP 投与群とコントロール群に分けて調査した。その結果、MP 投与群 24 症例中 3 症例が急性呼吸不全で死亡していたが、コントロール群 (n = 26) では、死亡例はなかった。

第二章では、人工心肺下僧帽弁修復術対象の 5 症例で周術期の炎症反応を調査した。術前に比べ、CRP は術後 24、48 時間で高値を示し、IL-6 および IL-10 は術後 3 時間で高値を示した。また総白血球数は術後 3 時間で高値を示した。手術侵襲に加えて人工心肺で炎症がさらに進んでいる可能性が示唆された。

第三章では、周術期炎症反応に対する FZP の効果を評価した。第二章の結果より、炎症反応は手術開始後少なくとも 48 時間は持続することが明らかになったため、FZP は臨床用量を、麻酔導入時と術後 4 日まで 1 回/日反復投与した。その結果、炎症性サイトカインや CRP、白血球数の反応は抑制されなかった。また FZP 血中濃度は、薬効濃度術後に下回る時間があった。安全性は、臨床徴候観察から問題はなかった。

適切な臨床症例数を用いて、適切に統計処理している。

5) 考察と結論

本研究は犬の人工心肺を用いた開心術における周術期炎症反応の解明およびその抗炎症療法の有用性評価を目的とした。

本研究の結果より、人工心肺下僧帽弁修復術症例において 30 日以内に死亡したのは全て MP 群で、死因は全症例急性呼吸不全であった。術後合併症との関連性については、症例数を確保した更なる研究が必要である。

人工心肺後から血中サイトカイン濃度が上昇し、CRP および総白血球数濃度は術後も高値が続くことから、人工心肺開始前には抗炎症薬を投与し、術後も継続して抗炎症薬を投与することが望ましいと考えられた。

この結果をもとに白血球遊走阻害薬 FPZ を麻酔導入時に投与し、その後 4 日間反復投与することで炎症反応抑制効果を評価した。ベットサイドで評価可能な CRP、総白血球数に加え、血中サイトカイン濃度を測定したが、FPZ の有用性は明らかにできなかった。血漿中 FPZ 濃度は最低有効血中濃度を下回る時間帯もあったため、体外循環症例では一般症例とは異なる用量を検討する必要があると考えられた。

本研究により、犬の人工心肺使用時の炎症反応の推移が明らかとなった。これは抗炎症薬の有用な投与時期の推定に貢献するものである。今後は各種抗炎症薬の投与量を含めた比較検討を行うとともに、術後合併症や死亡率との関連性について研究を進める必要がある。

6) 参考論文

本論文では、研究の背景や結果の考察、展望等について適切な内容の参考文献が適切に引用されている。

3. 審査結果

博士論文の内容や獣医循環器病に関する専門的知識および国際学会発表の経験や発表会での質疑応答に対する適切な対応を考慮すると、申請者は博士としての専門知識を十分に有することが認められる。犬人工心肺下僧帽弁修復術における炎症反応の推移を明らかにした点や、有効投与量は今後の課題であるものの FZP の安全性を明らかにできた点は、獣医学上、また小動物臨床において意義ある業績として高く評価できることから、博士（獣医学）の学位を授与するのに相応しいと判定した。