

## 論 文 内 容 要 旨

Peritoneal lavage with hydrogen-rich saline can be  
an effective and practical procedure for acute  
peritonitis

(水素含有生理食塩水による腹腔内洗浄は、急性腹膜炎において、効果的かつ実用的な治療法になり得る)

Surgery Today,2021,in press.

主指導教員：大段 秀樹教授  
(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：田邊 和照教授  
(医系科学研究科 成人健康学)

副指導教員：小林 剛准教授  
(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

佐田 春樹

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

序論：

急性腹膜炎は未だ致命的疾患であり、死因の多くは敗血症が引き起こす多臓器不全である。その機序には様々な因子が関与するが、その中でも活性酸素が引き起こす酸化ストレスが治療標的として注目されている。2007年に大澤らが、水素分子が生体内で障害性の高い活性酸素種を選択的に還元すると報告して以降、水素ガスの吸入、水素含有生理食塩水の飲水や腹腔内注入の効果が報告され、敗血症に対しても有望な治療法と考えられている。一方で、水素の投与方法には課題を要している。腹膜炎の治療には手術を要することが多く、その際には腹腔内洗浄を行うことが多い。そこで、我々は、水素をより導入しやすい方法として水素含有生理食塩水で腹腔内洗浄を行うことが有効かつ安全であるかを検討した。

方法：

- ① 短時間で高濃度の水素含生理食塩水の精製器の作成。
- ② 水素含有生理食塩水の急性腹膜炎に対してラットを用いた有効性の検討と、ミニブタを用いた安全性と実用性の検証。

A)ラット：盲腸結紮穿刺により腹膜炎を誘発し、通常の生理食塩水洗浄グループ(NS群)と水素含有生理食塩水洗浄グループ(HRS群)に分け比較する。盲腸結紮穿刺は盲腸壁を18ゲージの針で4回穿刺することで重症敗血症とする。閉腹後6時間で、壊死盲腸を切除し、腹腔内洗浄を40 mLの温かいNSまたはHRSで行い、腹腔内に10 mlのNSまたはHRSを満たした後、閉腹する。

評価項目

- 1) 生存期間
- 2) 閉腹後3時間における
  - a) 肝腎機能障：AST, ALT, BUN, Cre および病理学的所見
  - b) 抗酸化効果：尿中8-OHdG
  - c) 抗炎症効果；腹膜洗浄の3時間後のWBC, PLT, TNF- $\alpha$ , IL-6
  - d) 抗アポトーシス効果；免疫染色によるBcl-2(腎・肝)およびBax(腎)の発現

B)ミニブタ：2頭使用し、盲腸穿孔にて腹膜炎を誘発する。開腹し、回盲弁の下の盲腸壁に5 cmの切開を行う。腹腔内に戻し、圧迫して糞便物質を腹腔内に押し出した後、閉腹。1時間後、再開腹し、穿孔した盲腸を除去する。腹腔内洗浄を4 LのNSとHRSで行った後に、1 LのNSまたはHRSを腹腔内に残し閉腹し、6時間循環動態をモニターする。

評価項目

- 1) 循環動態：心電図、動脈圧、酸素飽和度、尿量、および心拍数
- 2) 動脈血ガス測定：1時間ごとのpH, PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>
- 3) 抗酸化効果：尿中8-OHdG

統計分析：データは平均±標準偏差とし、すべての統計分析は、JMPを使用した。

結果：

① 水素含有生理食塩水の準備

水素ガスを高圧（0.15 Pa）の水に過飽和レベルまで溶解させて、2時間で水素含有生理食塩水5Lを生成する装置を開発し、その水素濃度の平均は0.93 ppmであった。

② ラット：

生存期間：HRS群で腹膜炎後の生存期間が有意に延長した(HRS vs NS; median survival: HRS 30時間 vs NS 9時間; p=0.012)。

肝腎機能障害：HRS群で肝腎機能障害を抑制した(HRS vs NS; AST 429.75±84.49 U/L vs 707.25±186.41 U/L, p<0.048、BUN 32.38±16.12 mg/dL vs 65.75±23.68 mg/dL, p=0.048、Cre 0.30 ± 0.05 mg/dL vs 0.49 ± 0.13 mg/dL, p = 0.030)。

組織病理学的分析：NS群では空胞化を伴う肝細胞変性や、急性尿細管壊死として近位尿細管に高好酸球性物質を認めた。

抗酸化効果：HRS群の尿中8-OHdGはNS群よりも有意に低かった（HRS vs NS; 4.8±2.5 vs 10.3±3.9 pg/kg/h, p = 0.023)。

抗炎症効果：HRS群でTNF-αで有意な減少が見られた（HRS vs NS; 44.6 ± 4.1 vs 66.1 ± 5.8 pg/mL, p=0.027)。

抗アポトーシス効果：HRS群は腎にてBcl-2の発現が上昇し、腎および肝におけるBaxの発現を減少させた。(HRS vs NS ; 中等度以上の発現比率 Bcl-2 : 腎 27.6±8.0% vs 14.4±6.4%、p=0.009, Bax : 腎 : 16.0±2.8 % vs 25.6 ± 9.0%, p=0.009、肝臓 : 2.3±0.9 % vs 8.0±3.7%, p=0.009)。

ミニブタ：循環動態、血液ガス分析は同様の推移を示した。

考察：

HRSによる腹腔内洗浄は急性腹膜炎における、1) 生存率の向上、2) 肝不全および腎不全に対する保護効果、3) 抗酸化作用、抗炎症作用、および抗アポトーシス作用を認めた。さらに、大型動物（ミニブタ）モデルで実行可能で循環動態に影響を与えないことを確認した。現在、水素は腹膜透析および血液透析、飲用、静脈内およびガス吸入によるヒト臨床研究が行われている。今後、我々は腹膜炎に対するHRSによる腹腔内洗浄が、ヒトに応用できるか、さらなる臨床試験が必要と思われる。