

令和元年6月9日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K20044

研究課題名(和文) 虚血心不全への筋芽細胞シート移植に対する麻酔薬の影響

研究課題名(英文) The effect of anesthetics on myoblast sheet transplantation for ischemic heart failure.

研究代表者

岩崎 光生 (Iwasaki, Mitsuo)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：80528365

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：ラットの冠動脈左前下行枝を結紮し、虚血性心不全を導入した。重症心不全群とコントロール群に各種麻酔薬を投与し、心室圧容量曲線測定による心機能の比較、アドレナリンの静脈内投与により発生する心室性期外収縮(VPC)数を比較した。心不全導入により全ての麻酔薬でVPC数が多くなったが、イソフルランによる麻酔維持を行った群で最もVPC数が少なかった。心機能の評価は冠動脈結紮による心不全の程度の差のコントロールに難渋した。対照群における循環動態データにばらつきが大きく手術手技や解析方法の修正を行ったが改善できず、研究期間内に心不全ラットに対する筋芽細胞シート移植の効果を確認することができなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回、プロポフォルで麻酔を維持した場合と比較して、イソフルランによる麻酔維持は重症心不全ラットにおいてアドレナリン投与により誘発されるVPC数を有意に低下させていた。重度の心不全患者が非心臓手術を受ける場合や、心不全に対する治療として左室補助装置の装着や筋芽細胞シートを移植する場合に、吸入麻酔薬は不整脈の発生頻度を減少させ、安定した循環動態をもたらすと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The left anterior descending artery of rat coronary artery was ligated to introduce ischemic heart failure. Various anesthetics were administered to the severe heart failure group and the control group, and cardiac function was compared by measuring ventricular pressure volume curves, and the numbers of ventricular premature contractions (VPC) generated by intravenous administration of adrenaline were compared. Although heart failure induction increased the number of VPCs with all anesthetics, the number of VPCs was the lowest in the group that maintained anesthesia with isoflurane. To evaluate cardiac function, it was difficult to control the difference in the degree of heart failure due to coronary ligation. Due to large variability in hemodynamic data in the control group, the surgical procedure and analysis method were modified but could not be improved, and the effect of myoblast sheet transplantation for heart failure rats could not be confirmed within the study period.

研究分野：麻酔科学

キーワード：麻酔 循環器 移植 再生医療

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢化に伴って、虚血性心疾患などによる心不全患者は増加している。それに伴って心不全患者に非心臓手術の麻酔管理を行う機会も増加している。重症心不全患者においては周術期の心機能の低下および血中カテコールアミンの増加・心臓の易刺激性による不整脈の発生が問題となる。

重症の心不全に対する根本的な治療は心臓移植となるが、ドナーの不足のためその適応は限られている。左室補助人工心臓(LVAD)についても、コストや合併症、患者のQOL低下などの問題点が少なくない。重度の心不全に対する心臓移植やLVAD装着以外の手段として近年、筋芽細胞シート移植による心機能の回復が試みられるようになりつつある。

筋芽細胞シート移植による心機能の回復のメカニズムとして、hepatocyte growth factor(HGF)、vascular endothelial growth factor(VEGF)による心筋の再生が考えられている。実際、HGFやVEGF合成を促進するプロスタサイクリン作動薬を投与すると心筋の繊維化が減少し、心機能が維持されることが示されている。筋芽細胞シート移植の際には骨格筋の採取・筋芽細胞シートの移植と2回の手術が必要であり、その際に全身麻酔薬の使用が必要となる。また、重度の心機能低下を伴う症例では術後も集中治療室で鎮静薬が使用される。そのため筋芽細胞シート移植に対する麻酔薬や鎮静薬の影響を評価することは極めて重要であると考えられる。

全身麻酔薬セボフルランについては心筋虚血に対する保護的プレコンディショニング作用を有することが知られており、そのメカニズムの1つとしてVEGFの賦活が考えられている。鎮静薬として使用されるミダゾラムはp44/p42 MAP kinaseとSAPK/JNKを活性化することでVEGFの放出を促進すると報告されている。最近鎮静薬として頻用されるデクスメドミジンはイミダゾリン受容体からPI3K/Akt経路を介してVEGFを賦活し、低酸素・低血糖から細胞を保護することが報告されている。以上の情報からも周術期に使用する麻酔鎮静薬の選択により、筋芽細胞シート移植の効果が影響を受ける可能性があると考えられることができる。

2. 研究の目的

心筋梗塞後の心不全患者の麻酔管理においては麻酔薬の心機能および不整脈への影響を把握することが重要になる。また、このような重症心不全に対する治療として筋芽細胞シートの移植を行う機会が増えてきたが、筋芽細胞シートの効果に対して手術中に用いる麻酔薬が与える影響に関してはこれまで報告が皆無である。

本研究の目的は心筋虚血により心不全を導入したラットを用い、各種麻酔薬の投与下での心機能および不整脈誘発閾値を比較すること、次に筋芽細胞シート移植時に使用する麻酔薬が術後の心機能に与える影響を評価することである。本研究で得られる情報により心不全患者に対する安全な麻酔法を確立するとともに、筋芽細胞シートを始めとする再生医療に対し理想的な麻酔方法を行うことができるように臨床に活用していく。

3. 研究の方法

生後8週ラットをセボフルランの吸入によって緩徐導入した後、挿管・人工呼吸とした。開胸後に冠動脈の左前下降枝を確認し、これを結紮することで心筋梗塞を起こし、虚血性心不全を導入した。同様に開胸手術を行ったが冠動脈の結紮を行わなかったラットをコントロール群とした。手術後は覚醒・抜管し、手術から2週間後に心臓超音波検査で左心室駆出率を計測した。虚血性心不全を導入したラットのうち、駆出率50%以下のものを重症心不全群と定義し以後の実験に使用した。コントロール群ではすべてのラットにおいて駆出率が70%以上であった。虚血心不全群とコントロール群をそれぞれセボフルラン・イソフルラン・プロポフォルで麻酔を維持するグループに分けた。

不整脈誘発閾値を検討するため、これらのラットの尾静脈に24G静脈カテーテルを挿入し、アドレナリン10 μ g/kgを静脈内投与することで不整脈を誘発し、投与後3分間以内に発生した心室性期外収縮の数を測定し比較した。

詳細な心機能の評価のために、各群のラットの左心室内にコンダクタンスカテーテルを留置し、圧容量曲線を描出することによって左室拡張末期血圧や駆出率、左室圧最大変化率(dp/dt max)などの左心機能を評価した。

4. 研究成果

まず心不全モデルを作成し、心不全の程度についての基礎データを得るため冠動脈の左前下行枝を結紮し、虚血性心不全を導入した。虚血導入後2週間の時点で駆出率を測定し心不全の程度を評価した。60匹のラットについて左前下行枝の結紮を結紮したところ、20匹のラットが手術から1日以内に致死性不整脈を起こして死亡した。2週間後に駆出率が50%以下になったものが27匹で、これを重症虚血性心不全群と定義した。駆出率が50%を超えたものは13匹であり、

これを軽症虚血性心不全群と定義した。軽症虚血性心不全群では左前下行枝の結紮にもかかわらず2週間後の駆出率は $61.9 \pm 9.5\%$ と、コントロール群(開胸手術は行ったが冠動脈結紮を行わなかったラット)とほぼ同程度であり、明らかな心不全徴候を示さない個体がほとんどであった。

以後駆出率が50%以下に低下した重症虚血性心不全群について催不整脈性・心機能を評価し、対照群と比較することとした。

アドレナリン $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ を静脈内投与した際の不整脈発生数について使用した麻酔薬ごとに比較した。セボフルランで麻酔を維持した場合、コントロール群では不整脈数は 4.5 ± 2.1 、重症虚血性心不全群では 19.2 ± 10.5 となり、イソフルランで維持した場合はコントロール群では不整脈数は 0.83 ± 0.68 、重症虚血性心不全群では 8.6 ± 4.6 となった。プロポフォールで維持した場合はコントロール群では不整脈数は 11 ± 1.63 、重症虚血性心不全群では 17.8 ± 10.1 であった。

(図)

対照群においてはイソフルラン麻酔において不整脈発生が最も少なかった。全ての麻酔方法で重症虚血性心不全群において不整脈が多くなる傾向があったが、麻酔薬間の比較ではイソフルランを用いた場合に重症虚血性心不全群ラットでアドレナリン投与により誘発される不整脈数が有意に少なかった。

麻酔導入によりアドレナリン投与によって催不整脈性を評価する前に死亡するラットもすくなくなかった。特に重症虚血性心不全群のラットをプロポフォールで麻酔維持した場合は、アドレナリン投与によって急激に心不全、肺水腫をきたして不整脈を評価する前に死亡するものも見られた。

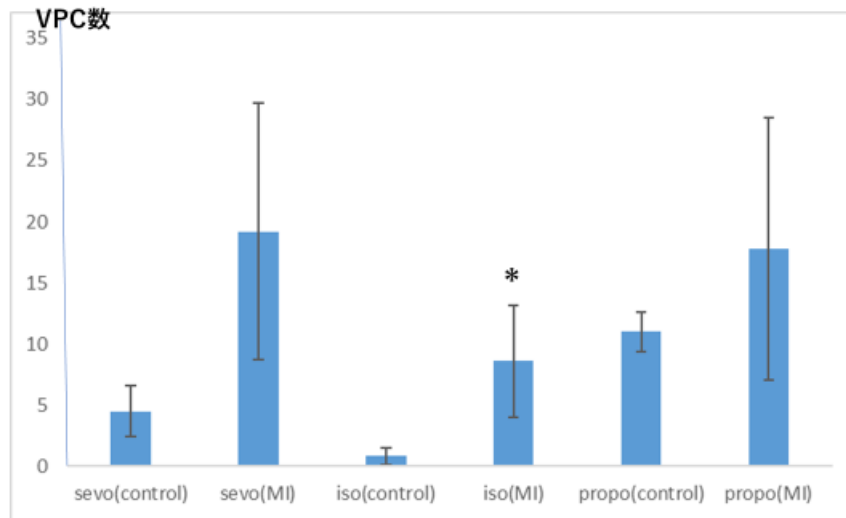
左前下行枝を結紮しても軽度の虚血に留まるラット、虚血が重症過ぎてすぐに死亡するラットの比率が多く、左前下行枝結紮から2週間後に重症虚血性心不全群として評価できるラットの数を増やすことに難渋した。また、重症虚血性心不全ラットの心機能データについても極めてばらつきが多く、次の段階(筋芽細胞シートや各種薬剤の効果の判定)に進むにはデータのばらつきをコントロールする努力を行うことが必要と考えた。

そのため手術手技や心機能の評価法の修正等を試みたが難渋し、十分に改善することができなかった。パワーアナリシスにより重症虚血性心不全ラットにおける各種治療の効果を判定するためには必要となるラットの数に極度に多くなることが示唆されたため、次段階である筋芽細胞シート移植の効果を研究期間内に確認することはできなかった。

今後は重症虚血性心不全における不整脈発生データをもとにイソフルラン麻酔の優位性のメカニズムを検討し、報告を行う予定である。またプロポフォール麻酔の際の肺水腫や重症心不全発生の機序を究明することなどにより重症虚血性心不全患者の手術麻酔管理に関する重要な情報を集積してゆこうと考えている。

今回の研究を進める上で、循環動態データの比較を主柱とする本研究の遂行には循環動態に有意な影響を与えるのに十分大きな梗塞巣を得るのみならず、その梗塞の大きさを可能な限り均質にする必要があることを痛感した。ラットの冠動脈はブタなどの大動物に比べ、側副血行路や解剖学的な個体差が多く、同じ部位の冠動脈を結紮しても梗塞巣の大きさに差が出やすい傾向にあると言われている。現在、冠動脈結紮時に心臓超音波検査をリアルタイムに行って心臓の動きを評価し、必要に応じて結紮を追加するなどにより安定した重症虚血性心不全モデルを完成させる試みを模索している。動物種としては次のステップに進むためにはラットが望ましいが、手術手技改善の試みにもかかわらず循環動態のデータのばらつきが制御できない場合には他の動物種で同様の研究を行うことも合わせて検討している。

図：各種麻酔薬投与下でのアドレナリン誘発性不整脈発生数とそれに対する重症虚血性心不全の影響 (sevo: セボフルラン、iso: イソフルラン、propo: プロポフォール、control: 対照群、MI: 重症虚血性心不全群)



* $p < 0.05$ compared with sevo(MI) group and propo(MI) group

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者
研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。