

令和元年6月10日現在

機関番号：13802

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20090

研究課題名(和文)人工心肺によるレミフェンタニルの蛋白結合率変化による薬物動態学的変化

研究課題名(英文)The change of protein binding rate of remifentanil during cardiopulmonary bypass

研究代表者

植田 広(Ueda, Hiroshi)

浜松医科大学・医学部附属病院手術部・助教

研究者番号：40748498

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：人工心肺によるレミフェンタニルの蛋白結合率の変化を測定することが本来の研究における主な課題であったが、実際には測定において予期せぬ様々な問題点が判明し、蛋白に結合していないレミフェンタニルを平衡透析で適切に分離する条件の模索がこの期間の主な活動となった。レミフェンタニルの分解抑制のために添加した50%クエン酸が最も大きな障害であったと考え、クエン酸を添加せず測定を行う事とした。本期間には人工心肺によるレミフェンタニルの蛋白結合率の変化を測定するまでには至らなかったが、測定上の問題点が解決したため、今後の臨床使用におけるレミフェンタニルの蛋白結合率を測定する研究へとつなげる事が可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人工心肺使用時におけるレミフェンタニルの蛋白結合率は未だ報告がなく、実臨床における蛋白結合率については報告されていない。手術中のオピオイドが手術後の痛覚過敏や、癌の再発・生命予後に対して影響を与える可能性があることも示唆されており、過剰な投与を避ける必要があると考えられる。本研究は本来の目的から外れはしたものの、レミフェンタニルを平衡透析法で蛋白非結合分画を分離するための条件を模索し、臨床使用時における蛋白結合率を測定するという次の研究に結びついた。実臨床における蛋白結合率がin vitroのデータと差があるかどうかを検証し、人工心肺時の変化の測定実現に繋がられるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Measuring changes in the protein binding rate of remifentanil during cardiopulmonary bypass was the main task in the original research. But in practice, various unexpected problems were found in the measurement, so the search for conditions to properly separate remifentanil by equilibrium dialysis was the main activity during this period. Because it was determined that 50% citric acid added to inhibit remifentanil degradation was the biggest obstacle, in remifentanil measurement, we decided not to add citric acid to first blood sample but to plasma and buffer obtained just after equilibrium dialysis. Although it did not reach to measure the change in the protein binding rate of remifentanil during cardiopulmonary bypass in this period, a study to measure the protein binding rate of remifentanil in clinical use became our next step because the problem in the measurement was solved.

研究分野：麻酔科学

キーワード：蛋白結合率 レミフェンタニル 人工心肺

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

1. 研究開始当初の背景

本邦で全身麻酔を行う際には、鎮痛目的にレミフェンタニルを持続投与することが多い。レミフェンタニルは2007年1月より本邦でも販売開始された麻薬性鎮痛薬で、血中の非特異的エステラーゼにより速やかに分解されるため長時間投与においても殆ど context half life が延長しないという薬理学的特徴から、全身麻酔時の鎮痛の中心となっている。

多くの静脈麻酔薬はさまざまな病態において薬物動態学および薬物力学的変化を来し、効果が変化する。レミフェンタニルも例外ではないが、出血性ショックではレミフェンタニルの血中濃度は上昇するものの、薬力学的にはほとんど変化しないと報告されている。我々は、出血性ショックの進行において持続投与されたプロポフォールとレミフェンタニルの変化を測定し、出血に伴い循環が破綻するまでの間、薬剤の血中濃度が有意に上昇していくことや、プロポフォールとレミフェンタニルの血中濃度が心拍出量の変化に影響を受けることを報告した。

循環動態変化の他に薬物動態を変化させる要因の一つに薬剤の蛋白結合率の変化がある。一般的に、薬物は一定の割合で血漿中の蛋白と結合しており、蛋白に結合した薬物は生体膜を通過できず標的部位に到達できないため、薬理作用は蛋白非結合薬物に依存している。出血による血行動態の変化や、輸液・輸血、感染、炎症、妊娠などは総蛋白やアルブミン値の減少、あるいは急性相反応性物質や遊離脂肪酸の放出等により蛋白結合率を変化させ、多くの場合効果が大きく増強してしまう。従って、各種病態・状態における蛋白結合率の変化は非常に重要であるが、除蛋白を行う通常の濃度測定では蛋白結合、非結合薬剤を合わせたすべての濃度を測定しており、薬理作用のある蛋白非結合の薬剤濃度の変化は不明である。

人工心肺は、リザーバーへのプライミングによる血液希釈、炎症反応に伴う分布容積の増加や、低体温による代謝の低下などにより短時間に薬物動態学的、薬力学的変化を引き起こすが、これには薬剤の蛋白結合の変化も大きく関与している可能性がある。平岡らは、人工心肺中のプロポフォールの血中濃度は大きく変化しないものの、蛋白非結合型のプロポフォールの割合は約2倍に上昇したと報告している。これは人工心肺中にはプロポフォールの鎮静作用が約2倍になることを意味している。また、海外においては術中使用されるオピオイドであるスフェンタニルの人工心肺中の蛋白結合率が報告されており、人工心肺中の蛋白非結合型のスフェンタニルの割合が人工心肺前の2~2.5倍に上昇していた。

レミフェンタニルは、in vitro では血漿蛋白結合率は71~72%、アルブミンへの結合率は14~16%、1-酸性糖蛋白への結合率は38~47%と報告されるが、人工心肺中のレミフェンタニルの血中濃度および蛋白結合率に関する報告はない。

2. 研究の目的

本研究では、平衡透析器を用いて人工心肺中のレミフェンタニルの蛋白結合率の変化を明らかにする事を目的とする。

3. 研究の方法

対象、測定項目

人工心肺による体外循環を要する心大血管手術のうち、心停止下で行う手術を受ける18歳以上、ASA PS 1~3 (American Society of Anesthesiologists physical status)の予定手術患者を対象とする。心拍動下で行う冠動脈バイパス術、循環停止とする症例、部分体外循環を行う症例は除外する。2年間で30症例を目標とする。レミフェンタニルだけではなく、併用投与されるプロポフォールの濃度および蛋白結合率変化も調べる。プロポフォールの人工心肺中の蛋白結合の変化はすでに平岡らに報告されているが、レミフェンタニルと同時測定されたものではなく、本実験では同一患者での両薬剤の比較が可能になる。後述するタイミングで採血し、レミフェンタニルおよびプロポフォールの血中濃度、蛋白結合率を測定する。また、平衡透析器を用いてそれぞれの蛋白結合率を測定する。レミフェンタニル、プロポフォール濃度の他、各採血ポイントにおけるアルブミン、総蛋白、1-酸性糖蛋白、リポ蛋白、遊離脂肪酸の測定も同時に行う。検体採取に当たっては、その時の体温も記録する。

麻酔導入・維持

麻酔導入はミダゾラム、レミフェンタニル、ロクロニウムで行う。執刀時からプロポフォールを2mg/kg/hで持続開始する。術中の麻酔は吸入麻酔薬を併用し、脳波を基にした麻酔深度モニタであるBIS (BIS: Bispectral Index) やPSI (PSI: Patient State Index) を指標に、BIS値が40~60またはPSI30~50となるように麻酔深度を調整する。人工心肺の前後はドパミンもしくはノルアドレナリンを使用し、心係数を2.0以上に保つようにする。併用する麻薬はモルヒネおよびフェンタニルとし、血行動態の変化を見ながら追加投与を行う。測定対象となるレミフェンタニルは胸骨縦切開が終わったところで0.2µg/kg/分に固定する。また、中心静脈確保後は、レミフェンタニルとプロポフォールは中心静脈カテーテルからの投与に切り替える。

血液検体採取・処理

検体採取は全経過を通じて橈骨動脈ラインから行う。血液検体採取のタイミングは以下の通りとする。ヘパリン投与前もしくはレミフェンタニル投与速度固定後30分(T1)、ACT測定用の血液採取の際(T2)、人工心肺による体外循環開始直後(T3)、5分後(T4)、15分後(T5)、30分後(T6)、60分後(T7)、人工心肺終了時(T8)、人工心肺終了30分後(T9)、60分後(T10)。

プロポフォル用、レミフェンタニル用それぞれ全血中濃度用と蛋白非結合薬剤用を別々に2mlずつ採取する。レミフェンタニルの血液内代謝を抑制するために、採血用シリンジには0.5%クエン酸を40 μ l添加しておく。検体は遠心分離し血清のみを-20℃で凍結保存する。レミフェンタニルは質量分析、プロポフォルは高速液体クロマトグラフィーを用いて測定する。平衡透析法を用いて、蛋白非結合レミフェンタニルおよびプロポフォルを分離し、同様に濃度を測定する。

平衡透析では、小さな孔のあいた透析膜で隔てた2つの容器の一方に測定対象の薬剤の入った検体を入れ、もう一方には溶媒のみを入れておく。孔の大きさは他の物質に結合していない遊離型の薬物だけが通過できる大きさにする。遊離型の薬物は濃度勾配に従って孔を通過し両容器の薬剤濃度が平衡に達する。この時の溶媒側の容器内の薬物濃度を測定することで、蛋白非結合型の薬物濃度を測定する。今回測定予定の薬剤の分子量はレミフェンタニル、プロポフォル、でそれぞれ約413、約178、アルブミンは分子量約66000であるので、透析膜の孔は分子量10kまでのものを使用する。

4. 研究成果

人工心臓によるレミフェンタニルの蛋白結合率の変化を測定することが本来の研究における主な課題であったが、実際には測定において予期せぬさまざまな問題点が判明し、蛋白に結合していないレミフェンタニルを平衡透析で適切に分離する条件の模索がこの期間の主な活動となった。

まず平衡透析による蛋白非結合薬剤の分離が適正に行えるか検証した。そのためにすでに他の研究者による報告のあるプロポフォルの蛋白非結合分画を分離し、質量分析により薬物濃度を測定、蛋白結合率を算出してみたところ、約96~97%というデータが得られ、今までの報告とほぼ同等の結果が得られることを複数回の測定で確認した。これにより平衡透析は問題なく蛋白非結合薬剤を分離可能であると判断し、レミフェンタニルの蛋白結合率の測定に移った。

レミフェンタニルの蛋白結合率の測定も同様に総濃度を測定し、蛋白非結合濃度は平衡透析で分離して質量分析により測定した。その結果、レミフェンタニルは全て遊離している（全く蛋白結合していない）という全く予想外の結果（添付文書の記載と大きく異なる）になり、測定の過程において何か問題があるのではないかと検証していく必要性が生じるようになった。

さまざまな検証の結果、最終的に50%クエン酸の添加に原因があると判断した。レミフェンタニルは血中の非特異的エステラーゼにより容易に分解されるため、我々は以前から濃度測定の際にはこの分解を阻止するため、採血検体に速やかに50%クエン酸を混和し、検体を遠心分離して得られた血漿を用いて濃度測定を行っていた。50%クエン酸を添加すると、pHが大きく下がり、全血検体では溶血が起こる。平衡透析時に用いているリン酸バッファー1mlに50%クエン酸を10 μ l添加してpHの変化を測定してみると、pHは2.5低下した。採血した全血1mlあたり50%クエン酸を20 μ l添加していたため、pHの変化はこれ以上であることが推察される。このpHの変化が大きな影響を与えている可能性があると考え、クエン酸添加なしでの測定を行なったところ、ある程度は蛋白結合していることが判明した（添付文書の記載よりは小さな値となったが結論にはさらなる症例数が必要）。蛋白結合をしていない分画を分離するために平衡透析を行うが、この行程には少なくとも2時間程度要する。この時間経過の中でレミフェンタニルの濃度がどのように低下するかも重要であると考え、濃度変化の追跡を行なった。その結果、クエン酸なしの血漿中でのレミフェンタニルの分解速度は添付文書の数値よりも極めて緩やかである事も今回同時にわかった。120分の静置で初めの濃度の約80%、240分で約60%と、およそ直線的に緩やかに濃度が低下してゆき、添付文書上の半減期とは大きく異なった。クエン酸の添加なしに2時間平衡透析を行うと、レミフェンタニルの総濃度自体は元の80%以下程度になることが予想される。それ以上の透析時間が必要となる場合、さらに総濃度は低下すると考えられ、総濃度の低下が蛋白結合率に影響するかどうかについては今後検討が必要な課題でもある。

薬剤添付文書に記載されている蛋白結合率は *in vitro* の結果である。今回得られたデータは手術中の患者からの *in vivo* 検体であり、実臨床では結果が異なる（実際には蛋白結合率が添付文書より低い）可能性がある。本期間には人工心臓によるレミフェンタニルの蛋白結合率の変化を測定するまでには至らなかったが、測定上の問題点も解決したため、今後の臨床使用におけるレミフェンタニルの蛋白結合率を測定する研究へとつなげる事が可能となった。

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。