

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目： 基盤研究 (C)
 研究期間： 2006-2008
 課題番号： 18591707
 研究課題名 (和文) 短時間作用型 β_1 遮断薬術中投与による周術期心筋保護戦略を確立する
 研究課題名 (英文) The establishment of strategy for perioperative myocardial protection by intraoperative ultra-short-acting β_1 blocker
 研究代表者
 北畑 洋 (KITAHATA HIROSHI)
 徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・准教授
 研究者番号： 60161486

研究成果の概要：

短時間作用型 β_1 遮断薬 (交感神経の緊張を弱める薬) による心筋保護作用と各種麻酔薬の影響を動物実験と臨床において検討した。短時間作用型 β_1 遮断薬は明らかな心筋保護作用を示したが、この作用は揮発性吸入麻酔薬 (ガス麻酔薬の一種類) により部分的に減弱する可能性がある。虚血性心疾患患者においては揮発性吸入麻酔薬を用いた全身麻酔よりも静脈麻酔薬による全身麻酔中に短時間作用型 β_1 遮断薬を静脈内持続投与した方法がより安全であることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,600,000	0	1,600,000
2007 年度	900,000	270,000	1,170,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	540,000	3,940,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード： 心筋保護作用, β_1 遮断薬, 麻酔薬, ランジオロール, セボフルラン

1. 研究開始当初の背景

(1) 冠動脈疾患と β 遮断薬

虚血性心疾患やそのリスクを有する患者の周術期心合併症は未だ発生率が高く、医療経済や患者予後にとって大きな問題である。冠動脈疾患患者に対する β_1 遮断薬投与が死亡率や心合併症を減少させるエビデンスにより、急性冠症候群や心筋梗塞既往患者管理における β 遮断薬の使用は American Heart Association のガイドラインにも明記された。一方、経口摂取が行えない周術期には短時間

作用型 β_1 遮断薬の静脈内投与が有用と思われる。

(2) 短時間作用型 β_1 遮断薬と心筋保護

短時間作用型 β_1 遮断薬の心筋保護作用に関して基礎実験および臨床研究が欧米を中心に行われ、基礎研究においては心筋保護作用が証明されている (Kurosawa S, et al, *Can J Anesth* 50(5):489-494, 2003)。しかし臨床研究では術後投与による心保護作用を認めた研究は散見されるが、術中投与による研究は全てネガティブでその心筋保護作用は明

らかにされていない (Urban MK, et al, *Anesth Analg* 90(6):1257-61, 2000; Harwood TN, et al, *J Cardiothorac Vasc Anesth* 13(5):555-61, 1999; Neustein SM, et al, *J Cardiothorac Vasc Anesth* 8(3):273-7, 1994)。

(3) 麻酔薬と β 遮断薬

我々は各種麻酔薬の先行虚血様心筋保護作用において重要な役割をもつATP依存性Kチャンネル(K_{ATP} チャンネル)活性に関する研究を行ってきた。短時間作用型 β_1 遮断薬ランジオロールの心保護作用に対する麻酔薬の影響も検討し(平成16-17年度 科学研究費基盤研究(C) 課題番号16591545), 冠動脈閉塞モデル/狭窄モデル両者において短時間作用型 β_1 遮断薬は心筋保護作用を示し, ミトコンドリア K_{ATP} チャンネルを活性化する揮発性吸入麻酔薬セボフルラン麻酔下ではランジオロールの心筋保護作用が大きく増強されることが明らかになった。

これらの成果より過去の周術期 β_1 遮断薬投与による心筋保護作用に関する臨床研究において麻酔方法が大きく影響していると考えた。我々が着目した β 遮断薬の心筋保護作用と麻酔薬による K_{ATP} チャンネルへの作用の関連に関する研究はこの時点では国内外とも他に見あたらなかった。

2. 研究の目的

(1) 基礎実験および臨床研究

今回, ウサギ *in vivo* モデルを用いて冠動脈閉塞下に心筋梗塞範囲を測定し, 短時間作用型 β_1 遮断薬ランジオロール静脈内持続投与による心筋保護作用に対する揮発性吸入麻酔薬セボフルランの麻酔維持ではなく早期および遅延期心筋保護作用(anesthetic-induced preconditioning)の影響を血行動態変化の関与を除いた条件下で検討する。

続いて術中心筋虚血モデルとして最適な心拍動下冠動脈バイパス術患者において基礎実験と同様に麻酔薬による血行動態変化の関与を除外した条件下で, 短時間作用型 β_1 遮断薬の術中静脈内持続投与による心筋保護作用に対する麻酔薬による影響を心筋代謝(トロポニンI, CK-MB等), 経食道心エコー法による局所壁運動および心電図ST-Tトレンド解析から評価する。

(2) 短時間作用型 β_1 遮断薬による治療戦略

β 遮断薬による心筋保護作用に関する研究は膨大にあるが, その保護作用と麻酔薬の関係についての研究は欧米を通じて見あたらず, 特に臨床での検討は皆無である。 β 遮断薬の心筋保護作用と麻酔薬による K_{ATP} チャンネルへの作用の関連を明らかにすることにより, 短時間作用型 β 遮断薬の麻酔中静脈内投与が臨床においても心筋保護作用を有す

ることを証明する。欧米と比較して日本では内科領域においても β 遮断薬の使用頻度が低いことが指摘されているが, 短時間作用型 β 遮断薬の心筋保護作用を解明できれば, リスク患者において周術期心筋虚血や心筋梗塞に対する予防的な術中投与が臨床応用可能になる。以上により虚血性心疾患リスク患者に対する短時間作用型 β_1 遮断薬術中予防投与を含めた治療戦略を発展確立させることを最終目的とする。

3. 研究の方法

(1) 冠動脈閉塞モデルによる基礎実験

週齢15週, 体重2.35-3.61kg(平均2.87 \pm 0.34 kg)の日本白色種ウサギ(雄)37羽を対象とし, コントロール群, 遅延期セボフルラン群(遅延期S群), 遅延期セボフルラン+ランジオロール群(遅延期S+L群), 早期セボフルラン群(早期S群), 早期セボフルラン+ランジオロール群(早期S+L群)の5群にランダムに振り分けた。

遅延期S群および遅延期S+L群は虚血24時間前にセボフルラン0.5 MACを30分間吸入させ24時間の回復期間をおいた。

全群ともに先行虚血様作用に影響を及ぼさないことが確認されているs(+)-ketamine (50 mg/kg), xylazine (5 mg/kg) 筋肉内投与にて麻酔導入した。気管切開後, 内径4.0 mmの気管内チューブを挿入し100%酸素にてレスピレーター(New England Medical Instruments Inc., Model 122)を用いて人工呼吸を行い $PaCO_2$ 35-40 mmHgになるよう換気を調整した。右内頸静脈にカニューレーションを行い, 乳酸加リンゲル液を15 ml/kg/hrの速度で輸液した。続いて右総頸動脈より胸部上行大動脈に圧測定および採血用のカニューレを挿入した。麻酔維持はs(+)-ketamine (5 mg/kg/hr), xylazine (1 mg/kg/hr) 静脈内持続投与で行い vecuronium (0.2 mg/kg/hr)にて筋弛緩を得た。第4または第5肋間にて左開胸後, 左冠動脈回旋枝の鈍縁枝(左室前側壁の冠動脈枝)に冠動脈閉塞用のターニケットを装着し, 冠動脈閉塞, 再灌流できる虚血心モデルを作成した。 CO_2 呼気終末濃度(フクダ電子, HC-510)および食道温(テルモ, CTM-303)を連続モニターし, 食道温37-38°Cを維持するように温水ブランケットを用いて調節した。さらに胸部上行大動脈に挿入したカニューレに圧トランスデューサ(ベクトン・ディッキンソン, Model DT-NN)を接続し, ブリッジアンプ(AD Instrument社, QUAD bridge, ML118)を介して, 心電図信号(AD Instrument社, BIO Amp, ML132)とともにアナログ/デジタルコンバーター(AD Instrument社, Power Lab/8s)を通じてデジタル化しパーソナルコンピュ

ータ (IBM, 390X) に取り込んだ。

外科操作終了 30 分後に Baseline の血行動態を測定した。Baseline 測定後、遅延期 S+L 群および早期 S+L 群においてランジオロール 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ で静脈内持続投与を開始し、実験終了まで投与を持続した。早期 S 群および早期 S+L 群は虚血 60 分前よりセボフルラン 0.5 MAC を 30 分間吸入し、30 分間洗い出し期間をおいた。各 5 群ともに左冠動脈回旋枝の鈍縁枝 (左室前側壁の冠動脈枝) を 30 分間閉塞、続いて 180 分間再灌流を行い、以下のポイントで一般血行動態を測定した。

- ① 外科的処置 30 分後 / 左冠動脈回旋枝の鈍縁枝閉塞 60 分前 (Baseline)
- ② 閉塞直前
- ③ 閉塞 30 分後 (再灌流直前)
- ④ 再灌流 60 分後
- ⑤ 再灌流 120 分後
- ⑥ 再灌流 180 分後

実験終了後、心筋梗塞危険領域を同定するため再び左冠動脈鈍縁枝を閉塞し右内頸静脈から 10% Evans blue を眼球結膜が青染されるまで (総量 4 ml 以下) 注入した。心臓を摘出後 heart matrix を使用して 2 mm 幅の横断スライスを作成し、心筋梗塞範囲を同定するため pH 補正した 37°C の 1% triphenyl-tetrazolium chloride で 20 分間攪拌し染色した。Tetrazolium は脱水酵素存在下に還元型ニコチンアミドアデニンヌクレオチド

(NADH) と反応し、生存組織を深紅色に染める、一方壊死組織は薄黄色のままになる。染色後、10% ホルマリン液で固定し、青く染まった非心筋梗塞危険領域、深紅色の生存領域、薄黄色の心筋梗塞領域に注意深く分離した。十分な乾燥後に各領域の重量を測定した。以上より心筋梗塞領域重量、梗塞危険領域重量および全左室重量をそれぞれ求め、梗塞領域 / 梗塞危険領域重量比、梗塞危険領域 / 全左室重量比を算出した。

各数値は平均値 \pm 標準誤差で表し、統計学的検討は繰り返しの分散分析 (ANOVA) で行い、各ステージ間および群間の検定は Student-Newman-Keuls test を用いて $P < 0.05$ をもって有意差有りとした。

(2) 臨床研究

臨床研究倫理審査委員会の承認後、研究内容を説明し文書で同意の得られた予定心拍動下冠動脈バイパス術 (OPCAB) 患者 68 名を対象とした。年齢 43-84 歳 (平均 68 ± 9)、男性 50 名 / 女性 18 名、身長 160.9 ± 8.5 cm、体重 61.2 ± 10.2 kg であった。手術室入室後、末梢静脈路を確保しフェンタニル (1-2 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、プロポフォール (1-2 mg/kg)、ベクロニウム (0.1-0.15 mg/kg) 静脈内投与にて麻酔導入、気管挿管を行った。観血的動脈圧測定および採血用の 22G カテーテルを橈骨動

脈に、連続心拍出量測定用 7.5 Fr 肺動脈カテーテルを右内頸静脈より挿入した。また経食道心エコーマルチプレーンプローブ

(21378A, Omniplane probe III, Philips Medical Systems, Bothell, WA) を挿入し、超音波診断装置 (Sonos 7500, Philips Medical Systems) に接続した。麻酔中は 5 極心電図、パルスオキシメータ、カプノグラフ、観血的動脈圧、中心静脈圧、肺動脈圧、心拍出量を連続的にモニターした。

患者はプロポフォール麻酔群 (P 群)、プロポフォール麻酔 + ランジオロール群 (P+L 群)、セボフルラン麻酔群 (S 群)、セボフルラン麻酔 + ランジオロール群 (S+L 群)、プロポフォール麻酔 + セボフルラン吸入群 (P+AP 群) およびプロポフォール麻酔 + セボフルラン吸入 + ランジオロール群 (P+AP+L 群) の 6 群に無作為に分類した。

P 群、P+L 群、P+AP 群および P+AP+L 群はプロポフォール (4-6 $\text{mg}/\text{kg}/\text{hr}$)、フェンタニル (総投与量 10-15 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、空気 / 酸素 (50%) にて麻酔維持した。S 群および S+L 群はセボフルラン (1-3%)、空気 / 酸素 (50%) とフェンタニル (総投与量 10-15 $\mu\text{g}/\text{kg}$) にて麻酔維持した。筋弛緩はベクロニウム (0.6-0.8 mg/hr) の持続投与を行った。S+L 群、P+L 群、P+AP+L 群は麻酔導入後より手術終了までランジオロール 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ で静脈内持続投与した。P+AP 群および P+AP+L 群においては胸骨切開後セボフルラン 0.5 MAC を 30 分間吸入し、30 分間洗い出し期間をおいて冠動脈を遮断した。

経食道心エコー法を用いて経胃的左室短軸像を描出し、局所壁運動を連続的にモニターし新たな壁運動異常が認められた時および 1 時間毎に S-VHS ビデオおよび光磁気ディスクに記録した。局所壁運動は normal, mild hypokinesis, severe hypokinesis, akinesis, dyskinesis の 5 段階に評価し、2 段階以上の悪化が 1 分以上継続した時、または dyskinesis になった時に新たな壁運動異常発生と診断した。また麻酔中の全心電図記録の ST-T トレンド解析を麻酔終了後に行った。虚血性心電図変化は J 点から 60 msec 以上で 0.2 mV 以上の ST 上昇または 0.1 mV 以上の ST 低下があった場合とした。手術開始前、手術終了直後、4 時間後、18 時間後に採血しトロポニン I、トロポニン T、creatin kinase MB isoenzyme (CK-MB)、ヒト心臓由来脂肪酸結合蛋白 (HFABP) をそれぞれ測定した。

連続変数の各測定値は平均値 \pm 標準誤差で表し、統計学的検討は ANOVA および Student-Newman-Keuls test を用いて $P < 0.05$ をもって有意差有りとした。

4. 研究成果

(1) 冠動脈閉塞モデルによる基礎実験

① 一般血行動態に関して、各群ともに酸素消費量の指標となる rate-pressure product が再灌流後に低下し、遅延期 S 群を除く 4 群では Baseline に対して有意な変化だった。しかし各測定ポイントにおいて各群間に rate-pressure product の有意な差は認められなかった。

② コントロール群および早期 S 群の全左室重量は他の 3 群に対して有意に重かった。しかし梗塞危険領域/全左室重量比は各群間で有意差がなかった (コントロール群:

37±4, n=7; 遅延期 S 群: 48±4, n=7; 遅延期 S+L 群: 42±3, n=8; 早期 S 群: 41±3, n=7; 早期 S+L 群: 44±4%, n=8)。

③ 梗塞領域/梗塞危険領域重量比はコントロール群と比較して遅延期 S 群において有意に減少した (59±4% vs. 42±11%)。遅延期 S+L 群ではさらに減少したが、遅延期 S 群とは有意差がなかった (37±3%)。早期 S 群は梗塞領域/梗塞危険領域重量比の減少を認めず、コントロール群と同程度であった (58±4%)。一方、早期 S+L 群においてはコントロール群および早期 S 群に対して有意に減少した (37±3%) (図 1)。

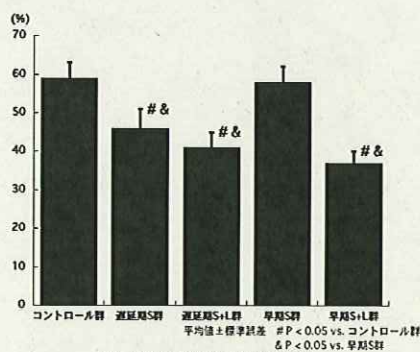


図1 梗塞領域/梗塞危険領域重量比

④ 低濃度のセボフルラン吸入は早期の先行虚血様心筋保護作用, anesthetic-induced preconditioning 作用を示さなかった。しかし低濃度のセボフルラン吸入は遅延期心筋保護作用を示し、心筋梗塞サイズを有意に減少した。短時間作用型 β_1 遮断薬, ランジオロール持続投与は遅延期プレコンディショニング作用を増強する傾向が見られたが、有意ではなかった。一方、早期プレコンディショニング作用との組み合わせでは明らかな心筋保護作用を示した。

(2) 臨床研究

① 患者背景, 術前の左室駆出率, 手術時間, 麻酔時間, グraft数等に各群間で差はなかった。全体で4名の患者が手術開始前のトロポニン T またはトロポニン I 値が正常範囲外

であったため除外された (P 群, P+L 群, S 群, S+L 群, 各1名)。麻酔中に19名の患者が心電図以上を示した (P 群: 3/10名, P+L 群: 2/11名, S 群: 1/10名, S+L 群: 2/10名, P+AP 群: 5/13名, P+AP+L 群: 5/14名)。明らかな壁運動異常を示した症例は P+AP 群の1例だけだった。各発生頻度は群間には有意差は認められなかった。

② 各心筋代謝指標の手術開始前値に群間で有意差はなかった。各群ともにトロポニン T は手術終了4時間後, トロポニン I および CK-MB は手術終了18時間後, HFABP は手術終了直後をピークとして有意に上昇した。

③ 手術4時間後のトロポニン T 値は P 群が P+L 群および P+AP+L 群と比較し有意に高かった (P 群: 0.50±0.10, P+L 群: 0.25±0.04, S 群: 0.33±0.05, S+L 群: 0.35±0.05, P+AP 群: 0.28±0.05, P+AP+L 群: 0.21±0.04 ng/ml) (図 2)。

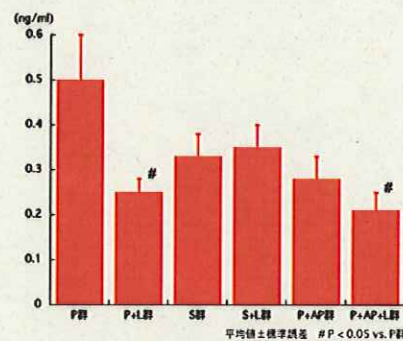


図2 手術終了4時間後のトロポニンT値

④ 手術終了直後の HFABP 値は P 群が P+L 群, S+L 群および P+AP+L 群と比較し有意に高い値を示した (P 群: 38.8±10.0, P+L 群: 15.5±1.9, S 群: 26.3±5.7, S+L 群: 17.9±2.0, P+AP 群: 31.9±6.7, P+AP+L 群: 14.7±1.5 ng/ml) (図 3)。

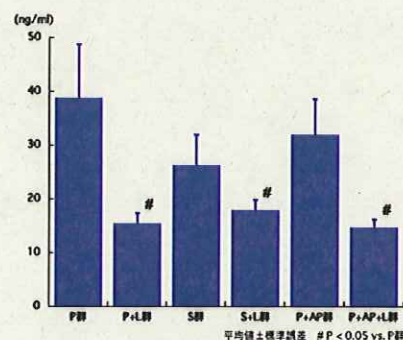


図3 手術終了直後のHFABP値

⑤ プロポフォール麻酔下の OPCAB 患者においてセボフルランによる早期の anesthetic-induced preconditioning は有意な心筋保護作用を示さなかった。一方, ランジオロール

持続投与はトロポニンTおよびHFABPを有意に低下させ心筋保護作用を示した。セボフルラン麻酔単独でも各心筋代謝指標はプロポフォル麻酔と比較し低かったが、有意差はなかった。セボフルラン麻酔下ではランジオロール投与は明らかな心筋保護作用を示さなかった。

(3) 結語

吸入麻酔薬セボフルランによる早期プレコンディショニング作用は弱く、実験モデルおよび臨床においても有意な心筋保護作用を示さなかった。セボフルランの連続した吸入による麻酔は軽度心保護作用を認めたが、有意ではなかった。

短時間作用型 β_1 遮断薬、ランジオロールの静脈内持続投与はプレコンディショニング作用を認めない麻酔下において、明らかな心筋保護作用を示した。しかしセボフルランによる心筋保護作用が認められる状況下では、心筋保護作用を増強しなかった。

以上よりセボフルランによるプレコンディショニング作用とランジオロールによる心筋保護作用には相加作用が認められず、部分的に作用が拮抗される可能性が示唆された。

現在、プレコンディショニング作用を期待して、虚血性心疾患患者においては吸入麻酔薬による麻酔が推奨されている (ACC/AHA 2007 Guidelines on Perioperative Cardiovascular Evaluation and Care for Noncardiac Surgery, *J Am Coll Cardiol* 50(17):e159-241, 2007)。しかし今回の結果より、静脈麻酔薬による麻酔下に短時間作用型 β_1 遮断薬投与を行う方法が、心筋保護作用の観点から虚血性心疾患患者には有利であると思われる。今後、分子生物学的作用機序を解明することにより、虚血性心疾患患者における麻酔管理の戦略が大きく変更される可能性がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- (1) Kitahata H, Nozaki J, Kawahito S, Tomino T, Oshita S: Low-dose sevoflurane inhalation enhances late cardioprotection from the anti-ulcer drug geranylgeranylacetone. *Anesthesia and Analgesia* 107(3):755-761, 2008 査読有
- (2) 北畑 洋: 生体機能検査による術中モニタリング 経食道心エコーによる術中モニタリング. 臨床病理

56(6):508-516, 2008 査読有

- (3) Nitta K, Kawahito S, Kitahata H, Nozaki J, Katayama T, Oshita S: Two unusual complications associated with cardiopulmonary bypass for pediatric cardiac surgery detected by transesophageal echocardiography after decannulation. *Paediatric Anaesthesia* 18(4):325-329, 2008 査読有
- (4) Yamanaka A, Kitahata H, Tanaka K, Kawahito S, Oshita S: Intraoperative transesophageal ventricular pacing in pediatric patients. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 22(1):92-94, 2008 査読有
- (5) Kawahito S, Kitahata H, Kitagawa T, Oshita S, Nose Y: Non-cardiac surgery applications of extracorporeal circulation. *The Journal of Medical Investigation* 54(3, 4):200-210, 2007 査読有
- (6) Nakamura A, Kawahito S, Kawano T, Nazari H, Takahashi A, Kitahata H, Nakaya Y, Oshita S: Differential effects of etomidate and midazolam on vascular adenosine triphosphate-sensitive potassium channels: Isometric tension and patch clamp studies. *Anesthesiology* 106(3):515-522, 2007 査読有

[学会発表] (計 7 件)

- (1) Wakamatsu N, Kawahito S, Kitahata H, Goh R, Kohyama A: Landiolol produces cardioprotection in patients undergoing off-pump coronary artery bypass surgery. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists Oct. 22, 2008, Orlando, Florida
- (2) Kawahito S, Kitahata H, Nakamura T, Iseki A, Oshita S: Continuous intraoperative blood glucose monitoring and control using the STG-22 closed-loop system. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists Oct. 20, 2008, Orlando, Florida
- (3) Nakamura T, Kawahito S, Kitahata H, Tomiyama Y, Oshita S: Intensive insulin therapy in patients undergoing living-related liver transplantation. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists Oct. 19, 2008, Orlando, Florida
- (4) Kawahito S, Iseki A, Tomiyama Y, Kitahata H, Oshita S: High-frequency

- jet ventilation during thoracoscopic sympathectomy for palmar hyperhidrosis. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists
Oct. 16, 2007, San Francisco, California
- (5) Nitta K, Kawahito S, Kitahata H, Nozaki J, Oshita S: Accuracy of pulse oximetry and capnography in children with cyanotic congenital heart disease. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists
Oct. 18, 2006, Chicago, Illinois
- (6) Kawahito S, Nakamura A, Kitahata H, Nozaki J, Oshita S: The role of K^+ channels in vasorelaxation induced by hypoxia and the modulator effects of etomidate. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists
Oct. 15, 2006, Chicago, Illinois
- (7) Kitahata H, Nozaki J, Kawahito S, Tomiyama Y, Oshita S: The involvement of the mitochondrial K_{ATP} channel on heat-shock protein-induced cardioprotection. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists
Oct. 15, 2006, Chicago, Illinois

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北畑 洋 (KITAHATA HIROSHI)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・准教授
研究者番号：60161486

(2) 研究分担者

大下修造 (OSHITA SHUZO)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・教授
研究者番号：60144945

川人伸次 (KAWAHITO SHINJI)
徳島大学・医学部・歯学部附属病院・講師
研究者番号：60284296