

平成22年 5月20日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2009

課題番号：19791061

研究課題名 (和文) 一過性全脳虚血モデルにおける Rho キナーゼ阻害薬ファスジルの脳微小循環への影響

研究課題名 (英文) The effect of fasudil, a Rho-kinase inhibitor, on cerebral microcirculation under total transient cerebral ischemia in rabbits.

研究代表者 長瀬 清 (NAGASE KIYOSHI)

岐阜大学・医学部附属病院・講師

研究者番号 90345786

研究成果の概要 (和文)：

一過性全脳虚血モデルにおける Rho キナーゼ阻害薬ファスジルの脳微小循環への影響を検討した。日本白色家兎に頭窓法を設置し、生体顕微鏡下で脳軟膜上動静脈を観察した。ネックターニケット法を用いて、一過性全脳虚血を導入し、その前後における脳微小循環とファスジルが及ぼす影響について検討した。ファスジルは、二酸化炭素や吸入麻酔薬による脳血管拡張反応に影響を及ぼさなかった。また一過性全脳虚血を導入すると二酸化炭素や吸入麻酔薬による脳血管拡張応答は消失したが、ファスジルはこれを回復させなかった。ファスジルは、脳低体温中の脳微小循環に対しても影響を及ぼさなかった。以上より、ファスジルはそれ自体も、二酸化炭素や吸入麻酔薬による脳血管応答にも影響を与えないため、安全に使用できる薬剤である。

研究成果の概要 (英文)：

We studied the effect of fasudil, a Rho-kinase inhibitor, on cerebral microcirculation under total transient cerebral ischemia in rabbits. Cranial window was made on a temporal bone of Japanese White Rabbits with neck tourniquet to induce transient global cerebral ischemia. We observed cerebral pial arterioles' physiological changes induced by increased arterial carbon dioxide tension and the concentration of isoflurane, a volatile anesthetic. Fasudil did not change the degree of response either before or after cerebral ischemia, which we failed to observe cerebral arteriovasodilation by CO₂ and isoflurane after ischemia. Furthermore, fasudil did not alter the response of cerebral arterioles to CO₂ and isoflurane under mild hypothermia. We concluded that fasudil itself did not impact on physiologic changes of cerebral microcirculation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	0	1,200,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	570,000	3,670,000

研究分野：医歯薬学

1. 研究開始当初の背景

近年の大規模臨床試験においてスタチンは、血管内皮機能改善作用、血小板凝集抑制作用、抗酸化作用、平滑筋細胞増殖抑制作用などの臓器保護作用が報告され、中でもとりわけ Rho キナーゼ抑制の機序による心筋虚血における保護作用が示されている。一方、脳循環において、Rho キナーゼは糖尿病などに合併する血管内皮障害を増悪させる (Didion SP et al; Stroke 2005)、Rho キナーゼ抑制により脳血流増加作用を認める (Rikitake Y et al; Stroke 2005) と報告されている。脳虚血は脳神経細胞壊死のみならず、血液脳関門の破綻、進行する血管内皮障害など種々の脳微小循環反応障害を招くことが知られているが、脳虚血後モデルにおける Rho キナーゼ阻害薬の脳微小循環反応に関する知見は乏しい。

現在までに Rho キナーゼ阻害剤であるファスジルは脳血管障害や脳虚血後の臨床適応は確立されていないが、虚血後心筋における心筋保護作用 (Mohri M et al. JACC 2004)、心不全患者におけるリモデリング抑制 (Kishi T et al. Circulation 2005) が報告されなど、ファスジルの心血管系の保護作用が報告されるようになった。このためファスジルの脳虚血後微小循環への知見は、心保護作用の利点に加えた中枢神経保護作用の検討を含め、今後は重要性を持つと考えられる。

2. 研究の目的

血管拡張作用をもつファスジルは、クモ膜下出血後の脳血管攣縮予防に応用されている。Rho kinase の間接的あるいは直接的な脳微小循環への評価は、ファスジルによる脳虚血後の神経保護効果のみでなく、スタチン内服患者の麻酔中や集中治療など周術期における効果、ファスジルの脳微小循環への作用機序の解明など、多くの知見をもたらすと考えられる。

日本白色家兎に頭窓法を作成し一過性全脳虚血モデルを用いて、脳虚血前後における塩酸ファスジルが及ぼす脳微小循環への影響を検討する。

3. 研究の方法

ファスジルによる一過性全脳虚血後の脳微小循環反応への影響を明らかにし、その直接作用を評価する。

本研究では、血管内皮機能と脳神経細胞の機能を in vivo で評価するため、まず脳微小血管の動脈血二酸化炭素分圧やアセチルコリンに対する応答が、脳虚血前後でどの程度ファスジルで温存できるのかを検討する。これは、血管内皮細胞の有無によりアセチルコリンの作用が異なることを応用し、ファスジルの脳微小循環の保護作用が神経細胞を保護するためか、それとも血管内皮細胞を保護するためかの鑑別の一助となるためである。

日本白色家兎 (オス：2-2.5kg) にペントバルビタール 50mg を静脈内投与し、酸素とイソフルレンによる全身麻酔下に気管切開し、大腿動・静脈にカニューレシオン確保後、頭窓法を側頭骨に作成する。頭窓法は、直径 1.5cm の穴を側頭骨上に開窓し、歯科用セメントを用いて、生体下に直接観察できるようにスライドガラスで密閉する。その中を人工脳脊髄液で環流し、直接、脳軟膜上の動脈と静脈を生体顕微鏡で観察できるように、セッティングする。人工髄液と薬液および、排液用カテーテルは頭窓内にセットする。

頭窓が完成してから、60 分の休止時間をおいてから、プロトコールを実施した。なお、この間の全身麻酔はイソフルレンにて維持し、適宜筋弛緩薬として、ベクロニウム、バンクロニウムを用いた。

両側総頸動脈にターニケットを用いて一気に 700mmHg 以上に圧を急激に上昇させ、扼頸駆血し、さらに低血圧を導入して一過性完全脳虚血状態を達成し、その後再灌流する。この完全脳虚血は頭窓法において直接生体顕微鏡にて、脳軟膜上動静脈を観察し、赤血球の動きが停止することなど、完全脳虚血が達成されていることを直視下に確認する。また虚血時間は 6 分とし、虚血時に血圧が上昇し、完全虚血が達成しにくい際は、レギチンを用いて、体血圧を低下させることにより、一過性全脳虚血を達成している。

この実験中、動脈血血液ガス分析と血圧、心拍数、直腸温、終末呼気二酸化炭素分圧をモニタリングしている。一方、導尿は行っていない。

4. 研究成果

【ファスジルの脳血管への影響】

ファスジル全身投与、あるいは脳槽内への局所投与により、容量依存性にも脳血管への反応は認められなかった。

ファスジルは血液脳関門を通過するが、直接脳槽内に投与して、量依存性を確認したが、脳軟膜上動静脈に対して、直接的な影響は認められなかった。

一方、ファスジルの全身投与も実施した。臨床的な投与量を用いたが、脳軟膜上動脈への影響は認められなかった。

【一過性全脳虚血後におけるファスジルの二酸化炭素応答への影響】

ファスジルは、二酸化炭素応答を変化させなかった。二酸化炭素応答は吸気に二酸化炭素を負荷し、10分間の安定を持って、観察を実施した。ファスジルは基底状態からの血管拡張の程度を変化させなかった。

【ファスジルの吸入麻酔薬による脳血管拡張反応への影響】

ファスジルは吸入麻酔薬による脳血管拡張反応への影響を与えなかった。吸入麻酔薬は、日本白色家兔のイソフルレン MAC を用いた。0.5 MAC から1.0, 1.5 MAC まで吸入麻酔薬濃度を増加させ10分間の安静時間をそれぞれ設定したが、ファスジルはイソフルレンによる血管拡張作用に影響を与えなかった。

心拍数と血圧にも影響を与えなかった。

【ファスジルの一過性全脳虚血後におけるアセチルコリンによる脳血管拡張反応への影響】

ファスジルは、アセチルコリンにより一過性全脳虚血後の血管拡張反応を変化させなかった。

アセチルコチンは、一過性全脳虚血後においても、脳軟膜上動静脈を拡張させる。これは、虚血前と同等に拡張させるため、血管内皮機能が保たれていることを示唆している。一方、二酸化炭素分圧の変化に脳血管が拡張していないことは、神経細胞の障害が著しいことを示している。この環境下において、ファスジルは影響を与えないことが示唆された。

【一過性全脳虚血後におけるファスジルの二酸化炭素応答への影響】

一過性全脳虚血により、二酸化炭素応答は消失する。ファスジルはこれを回復させることはなかった。

ファスジルが二酸化炭素応答を回復させることは神経細胞の機能維持に寄与している

証左と考えられるが、今回の用いた投与量においてはこのような結果は認められなかった。

【低体温化におけるファスジルの脳血管二酸化炭素応答への影響】

低体温により、脳血管の二酸化炭素応答は減弱する。しかし、ファスジルはこの低下を回復させることも増強することもなく、変化させなかった。

【低体温下における吸入麻酔薬による脳血管拡張反応に対するファスジルの影響】

低体温により脳血管拡張反応は減弱する。しかし、ファスジルはこの応答を変化させなかった。

低体温として、35度を用いた。これは、白色家兔の基本体温が38度程度とヒトと比べて高温であること、近年の脳低温療法では以前と比べて著しい低体温導入が行われないことに基づく。

一般に、低体温を導入すると、脳血管の拡張応答も収縮反応も抑制するとされる。この抑制の程度は、脳血管の基底状態に起因するが、この基底状態からの変化率でファスジルの及ぼす影響を検討した結果、ファスジルは低体温環境下においても脳血管応答を変化させなかった。

以上より、ファスジルは、正常状態でも一過性全脳虚血下においても脳微小循環で生理的な応答を変化させないことが確認された。

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 長瀬 清、米国の病院経営における手術部の立場、日本手術学会誌、2010, 31, 12-15 (査読無し)
- ② 紀ノ定保臣、長瀬 清、医療機関におけるICT 戦略とマネジメントの調和を求めて、IT ビジョン、2009, 18, 40-44, (査読なし)
- ③ N. Fukuoka, H Iida, Sakamatsu, K Nagase, H Iwata, S Doh, The Association Between the Initial End-Tidal Carbon Dioxide Difference and the Lowest Arterial Oxygen Tension Value Obtained During One-Lung Anesthesia With Propofol or Sevoflurane, J Cardiovascu Anesth 2009, 23, 775-9 (査読あり)
- ④ 長瀬 清、山中多美子、予定入室時間申告における「3時間ルール」導入の試み、日本手術学会誌、1008, 29, 59-61 (査読無し)
- ⑤ 長瀬 清、土肥修司、麻酔準備時間と手術準備時間の区分導入における3年間の総

- 括、日本手術学会誌,2008,29,56-60(査読無し)
- ⑥ S Dohi, M Iida, H Iida, K Nagase, C Nagata, Implementation of smoke-free policy in university hospital decreases carboxyhemoglobin level in inpatients undergoing surgery. Anesthesiology, 2007, 106, 406-7 (査読あり)

[学会発表] (計13件)

- ① 長瀬 清、飯田宏樹、土肥修司、第29回日本臨床麻酔学会(浜松)、院内共通フォーマットによる術前サマリと手術記録の連携構築 2009年10月30日
- ② 長瀬 清、タイムアウト導入による手術開始までの所要時間の変化について 第31回日本手術医学会(東京) 2009年10月16日
- ③ 長瀬 清、米国の病院経営における手術部の立場 第31回日本手術医学会(東京) 2009年10月15日
- ④ 長瀬 清、飯田宏樹、土肥修司、第28回日本臨床麻酔学会(京都)、硬膜外麻酔併用の違いにおけるエフェドリン使用方法 2008年11月22日
- ⑤ 長瀬 清、飯田宏樹、土肥修司、第6回日本麻酔科学会東海・北陸支部地方会:複数の非脱分極性筋弛緩薬に薬剤過敏症を示した脳腫瘍患者の1症例 2008年9月13日
- ⑥ 長瀬 清、飯田宏樹、土肥修司、第55回日本麻酔科学会(横浜):レミフェンタニルもしくはフェンタニル麻酔におけるベクロニウム使用量の変化 2008年6月14日
- ⑦ 長瀬 清、第55回日本麻酔科学会(横浜):完全電子カルテシステムを活用した医療の質の向上、効率化・標準化の改善、医療過誤防止に向けた3年間の取り組み 2008年6月13日
- ⑧ 長瀬 清、飯田宏樹、土肥修司、第27回日本臨床麻酔学会「手術前、手術中、手術後における心拍変動と心電図上の虚血性変化」、東京 2007年10月27日
- ⑨ 長瀬 清ほか6名、第4回日本クリニカルパス学会「電子カルテを導入した大学病院における電子クリニカルパス後の診療科別適用率とバリエーション登録数の検討」、札幌 2007年10月6日
- ⑩ 長瀬 清、山中多美子、第29回日本手術医学会「予定在室時間申告における「3時間ルール」導入の試み」札幌 2007年9月28日
- ⑪ 長瀬 清、土肥修司、第29回日本手術医学会「麻酔準備時間と手術準備時間の区分導入における3年間の総括」札幌 2007年9月28日

- ⑫ 長瀬 清、第18回日本臨床モニター学会 ランチョンセミナー「次世代の麻酔記録を目指して～臨床現場からの提案～」2007年4月14日
- ⑬ 長瀬 清、飯田宏樹、土肥修司、第54回日本麻酔科学会学術総会「手術終了時のレントゲン撮影に要する時間が手術在室時間に及ぼす影響」札幌 2007年6月1日

[図書] (計1件)

長瀬 清、高塚直能、紀ノ定保臣、山本眞由美、急性期病院経営における手術部マネジメントー特定機能病院手術室のケースー、経済産業省医療経営人材育成ケース教材開発プロジェクト 2007,1-61

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長瀬 清 (NAGASE KIYOSHI)

岐阜大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 90345786

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし