

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19791333

研究課題名（和文） 環境温度と血管収縮

研究課題名（英文） effect of hyperthermia on vasoconstriction

研究代表者

上野 浩一(UENO KOICHI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：20365399

研究成果の概要：

高温環境下ではカテコラミン等の血管収縮物質による血管収縮が障害されるが、それは復温により改善される可逆的な変化であった。血管収縮障害を改善させる薬剤の同定には至らなかった。また、本現象に血管内皮の関与は否定的と考えられた。一方、加温刺激により血管が収縮するという現象も認められるが、本現象は細胞外カルシウムの関与ではなく小胞体からのカルシウム動態が関与してい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
2007 年度	1,000,000	0	1,000,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総 計	2,100,000	330,000	2,430,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：救急蘇生学 血管収縮 高体温 ショック

1. 研究開始当初の背景

熱射病、sepsis による高体温状態ではショック状態に陥るが、輸液やカテコラミン等の治療に抵抗性を示すことが多い。高体温、熱射病を惹起する原因の一つとして入浴がある。本邦では高齢者を中心に年間約 14,000 人以上が入浴中に急死しているが有用な対策が講じられていないのが現状である。従来、その原因は主に心筋梗塞、不整脈、あるいは脳血管障害によるものと考えられてきた。しかし、その後の当研究室における臨床研究によると入浴事故の原因が本邦に特有な高温入浴による熱中症であることが解明された。

さらに、ラットを用いた入浴加温モデルによる基礎的検討では温浴に伴う高体温が意識障害とショックを惹起することが明らかにされた。

2. 研究の目的

(1)本研究の目的は高温環境が血管の収縮性を低下させる機序を解明することである。先行研究において、高温環境ではフェニレフリンによる血管収縮が有意に低下することを既に確認している。本研究においては、ラットの摘出血管輪状片に高体温負荷を与え、その機能変化を観察し、高体温による心血管障害の機序を明らかにすることを最終目的と

する。

(2) また、研究過程においてラット大動脈が加温刺激によって収縮することが判明した。高温環境でのフェニレフリン血管収縮障害に加え、この加温刺激収縮の機序を解明することも研究の目的とする。

3. 研究の方法

(1)血管収縮性に対する温度の影響の検討・可逆性の有無

オーガンバス温度を37℃と41℃、42℃、43℃に設定し、フェニレフリン収縮を比較する。予備研究では初期から血管を高温環境に曝露していたが、徐々に温度を上げていった際の血管収縮性の変化の観察や、温度を上げていく時間の間隔等を変化し、実験モデルの確立を行う。また、血管内皮が正常な時と除去した際で、高体温血管収縮に違いがあるかを検討する。さらに、冷却による血管収縮の可逆性の有無を調べる。一定時間高温環境に曝露した後に、平温環境に戻し、同様にフェニレフリンを添加し、血管収縮が回復するかどうかを観察する。

(2)高温環境における血管障害機序の検索

高体温における血管障害に関わる因子を薬物学的に検討する。血管収縮能を変化させる可能性のある薬剤の先行投与を行い、血管収縮障害の機序の解明に結びつける。β受容体、フリーラジカル等の影響を検討する予定である

(3)加温刺激(43℃)による血管収縮の機序についての検討

ラット大動脈輪状片を用いて加温による血管収縮の機序を解明する。血管収縮の機序としてカルシウムの動態に注目した。

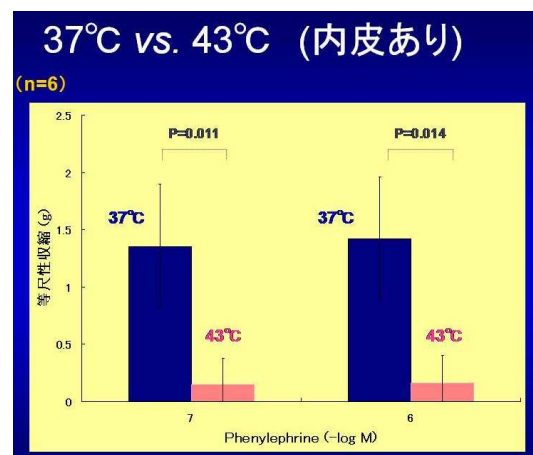
①カルシウムを除去した溶液内で血管の加温による等尺性収縮を確認し、細胞外からのカルシウム流入の影響を検討する。

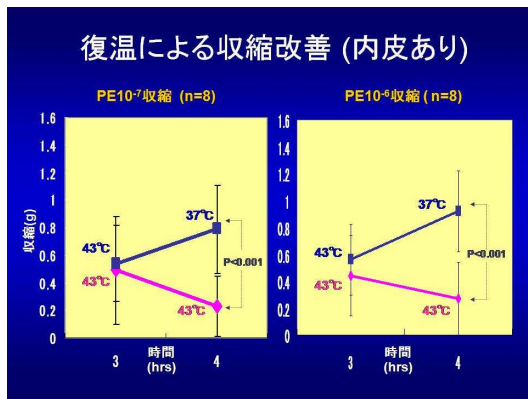
②小胞体からのカルシウム動態を検討する。小胞体のSERCA(sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} /ATP ase)、 IP_3 受容体、Ryano

dine受容体からのカルシウム動態と加温血管収縮の関連を検討するためにThapsigargin、2-APB(2-aminoethoxy diphenyl borate)、dantrolene等の各々の受容体の拮抗薬を添加して同様に加温刺激による等尺性収縮を観察する

4. 研究成果

(1)43℃で2時間および3時間の加温によりラット大動脈輪状片のフェニレフリン収縮は有意に障害された。血管内皮の有無で収縮性に有意な差は認められなかった。43℃3時間加温後に37℃に1時間復温したところ、フェニレフリン収縮は一部回復した。本現象は蛋白変性等の不可逆的な変化に伴うものではなく、可逆的な変化であることが判明した。この復温による血管収縮性の改善も血管内皮の有無で有意な差は認められなかった。41℃、42℃3時間の加温ではフェニレフリン収縮は障害されず、加温による血管収縮能低下の実験モデルとして43℃2～3時間の加温が適切と判断した。





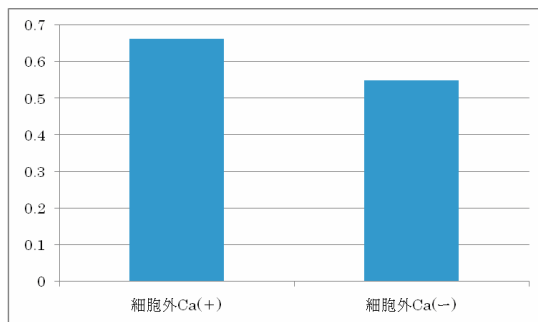
(2)L-NAME(NOS 阻害薬)、Mn-TBAP (パーオキシナイトライト消去剤)を添加したが高温環境下でのフェニレフリン収縮に有意な変化はなく、NO やフリーラジカルの関与は否定的と考えられた。

(3)ODQ(グアニル酸シクラーゼ阻害薬)、Propranolol(β 阻害薬)、Indomethasin 等の薬剤を添加したが同様にフェニレフリン収縮の改善は得られず、現時点で有効薬剤の同定には至っていない。

(4)また、実験の過程において加温刺激によって大動脈血管輪状片が収縮することが判明した。

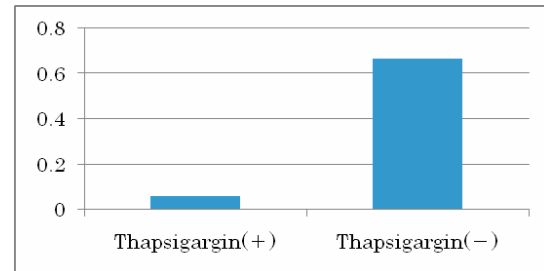
①L-NAME を添加すると加温による血管収縮は有意に増大し、本現象と NO との関連が示唆された。

②カルシウムを除去した溶液内での血管の加温による等尺性収縮を計測したところ、血管収縮は障害されなかったことにより細胞外からのカルシウム流入と加温血管収縮の関連は否定的と考えた。

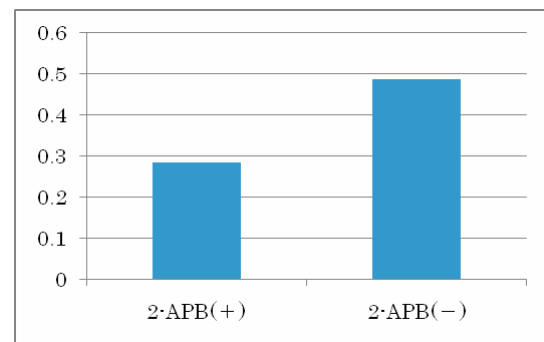


③細胞内の小胞体からのカルシウム動態を

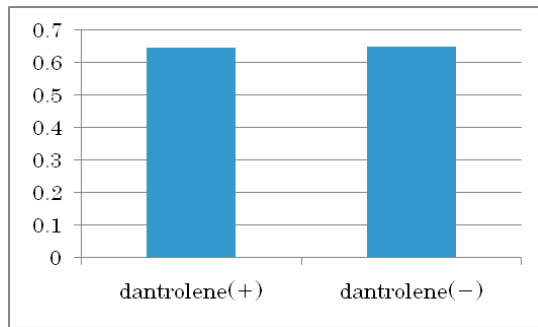
検討した。小胞体の SERCA (sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} /ATP ase)の阻害薬である Thapsigargin を添加して同様の 43°Cの加温刺激を加えたところ血管収縮は障害され、本現象に小胞体からのカルシウム動態が関与していることが示唆された(n=4, Thapsigargin 添加群 $0.06 \pm 0.01\text{g}$, control 群 $0.67 \pm 0.09\text{g}$, $P=0.04$)。



④小胞体の IP3 受容体の阻害薬である 2-APB(2-aminoethoxy-diphenyl-borate) を添加し同様の加温血管収縮を計測したが、収縮は障害されず、IP3 受容体から細胞内へのカルシウム放出と本現象の関連は否定的と考えられた(n=4, 2-APB 添加群 $0.29 \pm 0.09\text{g}$, control 群 $0.49 \pm 0.15\text{g}$, $P=0.44$)。



⑤小胞体の Ryanodine 受容体からのカルシウム動態と加温血管収縮の関連を検討するために Ryanodine 受容体阻害薬である Dantrolene を添加して同様の 43°Cの加温血管収縮を検討したが、収縮は障害されず Ryanodine 受容体からの細胞内へのカルシウム放出と本現象の関連は否定的と考えられた(n=4, Ryanodine 添加群 $0.06 \pm 0.01\text{g}$, control 群 $0.67 \pm 0.09\text{g}$, $P=0.04$)。



⑤以上より加温血管収縮の機序として小胞体から細胞内へのカルシウム放出の関連が示唆され、特に SERCA からのカルシウム動態が関連していると考えられた。

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)

〔学会発表〕(計4件)

- ① 上野浩一, 鈴木 昌, 足立 健, 堀 進悟, 相川直樹：一般演題 ラット大動脈平滑筋の加温による収縮の検討. 第36回日本救急医学会総会. 平成20年10月14日 札幌
- ② 上野浩一, 鈴木 昌, 足立 健, 堀 進悟, 相川直樹：一般演題 高温環境におけるラット大動脈の収縮. 第35回日本救急医学会総会. 平成19年10月18日 大阪
- ③ 鈴木 昌, 上野浩一, 足立 健, 堀 進悟, 相川直樹：一般演題 軽度低体温環境におけるラット血管輪状片の収縮性の検討. 第35回日本救急医学会総会. 平成19年10月18日 大阪
- ④ 上野浩一, 鈴木 昌, 越智 梢, 山本美智子, 足立 健, 堀 進悟, 相川直樹：一般演題 高温環境におけるラット大動脈のフェニレフリン収縮の検討. 第22回日本臨床体温研究会. 平成19年8月29日 札幌

6. 研究組織

(1)研究代表者

上野 浩一(UENO KOICHI)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：20365399

(2)研究分担者

(3)連携研究者