

機関番号：33303

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20592131

研究課題名（和文）アナフィラキシーショックにおける心機能の統合的研究

研究課題名（英文）Investigation on cardiac function during anaphylactic shock

研究代表者

芝本 利重 (SHIBAMOTO TOSHISHIGE)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：90178921

研究成果の概要（和文）：本研究はラットのアナフィラキシー低血圧時に心機能が低下するか否かを抗原感作されたラットの摘出灌流心臓標本と麻酔下ラットを用いて検討した。その結果、摘出心臓での心アナフィラキシー反応では冠動脈収縮による冠血流量の低下に伴い、心収縮力が低下するが一過性であり、抗原投与8分後には回復した。一方、麻酔下ラットでは左室圧・容積関係から求めた  $E_{max}$  の成績から心機能は低下せず、増加することが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：The aim of the present study was to determine the effects of anaphylaxis on the left ventricular function in both anesthetized rats and isolated perfused rat hearts. The rats were sensitized with ovalbumin. In anesthetized rats,  $E_{max}$ , an index of cardiac contractility did not decrease but increased at 15 min after antigen injection, suggesting that cardiac contractility did not decrease but increased during sustained hypotension due to systemic anaphylaxis in anesthetized rats. In the study using isolated hearts that were excised from Wister rats sensitized with ovalbumin, and perfused at constant flow with blood in a cross-circulated fashion. Cardiac contractility was evaluated by positive maximum rate of changes in left ventricular pressure ( $dp/dt_{max}$ ) and end-systolic pressure volume relationships (ESPVRs). After antigen, the coronary vascular resistance increased four times the baseline only transiently after antigen. The  $dp/dt_{max}$  decreased transiently along with the decrease in coronary flow. The ESPVRs measured at 10 min after antigen did not change from the baseline. The results from perfused heart experiments suggest that cardiac contractility decreased only transiently along with a decrease in coronary blood flow during cardiac anaphylaxis of isolated blood-perfused rat hearts. In conclusion, cardiac contractility may not decrease, but rather increase later than 10 min after antigen exposure. However, the cardiac anaphylactic reaction itself is accompanied by a transient flow-dependent decrease in cardiac contractility.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：アナフィラキシーショック、心機能、血液交差灌流心臓、 $E_{max}$ 、冠血管収縮

## 1. 研究開始当初の背景

(1) アナフィラキシーショックの血行動態的な機序は不明であり、心機能低下の可能性があった。しかしながら、実験的な *In vivo* アナフィラキシーショック時の心機能評価はこれまで主としてイヌで行われてきた。その指標は左心室収縮期圧の一次微分の最大値( $dP/dt_{max}$ )であり、その低下が複数の研究グループから報告されていた。しかし、この指標は前負荷に影響される。一方、それらのアナフィラキシーショックモデルでは静脈還流量の減少、すなわち前負荷の減少がみられ、それらのモデルでは  $dP/dt_{max}$  は正確に左心室機能を反映しない。そこで、これらの因子に影響されない左室圧・容積関係の指標を用いることで従来の欠点を克服できる可能性があった。

(2) 心アナフィラキシーの実験的検討は摘出心臓で行われ、従来からモルモットで多く行われてきた。しかし、モルモットの *in vivo* モデルは抗原投与後に急激な即死となるためにヒトとは病体が大きく異なる。よりヒトに近いラットについての摘出灌流心臓での心アナフィラキシーの報告は少なかった。

(3) 虚血性心疾患で $\beta$ -アドレナリン受容体阻害剤であるプロプロプラノロールを服用している患者ではアナフィラキシーの頻度が多く、また、生じると重篤になることが知られている。しかしながら、 $\beta$ -アドレナリン受容体のサブタイプならびに重篤性の血行動態的な機序も知られていない。

## 2. 研究の目的

(1) アナフィラキシーショック時の心機能を前・後負荷の影響を受けない最新の心機能指標である  $E_{max}$  を駆使した *in vivo* 実験で解明する。

(2) 全身の影響を受けないアナフィラキシーのラット心収縮能への直接作用の解明とそれに及ぼす冠血流量と化学伝達物質の関与を解明する。

(3) アナフィラキシー時に $\beta$ -アドレナリン受容体(AR)阻害剤を服用しているとアナフィラキシーショックが増悪する。心臓がその標的かは知られていない。そこで、 $\beta$ -AR 阻害剤の心機能への影響を $\beta 1$ -or $\beta 2$ -AR の関与を解明する。

## 3. 研究の方法

(1) *In vivo* の実験ではアナフィラキシー低血圧は雄性 SD ラット (体重  $336 \pm 29$  (SD) g ; n=5) を卵白アルブミン(1mg)で感作し 2

週間後に、抗原を静脈内投与して作成した。左室心尖部から挿入留置したミラーカテーテルにより左室圧を測定し、左心室容積は 4 個の超音波クリスタルにより測定した。大動脈弓部をオクルーダーで狭窄して後負荷を増加させて求めた左室圧・容積 (P-V) 関係から心収縮性の指標である  $E_{max}$  を算出した。さらに、中心静脈圧、体血圧を連続的に測定した。

(2) 摘出心臓での心アナフィラキシーの検討では血液交差心臓灌流標本を用いた。麻酔下供血用ラットの動脈血で大動脈に挿入したカテーテルから逆行性に抗原感作ラットの摘出心臓の冠動脈を灌流した。すなわち、供血ラットの動脈圧で冠動脈を定圧灌流した。上大静脈を介して右室に挿入したカテーテルから冠静脈血を流出させ、ポンプにより汲み上げたりザーバーから供血ラットの頸静脈へ還血した。左心房から左室に挿入したバルーンに既知量(V)の生理食塩水を挿入して左室圧(P)を測定し、左室圧 - 容積(V-P) 関係を求めた。冠動脈圧、冠静脈圧 (右室流出路圧)、冠静脈血流量、左室圧を連続的に測定して、冠動脈抵抗 ( $[\text{冠動脈圧} - \text{冠静脈圧}] / \text{冠動脈血流量}$ ) ならびに心機能の指標である  $dP/dt_{max}$  を算出した。アナフィラキシー冠血管収縮による冠血流量減少の関与は機械的に冠動脈流入チューブを閉塞して、心アナフィラキシー時と同じように冠血流量を減少させて検討した。

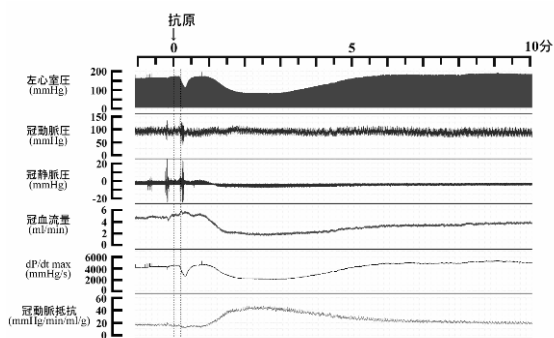
(3)  $\beta$ -アドレナリン受容体(AR)阻害剤の心アナフィラキシーへの関与の検討では感作ラットの摘出灌流心臓標本において、 $\beta 1$ -AR 阻害; Atenolol (1.6mg) あるいは $\beta 2$ -AR 阻害; ICI118,551 (0.4mg)を前投与後 10 分に、抗原を 1.2mg を冠動脈灌流回路に投与してラット心アナフィラキシーを惹起して検討した。

## 4. 研究成果

(1) *In vivo* の実験では抗原投与により体血圧は  $116 \pm 7$  mmHg から投与後 10 分には  $41 \pm 7$  mmHg と最低となり、その後、徐々に回復した。心機能指標である  $E_{max}$  は抗原投与前の  $322 \pm 134$  mmHg/ml から 5 分には  $1523 \pm 200$  mmHg/ml に増加した。15 分には  $1518 \pm 279$  mmHg/ml、その後も高レベルを維持し、心機能の低下は見られなかった。一方、前負荷の影響を受けるとされる  $dP/dt_{max}$  は抗原投与後に低下した。しかし、一回拍出量も著明に低下し、 $dP/dt_{max}$  の低下は前負荷低下によるものと推察された。今回の成績は麻酔下ラットのアナフィラキシー低血圧において前負荷や後負荷に影響されない  $E_{max}$  を指標と

することにより抗原投与後 15 分の低血圧時には心収縮性は低下せず、かえって増加することを初めて示した。なお、抗原投与後 5 分後の成績は steady state でなかった可能性があり、評価は困難と思われた。

(2) 血液交差灌流の摘出心臓標本を用いた心アナフィラキシーの検討では、左室圧 132 ± 6 (SD) mmHg で抗原を投与すると、60 秒後から冠動脈血流量が減少して、冠動脈抵抗が上昇した(下図参照)。2.5 分には投与前値の 26 ± 5 から 64 ± 18 mmHg/ml/min/g へと 145% 増加してピークとなり、その後 6.5 分には投与前値との有意差は見られなかった。一方、心機能を反映する dP/dtmax は抗原投与後に低下し、3 分には投与前値の 50 ± 13% の最低値となった。その後 8 分以降は 90% 前後を維持した。以上より全身からの影響のない摘出灌流心臓における心アナフィラキシーは抗原投与後 5 分以内の早期に冠動脈収縮が生じるとともに心収縮力が低下することを明らかにした。しかしながら、この心収縮性の低下は一過性であり、冠動脈血流量の回復よりも早く、抗原投与前に戻ることを明らかにした。



(3) 血液交差灌流心アナフィラキシーモデルの冠血流量減少の影響を検討した実験では、機械的に冠動脈流入チューブを閉塞して、心アナフィラキシー時と同じように冠血流量を減少させると対照アナフィラキシーと比較した。その結果、心収縮性の指標である dP/dtmax の低下反応に有意差は認められず、ラット摘出灌流心臓における心アナフィラキシーによる一過性の心収縮性の低下は冠動脈収縮による冠血流量の低下によることを示唆する結果が得られた。このことは心アナフィラキシー時に放出される化学伝達物質の心筋細胞への直接作用が少ないことを示唆するものである。

(4)  $\beta$ -AR 阻害剤の心機能への影響を血液交差灌流心臓アナフィラキシーモデルで検討したところ、 $\beta$ 1-あるいは  $\beta$ 2-AR 拮抗剤の前投与により抗原投与により、冠血管収縮を反映する冠動脈抵抗の増加は抗原投与後 2.5

分にいずれの群でもピークとなったが、 $\beta$ 2-AR 拮抗剤投与群では対照アナフィラキシーの約 2 倍の有意な増加を認めた。なお、 $\beta$ 1-AR 拮抗剤投与群でも有意差はないものの 20-30% の増加を認めた。また、dP/dtmax の低下も  $\beta$ 2-AR 拮抗剤投与群が有意に大きく、次に  $\beta$ 1-AR 拮抗剤投与群、対照群となった。以上より、ラット心アナフィラキシーでは  $\beta$ 2-AR 阻害が  $\beta$ 1-AR 阻害より増悪作用が強いことが示唆された。このことは、我々が以前無麻酔ラットのアナフィラキシー低血圧モデルで明らかにしたアナフィラキシーショックに対する  $\beta$ 2-AR 拮抗剤の致死的效果 (Eur. J. Pharmacol. 650(1):303-308, 2011) に心病変も関与することを示唆するものである。

#### 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 3 件)

- ① Zhang W, Shibamoto T, Kuda Y, Ohmukai C, Kurata Y. Pulmonary vasoconstrictive and bronchoconstrictive responses to anaphylaxis are weakened via  $\beta$ 2-adrenoceptor activation by endogenous epinephrine in anesthetized rats. *Anesthesiology*. 114(3):614-623, 2011. 査読有
- ② Kamikado C, Shibamoto T, Zhang W, Kuda Y, Ohmukai C, Kurata Y. Portal caval shunting attenuates portal hypertension and systemic hypotension in rat anaphylactic shock. *J Physiol Sci*. 61(2):161-166, 2011. 査読有
- ③ Shibamoto T, Tsutsumi M, Kuda Y, Ohmukai C, Zhang W, Kurata Y. Mast cells are not involved in the ischemia-reperfusion injury in perfused rat liver. *J Surg Res*. (印刷中), 2011. 査読有

[学会発表] (計 2 件)

- ① 倉田康孝 (芝本利重) 血液交叉灌流系を用いた心アナフィラキシーの病態解明: 心収縮性と冠血流への影響 第 88 回日本生理学会大会 2011 年 3 月 30 日 誌上発表
- ② 九田裕一 (芝本利重) ラット血液交差灌流心臓における心アナフィラキシーの検討 第 47 回日本臨床生理学会総会 2010 年 11 月 19 日 前橋テルサ (群馬県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

芝本 利重 (SHIBAMOTO TOSHISHIGE)  
金沢医科大学・医学部・教授  
研究者番号：90178921

(2) 研究分担者

倉田 康孝 (KURATA YASUTAKA)  
金沢医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：00267725

(3) 連携研究者

なし