

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592257

研究課題名(和文) ストレス誘導性コンディショニングの探索：高炭酸ガス血症の効果

研究課題名(英文) The search for stress-induced conditioning: effects of acute hypercapnia

研究代表者

原 哲也 (Hara, Tetsuya)

長崎大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：50304952

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：虚血前後における急性高炭酸ガス血症が気絶心筋の回復に与える影響と機序を麻酔下のブタで検討した。高炭酸ガス血症はPaCO<sub>2</sub> 70 mmHg・30分間の低換気で、気絶心筋は左前下行枝の12分間虚血と90分間再灌流で作製し、収縮能を局所心筋短縮率で評価した。Mann-Whitney検定でp<0.05を有意とした。高炭酸ガス30分後の左前下行枝血流量は有意に増加した。虚血前高炭酸ガス血症は再灌流後のインターロイキン産生を抑制する傾向にあったが、気絶心筋の有意な回復は認めなかった。KATPチャネルは関与しなかった。心筋保護効果を認めない一因に高炭酸ガスによる冠灌流量の増加が考えられた。

研究成果の概要(英文)：We studied the cardioprotective effect of acute hypercapnia before ischemia or during reperfusion (pre- or post-conditioning) in swine stunned myocardium. Hypercapnia was induced by hypove ntilation of PaCO<sub>2</sub> 70 mmHg for 30 minutes. Stunning was produced by 12-min ischemia and 90-min reperfusion . Myocardial contractility was evaluated with segment shortening. Data were analyzed with Mann-Whitney U test. p<0.05 was considered statistically significant. PaCO<sub>2</sub> and coronary blood flow during hypercapnia were significantly higher than those in control swine. There was no significant recovery of stunning. Interle ukin after reperfusion were slightly attenuated in pre-conditioned swine. KATP channels were not activated during hypercapnia. Acute hypercapnia could not enhance recovery of stunned myocardium. Attenuation of the preconditioning stimuli by the increase of coronary blood flow would be considered as the result, and therefore enough conditioning stimuli would not be obtained.

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：心筋虚血 コンディショニング 高炭酸ガス血症 気絶心筋

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 冠動脈の完全閉塞などにより生じた短時間虚血の後に、途絶していた冠血流が再開したにもかかわらず、心収縮能の低下が遷延する現象を気絶心筋と呼び、1982年に Braunwald と Kloner によって報告された (Braunwald E, Kloner RA: *Circulation* 1982;66:1146-1149)。その病態の重要な特徴は「flow-function mismatch」であり、冠血流が正常に回復した後も心収縮の異常は数時間から数日続き、組織学的に明らかな心筋細胞障害は認められない。臨床的には経皮的冠動脈インターベンション、冠動脈バイパス手術あるいは急性冠症候群などにおける発症の報告がある。カテコラミンを始めとする陽性変力作用を有する薬剤は気絶心筋における心収縮能の低下を改善するが、その収縮力増強作用が発揮されるのは薬剤投与中に限られ、投与中止後の心収縮能の回復を促進することはできない。気絶心筋の発症には、再灌流直後の数分間に増加する ROS の産生が関与しており、気絶心筋における重要なメディエーターとして注目されている。一方、収縮不全の機序として  $Ca^{2+}$  利用の障害あるいは  $Ca^{2+}$  感受性の低下さらにはトロポニン-I の変性が示唆されるが、いまだ完全には解明されていない (Hara T, Masui 2006;55:552-9)。

(2) われわれはイヌを用い、左前下行枝の15分間閉塞による気絶心筋モデルを作製し、吸入麻酔薬、オピオイド、 $Na^+/Ca^{++}$  交換機構阻害薬、PDE3 阻害薬などの心筋保護作用を検討しその結果を報告してきた (Hara T, et al.: *Anesth Analg* 2001;92:1139-45, Hara T, et al.: *Anesth Analg* 2003;96:S-20, Yoshitomi O, Hara T, et al.: *J Anesth* 2005;19:124-30, Use T, Hara T, et al.: *Cardiovasc Drugs Ther.* 2006;20:327-34, Akiyama D, Hara T, et al.: *J Anesth* 2010;24:575-81)。しかし、これまでに呼吸条件の変化が虚血耐性に与える影響を、プレコンディショニングやポストコンディショニングの観点から検討した報告はない。

(3) 周術期には呼吸循環の変動をきたし、非生理的呼吸状態を余儀なくされる場合がある。一側肺換気を用いた胸部外科手術あるいは重症呼吸器疾患患者などの周術期管理においては、十分な換気量を確保できず急性の高炭酸ガス血症をきたすことがある。心筋における虚血耐性の形成には先行虚血をはじめとする種々のストレスが関与している (Murry CE, et al.: *Circulation* 74:1124-36, 1986)。急性の高炭酸ガス血症によるアシドーシスの進行は虚血ストレスと同様に細胞生存あるいは機能回復に有利に作用する可能性がある。ウサギの腸管モデル (Morisaki H, et al.: *Intensive Care Med* 2009;35:129-35) やラットの肝臓モデル (Ai-min L, et al.: *Chin Med J* 2010;123:2254-8) における有用性の報告はあるものの、心筋虚血に対する検討は少なく

(Nomura F, et al.: *Circulation* 1994;90:11321-7, Kaplan SH, et al.: *Cardiovasc Res* 1995;29:231-8)、プレコンディショニングやポストコンディショニングの観点から気絶心筋の回復に与える影響を検討した報告はない。

## 2. 研究の目的

(1) ブタを用いて、左前下行枝の12分間閉塞と再灌流による気絶心筋モデルを作製し、気絶心筋の回復、細胞内機序および炎症性サイトカイン濃度に与える急性高炭酸ガス血症の影響を、虚血前の高炭酸ガス血症 (プレコンディショニング)、再灌流時の高炭酸ガス血症 (ポストコンディショニング) および虚血前後を通しての高炭酸ガス血症に分けて検討する。気絶心筋の回復は心筋に埋め込んだ超音波クリスタルを用いた局所心筋短縮率で評価する。心筋保護作用の細胞内機序として現在、特に注目されているミトコンドリアアデノシン三リン酸感受性カリウム (mKATP) チャネルの関与をそれぞれの拮抗薬を用いて評価したい。また、心筋虚血再灌流傷害に重要な役割を演じている炎症性サイトカインの関与を、インターロイキンを測定して評価する。

(2) ブタの生体モデルを用いることで、より臨床に近い環境での検討が可能となり、研究成果の臨床応用が容易となる。周術期に生体で起こる変化が虚血耐性に与える影響は十分には解明されておらず、虚血イベント時の全身管理を最適化するための重要な情報となる。

(3) 今回の研究で、高炭酸ガス血症は気絶心筋に対する保護効果を有すること、高炭酸ガス血症の保護効果は、その発生時期により異なること、高炭酸ガス血症の保護効果には、古典的プレコンディショニングにおける細胞内機序とともに炎症性サイトカイン産生の抑制が関与していることなどが予想される。これらの結果は、周術期の気絶心筋の制御に有用な知見をもたらす、周術期心合併症の発生率および死亡率を減少させ、安全な麻酔および術後管理に貢献する。また、虚血イベント後の呼吸管理における換気条件の設定においても重要な知見が得られる。

## 3. 研究の方法

(1) ブタの急性装置埋め込みモデル (Akiyama D, Hara T, et al.: *J Anesth* 2010;24:575-81) を用いて、左前下行枝の15分間閉塞および90分間の再灌流による気絶心筋を作製し、高炭酸ガス血症が気絶心筋の回復に与える影響とその細胞内機序を検討する。左室収縮機能の指標として心筋に埋め込んだ超音波クリスタルを用いた局所心筋短縮率を用いる。虚血前、再灌流時および虚血前後継続して、低換気による急性高炭酸ガス血症 ( $PaCO_2 = 70$  mmHg) を作製する。mKATP チャネル遮断薬の前投与の有無により mKATP

チャンネルの関与を検討する。各種インターロイキンの血中濃度を虚血前後で測定する。

(2) 実験群を 虚血前高炭酸ガス血症群、再灌流時高炭酸ガス血症群、虚血前高炭酸ガス血症+mKATP チャンネル遮断薬群、再灌流時高炭酸ガス血症+mKATP チャンネル遮断薬群、mKATP チャンネル遮断薬群、対照群の6群に分け、それぞれ10頭ずつのブタを用いて検討する。

(3) 実験1 高炭酸ガス血症が気絶心筋の回復に与える影響(実験群、 )

ブタをペントバルビタール、フェンタニルで麻酔し、気管切開した後、調節呼吸とし、開胸、心膜切開を行う。超音波血流計を上行大動脈に装着する。左前下行枝の第一対角枝より末梢を剥離し、左内頸動脈よりのバイパス回路を挿入する。超音波クリスタルおよび微量透析用カテーテルを左前下行枝灌流領域の心筋に埋め込む。心尖部より左室腔内へ圧トランスデューサーカテーテルを留置する。

循環動態の安定後にベースライン値を測定する。

実験群では低換気による PaCO<sub>2</sub> 70 mmHg の高炭酸ガス血症を作製し 15 分間維持する。低換気中止から 15 分後に内頸動脈から冠動脈へのバイパス回路を遮断し、12 分間の心筋虚血を作製する。実験群では内頸動脈から冠動脈へのバイパス回路を遮断し 12 分間の心筋虚血を作製する。再灌流と同時に低換気による PaCO<sub>2</sub> 70 mmHg の高炭酸ガス血症を作製し 15 分間維持する。

実験群では低換気を行わず、内頸動脈から冠動脈へのバイパス回路を遮断し、12 分間の心筋虚血を作製する。

再灌流後 90 分間観察する。

動脈圧、心拍数、心拍出量、左前下行枝血流量、左室拡張終期圧、左室内圧上昇速度、体血管抵抗および冠血管抵抗を経時的に測定する。

超音波クリスタルで心筋局所短縮率を測定し心収縮力の指標とする。

虚血前、再灌流直前、再灌流 90 分で各種インターロイキンの血中濃度を測定する。

カラーマイクロソフエ法で局所心筋灌流量を測定する。

(4) 実験2 高炭酸ガス血症の心筋保護効果における細胞内機序:mKATP チャンネルの関与(実験群、 )

実験1と同様な手技で実験モデルを作製する。

循環動態の安定後にベースライン値を測定する。

mKATP チャンネル遮断薬である5-ヒドロキシデカン酸の 5 mg/kg を投与し 5 分間放置する。

実験群では、低換気による PaCO<sub>2</sub> 70

mmHg の高炭酸ガス血症を作製し 15 分間維持する。低換気中止から 15 分後に内頸動脈から冠動脈へのバイパス回路を遮断し、12 分間の心筋虚血を作製する。実験群では、内頸動脈から冠動脈へのバイパス回路を遮断し 12 分間の心筋虚血を作製する。再灌流と同時に低換気による PaCO<sub>2</sub> 70 mmHg の高炭酸ガス血症を作製し 15 分間維持する。

再灌流後 90 分間観察する。以下、実験1と同様。

(5) 統計学的検討

群間の比較に Mann-Whitney 検定を用い、p<0.05 を有意差ありとした。

#### 4. 研究成果

(1) 虚血前の急性高炭酸ガス血症が気絶心筋の回復に与える影響

低換気 30 分後の左前下行枝血流量は実験群で有意に高く、心拍数、左室圧、左室圧上昇速度、局所心筋短縮率は実験群で高い傾向にあった。再灌流後 90 分の心筋局所短縮率に有意差はなかった。

#### 動脈血液ガス所見

	群	基準	低換気 30分	虚血 直前	再灌流 90分
PaO <sub>2</sub> (mmHg)		196 ± 30	187 ± 23	189 ± 24	183 ± 27
		190 ± 26	188 ± 25	191 ± 26	186 ± 28
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)		38 ± 2	70 ± 5*	37 ± 2	38 ± 2
		37 ± 2	37 ± 2	38 ± 3	37 ± 2

\* : p<0.05 vs. C 群

PaO<sub>2</sub>: 動脈血酸素分圧、PaCO<sub>2</sub>: 動脈血二酸化炭素分圧

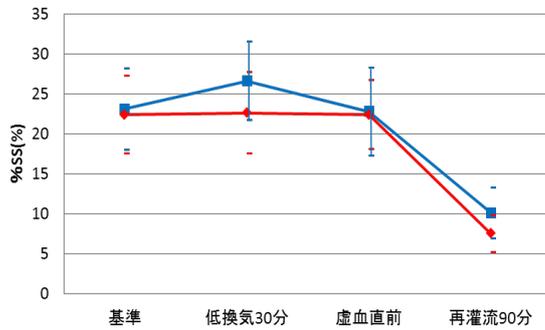
#### 循環動態の変化

	群	基準	低換気 30 分	虚血直前	再灌流 90 分
HR (bpm)		86 ± 14	105 ± 16	92 ± 14	88 ± 14
		88 ± 13	90 ± 12	89 ± 12	90 ± 16
LVdP (mmHg)		116 ± 16	129 ± 20	120 ± 16	114 ± 21
		115 ± 17	114 ± 17	116 ± 18	107 ± 20
LVdP/dt max		2576 ± 305	2869 ± 443	2625 ± 357	2534 ± 343
		2602 ± 344	2588 ± 327	2593 ± 310	2324 ± 296
CBF (ml/min)		18.4 ± 4.8	22.4 ± 3.5*	18.8 ± 3.9	17.8 ± 4.4
		18.8 ± 3.8	18.5 ± 3.6	18.6 ± 3.5	18.1 ± 4.0
%SS (%)		23.1 ± 5.1	26.6 ± 4.9	22.8 ± 5.5	10.1 ± 3.2
		22.4 ± 4.9	22.6 ± 5.1	22.4 ± 4.3	7.5 ± 2.3

\* : p<0.05 vs. C 群

HR: 心拍数、LVdP: 左室圧、LVdP/dt: 左室圧上昇速度、CBF: 左前下行枝血流量、%SS: 心筋局所短縮率

## 心筋局所短縮率の変化



青：実験群、赤：実験群  
群間に有意差なし。

mKATPチャネル遮断薬である5-ヒドロキシデカン酸の前投与による影響は認めなかった。

カラーマイクロソファ法で測定した局所心筋灌流量は群間で有意差を認めなかった。

虚血前の急性高炭酸ガス血症による気絶心筋の心筋保護効果を認めなかった一因として、高炭酸ガス血症による冠灌流量の増加が心筋へのストレスを軽減し、プレコンディショニング効果が発揮されなかったことが考えられる。

### (2) 再灌流時の急性高炭酸ガス血症が気絶心筋の回復に与える影響

低換気30分後の心拍数(実験群  $111 \pm 15$  bpm、実験群  $93 \pm 13$  bpm、 $p=0.04$ )、左前下行枝血流量(実験群  $21.7 \pm 2.8$  ml/min、実験群  $18.5 \pm 3.5$  ml/min、 $p=0.03$ )は実験群で有意に多かった。再灌流90分後の心筋局所短縮率に差はなかった(実験群  $7.2 \pm 1.8\%$ 、実験群  $7.5 \pm 2.3\%$ )。

mKATPチャネル遮断薬である5-ヒドロキシデカン酸の前投与による影響は認めなかった。

カラーマイクロソファ法で測定した局所心筋灌流量は群間で有意差を認めなかった。

再灌流時の高二酸化炭素血症は気絶心筋における心筋保護効果を発揮しなかった。この一因として、高二酸化炭素血症による冠灌流量の増加が、再灌流時のカルシウム過負荷を増悪させた可能性が考えられる。

### (3) 急性高炭酸ガス血症が再灌流時のサイトカイン産生に与える影響

虚血前および虚血簿の急性高炭酸ガス血症は再灌流90分後のインターロイキン-6の産生に影響を与えなかった。

### (4) 結論

12分間の冠動脈閉塞と90分間の再灌流

により、心筋灌流量(左前下行枝血流量およびカラーマイクロソファ法による左前下行枝領域の局所心筋灌流量による)は基準値に回復したものの、心筋局所短縮率は基準値よりも有意に低く、気絶心筋モデルとして妥当なものであった。

急性高炭酸ガス血症は気絶心筋におけるプレコンディショニングおよびポストコンディショニング効果を発揮しなかった。この一因には、高炭酸ガス血症による交感神経系の興奮が冠血流量を増加させ、プレコンディショニングにおいてはストレス刺激を軽減し、ポストコンディショニングにおいてはカルシウム過負荷を増強したことが関与していると考えられる。今後は、低換気による冠血流量の増加を制限して、更なる検討を加えたい。

## 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5件)

山本裕梨、荒木 寛、諸岡秋葉、穂山大治、吉富 修、原 哲也：高二酸化炭素血症が気絶心筋の回復に与える影響。日本麻酔科学会第61回学術集会。2014。横浜市。

原 哲也、一ノ宮大雅、松本周平、趙 成三：再灌流時の高二酸化炭素血症がブタ気絶心筋の回復に与える影響。第35回日本循環制御医学会総会。2014。福岡市。

Tetsuya Hara, Daiji Akiyama, Osamu Yoshitomi: Effects of acute hypercapnia in stunned myocardium in swine. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists. 2014. New Orleans. USA. (Submitted)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

原 哲也 (HARA, Tetsuya)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号： 50304952