

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791714

研究課題名(和文) 気道過敏性に対する麻酔薬の作用解析 強制オシレーション法を用いて

研究課題名(英文) Effects of anesthetics on airway hypersensitivity

研究代表者

西岡 健治 (Kenji, Nishioka)

長崎大学・大学病院・助教

研究者番号：70380904

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：喘息モデルのラットを作成し、麻酔薬の気道平滑筋に与える影響を検討した。これまでの喘息モデルよりも感作期間を長くにとって、気道のリモデリングが起こる過程を観察し、麻酔薬がそのリモデリングを抑制する可能性を見いだした。機序についてはさらなる検討が必要である。

また、迷走神経の喘息に与える影響を、麻酔管理にも用いるネオスチグミンの影響下で、ラットの迷走神経を電気刺激することで検討した。迷走神経活動性は気道平滑筋に直接影響することを実験的に捕らえることが出来た。この手法を用いて、今後は喘息モデルのラットでこれらの迷走神経活動の亢進を検討していく必要がある。

研究成果の概要(英文)：We investigated the contractile response of tracheal smooth muscle of asthma model rats. Three weeks of additional sensitization period could induce airway remodeling in our asthma model rats. Inhalation of sevoflurane during sensitization period attenuated the increase of goblet cells in the airway remodeling. It was difficult to observe functional change in the contractile response with this model. On the other hand, we applied continuous electrical field stimulation (c-EFS) or continuous electrical stimulation (c-ES) of low frequency to the vagal nerve of normal rats in vitro and in vivo to determine the role of cholinergic nerve activation in inducing airway constriction. The contractile response of the tracheal ring to c-EFS was potentiated by neostigmine. Maximum airway pressure was increased by c-ES of vagal nerve, and was potentiated by neostigmine. These results suggest that the increased activity of the cholinergic nerve is involved in asthma attack.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：麻酔・蘇生学

キーワード：気道リモデリング 麻酔薬 喘息

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎、喘息などのアレルギー疾患の発生頻度の増加はよく知られるところであるが、それに伴い全身麻酔下に手術を受ける患者の中で、喘息患者の占める割合も年々増加してきている。全身麻酔中は人工呼吸の必要があり、気管内挿管をはじめ様々な気道刺激が加わる。さらに手術による痛み刺激の他、周術期に被曝する様々な抗原に対するアレルギー反応により、アセチルコリン、ヒスタミンなどの化学伝達物質が放出され、手術中から術後回復期にかけて喘息発作を起こしやすいと言われている。また、臨床麻酔では単一の麻酔薬で管理するのではなく、鎮静薬、鎮痛薬、筋弛緩薬などを患者の状態にあわせて組み合わせるバランス麻酔が主流となっている。そのため、臨床麻酔において使用される頻度の高い鎮痛薬、鎮静薬の喘息による気管支収縮に及ぼす影響を明らかにすることは、喘息患者が安全に手術を受けるために必要である。さらに周術期以外でも、重症の喘息患者においては、長時間にわたる嚴重な人工呼吸管理を必要とする場合も多く、その場合の鎮静薬の選択も重要であると考えられる。

2. 研究の目的

これまでに我々の研究グループでは、主にラットの喘息モデル（オブアルブミンを用いて、ラットを感作し、その気管をオブアルブミンで刺激すると、IgE抗体を介して肥満細胞から各種メディエーターが放出され、即時型アレルギー反応に似た気管収縮が誘発される）を用いて、各種麻酔関連薬剤（フェンタニル、プロポフォールなど）の気管収縮抑制効果を明らかにしてきた。

しかし、これまで用いたラットの喘息モデルでの収縮作用は、各種伝達物質の受容体を介した細胞内カルシウム濃度の上昇がその機

序として知られており、急峻かつ一時的である。実際の喘息患者に見られる持続する気道収縮では、慢性炎症や繰り返す収縮により変性した気道平滑筋が、別の機序で収縮を持続させていることが考えられる。ラットの喘息モデルにおいても、同様の気道平滑筋の変性が確認されており、この変性した気管平滑筋に対する作用を研究することは、実際の喘息患者に近いという点でも意義が高いと考える。

本研究では、これまでのラットの喘息モデルより更に感作を強化し、平滑筋が変性した状態での麻酔関連薬剤の作用を調べ、その作用機序を解明する。

3. 研究の方法

(1) 感作ラットの作成

雄性 Wistar ラット（以下ラット、実験開始時体重 150-200g）を使用。

Ovalbumin 10 μ g 水酸化アルミニウム 10mg を腹腔内投与したのち2週間安定した環境で飼育し、感作させる

初回感作から2週間後から、2.5% Ovalbumin を 0.3ml 鼻腔内に隔日で投与する。

コントロール群では上記 1. 2. の操作をすべて生理食塩水で同様に行う。

(2) Isometric tension

ラット腹腔内に 50mg/kg のペントバルビタールを投与し麻酔した後、断頭し、気管を取り出す。3mm のリングを作成して、95% 酸素、5% 二酸化炭素で通気した Krebs-Henseleit 溶液（K-H 溶液）の中で、0.5g の静止張力を与え、安定状態を得た後、収縮実験を行う。

Ovalbumin による収縮

Ovalbumin 50 μ g/ml の投与で収縮を誘発する。各群について、この収縮反応が、麻酔関連薬剤の前投与によって、抑制されるか比

較検討する。

アセチルコリン (ACh) や、電気刺激による収縮

追加感作モデルの気道過敏性の検討のため ACh、Electrical Field Stimulation(EFS: 2msec, 25 V, 5 – 25 Hz) で収縮させ検討する。

(3) 病理組織学的検討

感作ラットの気管支、肺組織について HE 染色、PAS 染色、で平滑筋の肥厚や、杯細胞の増加などをターゲットに病理組織学的検討を行う

(4) 迷走神経刺激による気管収縮の in vivo での検討

気道収縮に対する迷走神経の影響を電気刺激 ; continuous electrical field stimulation (c-EFS : pulse duration 2 ms, 25 V, 2–25 Hz) または continuous electrical stimulation (c-ES : 2 ms, 25 V, 5 Hz) により検討し、摘出気管における迷走神経末端の残存とその収縮実験への影響を検討

4 . 研究成果

Ovalbumin 10 μ g とアジュバントを腹腔内投与して感作したラットでは、抗原である Ovalbumin を投与することで、即時型アレルギー反応により気管平滑筋の収縮を誘発できる。これまでの研究で、各種麻酔薬はこの収縮を抑制した。そこで、より喘息患者に近いモデルで検討するため、初回感作から 2 週間後から、更に 2 週間の間 Ovalbumin を鼻腔内に隔日で投与し、追加感作を行った。(研究方法 : (1) -)

当初の計画どおり摘出気管の等尺性収縮の変化を Ovalbumin による収縮で検討した。(研究方法 : (2) -) 臨床使用頻度の高い鎮痛薬のブプレノルフィンやペンタジンでは収縮の抑制効果は認めるものの、ばらつきも大きく、高濃度では抑制効果が減弱するなどの現象が見られた (図 1 . 2 .)

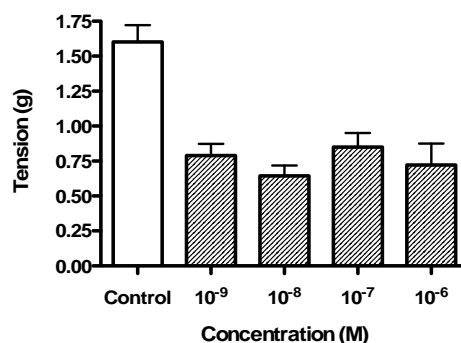


図 1 . Ovalbumin 50 \square g/ml での摘出気管の収縮に対するブプレノルフィンの影響

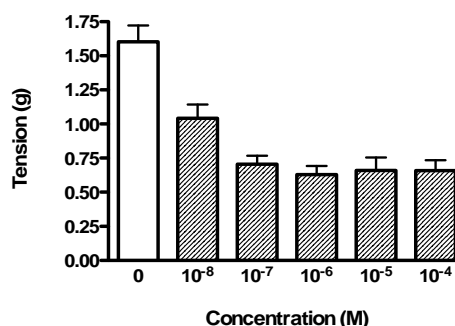


図 2 . Ovalbumin 50 \square g/ml での摘出気管の収縮に対するペンタゾシンの影響

また、追加感作したラットの気管では、薬物 (ACh : 図 3 .) や電気刺激によって収縮力の最大値の上昇は認めるものの、EC 50 は変化しなかった。

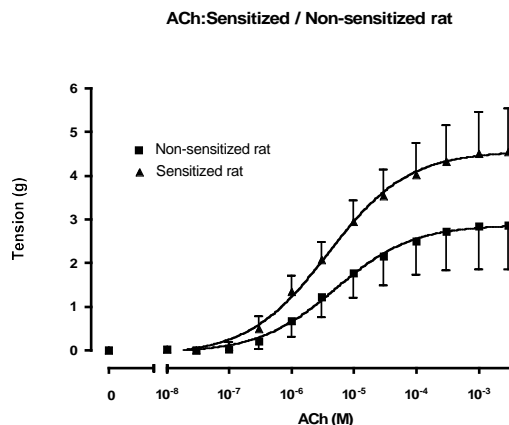


図 3 . 2 週間の追加感作ラットのアセチルコリンでの収縮反応 (正常ラットとの比較)

このため、等尺性収縮で検討した場合、麻

酔薬の影響をとらえることが難しいと考えられた。

そこで実験の方法を当初の計画から変更し、この2週間の追加感作によっておこる気道の変化をさらに検討するため、病理組織学的検討を行った。1週間の追加感作(鼻腔内投与)によって、これまで喘息患者の気道平滑筋のリモデリングとして報告されている炎症性変化に加えて、上皮における杯細胞の増加が認められたが、平滑筋の肥厚は認めず、3週間の追加感作によって、はじめて平滑筋の肥厚も観察された。(未発表)さらに、重症喘息の治療に用いられることもあるセボフルランを2週間の追加感作の際に吸入させ、病理組織学的検討を行ったところ、セボフルランはこの形態的变化をある程度抑制していた。しかし、機能的変化(収縮力や気道抵抗の変化)の抑制はわずかで、有意差はなかった。これらの結果は、収縮力の最大値が、2週間の追加感作で変化しているにもかかわらず、ばらつきが大きい結果となったことを裏付ける。すなわち、追加感作による気道の変化は、2週間ではまだ途中であり、完成していないと考えられた。これにより、感作期間を3週間以上とる必要があり、現在3週間の追加感作での病理学的変化や組織増殖因子の発現の程度などを検討中であるが、まだ不明な点も多く、今後の課題としている。

平行して、迷走神経の喘息に与える影響を、麻酔管理にも用いるネオスチグミンの影響下で、まずは正常ラットの迷走神経を電気刺激することで検討した。迷走神経活動性は気道平滑筋に直接影響することを実験的に捕らえることが出来た。(J Anesth 26: 80-84 □ 2012: DOI 10.1007/s00540-011-1258-5) この手法を用いて、今後は喘息モデルのラットでこれらの迷走神経活動の亢進を検討していく必要があるが、前述の組織学的検討の結果を踏まえて、感作期間を再検討しながらで有り、こちらも明確な結果がまとまるには至

っていない。

まとめ

喘息モデルのラットを作成し、これまでの喘息モデルよりも感作期間を長くとして、麻酔薬の気道平滑筋に与える影響を検討した。最初の段階で当初の予想に反した結果となったため、実験の方向を変更し、気道のリモデリングが起こる過程を観察し、麻酔薬がそのリモデリングを抑制する可能性を見いだした。機序についてはさらなる検討が必要である。

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1件)

Ishii K, Shibata O, Nishioka K, Tsuda A, Makita T, Sumikawa K. Effects of neostigmine on bronchoconstriction with continuous electrical stimulation in rats. J Anesth. 査読有 26(1)2012:80-4. DOI 10.1007/s00540-011-1258-5

[図書](計1件)

西岡健治、澄川耕二、麻酔前の評価・準備と予後予測 手術時期を考慮すべき病態、克誠堂出版 249-254、2012

6. 研究組織

(1)研究代表者

西岡 健治 (NISHIOKA, Kenji)

研究機関名: 長崎大学

部局: 病院

職名: 助教

研究者番号: 70380904