

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月13日現在

機関番号：24701
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23791723
 研究課題名（和文） アンギオテンシンⅡ受容体拮抗薬による腹腔内癒着予防に関する研究
 研究課題名（英文） Adhesion protect by an angiotensin type 1 receptor antagonist
 研究代表者
 吉村 聖子（YOSHIMURA SEIKO）
 和歌山県立医科大学・医学部・助教
 研究者番号：40468286

研究成果の概要（和文）：開腹手術後の腹腔内癒着形成は外科的侵襲による線溶系の抑制が関与していることが知られている。一方、アンギオテンシンⅡ受容体刺激の阻害が線溶系を抑制すると報告されている。我々はアンギオテンシンⅡ受容体拮抗薬(AT1受容体)であるカンデサルタンの腹腔内投与を行い、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター-1（PAI-1）の発現を減少させ癒着を抑制することを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Adhesion formations are important causes of intestinal obstruction and can lead to infertility in women. This study indicated that angiotensin type 1 receptor antagonist, candesartan, can reduce plasminogen activator inhibitor-1 mRNA expression using experimental model of peritoneal adhesions.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	1,900,000	570,000	2,470,000

研究分野：医師薬学

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：カンデサルタン、PAI-1、糖尿病、開腹術、癒着

1. 研究開始当初の背景

（1）開腹手術後の腹腔内癒着は、術後の腸閉塞、慢性の腹痛・骨盤痛、不妊症や、再手術での剥離に伴う出血多量や臓器損傷などを引き起こす。開腹手術後の癒着の形成はフィブリンの沈着とその分解のバランスにより決まっていると考えられている。外科的損傷を受けた腹膜が互いに接すると、フィブリンの沈着がおきる。線維素溶解活性が十分であるとフィブリンの沈着物分解される。しかし、線維素溶解活性が不十分であれば、フィブリン沈着は大きくなり、マトリックスが形成され、さらに細胞、血管の増殖、構造物間の線維性結合を引き起こすこととなる。これが術後の癒着形成のメカニズムである。線維素溶解はプラスミノゲンアクチベーター系によりコントロールされている。プラスミ

ノゲンアクチベーターの作用によって、プラスミノゲンよりプラスミンが産生され、線維素が溶解される。

（2）腹腔内癒着を抑制する方法として、ステロイド・アプロチニンの腹腔内投与などが検討されているが実用されるには至っていない。近年、アンギオテンシンⅡがPAI-1を誘導し線溶系を抑制すること、AT1受容体拮抗薬が血管平滑筋および血液を試料として *in vitro*、および *in vivo* でPAI-1の誘導を抑制し、線溶系を亢進させることが示されるようになった。

（3）我々は以上の背景に着目し、AT1受容体拮抗薬であるカンデサルタンが血管平滑筋収縮を抑制し降圧作用を示すだけでなく、開腹手術後において癒着形成を抑制する可

能性があるのではないかと着目した。そして、ラット腹腔内癒着モデルにおいて、閉腹前にカルデサルタンの腹腔内投与を行うと、対照群と比較して著明に腹腔内癒着を抑制したことを明らかにした。

(4) 一方、動物実験およびヒトを対象とした研究において、糖尿病では PAI-1 の発現量が亢進されていることが明らかとなっている。そこで我々は、PAI-1 の発現量を抑えることにより癒着の抑制がなされるならば、糖尿病患者は元来、癒着を起こしやすい素因をもっており、糖尿病患者の癒着抑制は、カンデサルタンの腹腔内投与により効果的に防止できるであろうという仮説をたてた。

(5) 我々は、麻酔薬がアンギオテンシン II の血管収縮作用に及ぼす影響についての基礎研究ならびに周術期管理という臨床現場に従事しているうちに、アンギオテンシン II や AT-1 受容体についての新しい臨床応用法はないものかを模索し続けていた。そこで、アンギオテンシン II の線溶系に対する作用という新しい知見に着目するに至った。高血圧治療薬として用いられている AT-1 受容体拮抗薬が、その作用機序から PAI-1 の発現も抑制し、開腹手術後の癒着を予防するであろうという発想は国内外にも例がなく、きわめて独創的であると考えた。また、現代、メタボリックシンドロームとして関心が高く、罹患率が増加している糖尿病においての PAI-1 の発現亢進と癒着を結びつけて検討するという点も独創的な点であると考えた。

(6) 本研究により、安全性と分子生物学的メカニズムを明らかにして妥当性を示したうえで、カルデサルタンを開腹術後の癒着予防目的に投与するという画期的な臨床応用法を提起することができる。カルデサルタンはすでに高血圧治療として臨床で頻繁に使用される薬剤である。現在用いられている癒着防止バリア（1回の開腹手術で 32,500～65,000 円分使用する）に比べ、はるかに安価でかつ高い効果がえられるものと期待でき、本研究の成果によっては世界の外科医療に大きなインパクトを与えるものであるとの予想のもと本研究を計画するに至った。

2. 研究の目的

(1) 開腹手術後の腹腔内癒着形成には、外科的侵襲による線溶系の抑制が関与している。しかしながら、これまで腹腔内癒着予防のために様々な試みがされてきたが確立した方法は未だ示されていなかった。

アンギオテンシン II が線溶系を抑制するという知見が近年もたらされた。我々は、ア

ンギオテンシン II 受容体(AT1 受容体)拮抗薬であるカルデサルタンの腹腔内投与を行うとプラスミノゲンアクチベーターインヒビター-1 (PAI-1) の発現を減少させ癒着を抑制することを以前明らかにした。

一方、糖尿病では PAI-1 の発現量が非糖尿病と比較して増加することが報告されている。本研究では、カンデサルタンによる癒着抑制効果を糖尿病と非糖尿病で比較し、臨床応用に向けて至適投与量、投与法を検討することを目的とした。

(2) 糖尿病のモデルとして自然発症 2 型糖尿病モデルラットを使用する。カルデサルタン腹腔内投与を行うと腹腔内癒着が抑制される際に、糖尿病本来の PAI-1 発現の増加の関与の程度を証明するために PAI-1 mRNA の定量、および、癒着スコアの比較を行う。対照群に比べ、カルデサルタン投与群で PAI-1 mRNA の発現量と癒着の抑制の程度に相関性が認められるかを検討することを目的とした。

また、我々のパイロットスタディによると閉腹前にカルデサルタン 1mg/kg の腹腔内単回投与で腹腔内癒着の抑制効果がえられたが、手術 1 日後よりカルデサルタン 1mg/kg/日の 2 週間経口投与では腹腔内の抑制効果はえられなかった。すなわち、腹腔内投与では効果が認められたが、経口投与では効果がえられなかった。これは、投与経路・投与法の違いによって癒着防止効果が異なるということを示したものであるが、その理由についても検討を行う。

そして、至適投与量・投与法、安全性についても検討し、カルデサルタンによる血圧の変化や有害事象の有無についても明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

大学の規定に則り、学内動物実験委員会の承認を得た。

(1) 2 型糖尿病モデルラットの育成

2 型糖尿病モデルラットとして OLETF ラット、その対照の非糖尿病ラットとして LETO ラットを購入し、糖尿病発症まで 25 週間育成し、経口糖負荷試験により糖尿病の発症、非発症を確認する。

(2) ラット腹腔内癒着モデル作製法

上記に従い、OLETF、LETO それぞれのラットを、カンデサルタン投与群、非投与群に分けて癒着作製を行い、癒着スコアによって癒着の程度を評価した。

① それぞれのラットをハロタンで麻酔し、

腹部正中切開を加え、開腹する。

② 腹腔内より回腸を腹腔外に取り出し、圧縮空気にて乾燥させ、腹腔内に戻す。

③ ラット血液 2 ml を腹腔内に注入し、カンデサルタン投与群には 0.3mg のカンデサルタン溶液を腹腔内に投与し、カンデサルタン非投与群には、同量の生理食塩水を腹腔内投与する。

④ 閉腹し、以後、ラット飲水にカンデサルタン投与群にはカンデサルタン溶液を与える。

⑤ 手術後 1 4 日目にハロタン麻酔下で、再びラットを開腹し、癒着の状況を観察しスコアリングを行う。

(3) ラット腹腔内癒着モデル作製法に従い、OLETF、LETO それぞれのラットのカンデサルタン投与群、非投与群から、腹腔内脂肪組織を調製し、PAI-1 mRNA 発現量を real time RT-PCR 法により定量した。

① それぞれのラットをハロタンで麻酔し、腹部正中切開を加え、開腹する。

② 腹腔内より回腸を腹腔外に取り出し、圧縮空気にて乾燥させ、腹腔内に戻す。

③ ラット血液 2 ml を腹腔内に注入し、カンデサルタン投与群には 0.3mg のカンデサルタン溶液を腹腔内に投与し、カンデサルタン非投与群には、同量の生理食塩水を腹腔内投与する。

④ 手術 1 2 時間後にハロタン麻酔下で、再びラットを開腹し、腹腔内脂肪組織を調製する。

⑤ 脂肪組織より PAI-1 mRNA を調製し、real time RT-PCR により定量を行う。

(4) カンデサルタン腹腔内投与の条件検討
上記、ラット腹腔内癒着モデルを用いて、OLETF、LETO ラットにおいて、カンデサルタンの投与量、投与回数を変更し、至適投与量、投与方法を検討した。

(5) カンデサルタン投与量を 0.15mg、0.3mg、0.6mg とし、腹腔内投与 1 回のみのも、1 日毎、2 日毎に腹腔内投与したものと群において、それぞれの癒着スコア、および PAI-1 mRNA 発現量を定量する。また飼育中の血圧の変化を尾動脈より測定した。

4. 研究成果

(1) 2 型糖尿病モデルラットとして OLETF ラット、その対照の非糖尿病ラットとして LETO ラットを使用した。糖尿病発症まで 25 週間育成し、経口糖負荷試験後の血糖値を確認し、これにより糖尿病の発症、非発症をそれぞれのラットにて確認した。

実験は、それぞれのラットをハロタン麻酔下に施行した。全身麻酔下にラット腹部正中切開を行い、皮下および腹膜を切開し開腹した。

腹腔内より回腸を腹腔外に取り出し、圧縮空気にて乾燥させたのち腹腔内に戻した。腸管を腹腔内に返納すると同時にラットから採取した血液 2 ml を腹腔内に注入した。

カンデサルタン投与群には 0.3mg のカンデサルタン溶液を腹腔内に投与した。

カンデサルタン非投与群には、同量の生理食塩水を腹腔内投与した。最後にナイロン糸を用いて閉腹し、創部を清潔ドレッシングテープにて被覆した。

閉腹したのちは、ラット飲水にカンデサルタン投与群にはカンデサルタン溶液を与えた。対照群のラットにはカンデサルタンを含まない水を飲水させた。

手術後 1 4 日目にそれぞれのラットをゲージから取り出しハロタン麻酔を行った。切開部位からアプローチし、再びラットを開腹した。癒着の状況を観察しスコアリングを行った。

(2) スコアリング観察後、ラットの腹腔内脂肪組織を摘出した。組織から得られた抽出液を用いて PAI-1 mRNA 発現量を定量した。定量には、real time RT-PCR 法を用いた。

(3) OLETF、LETO それぞれのラットの癒着スコアリング結果から、その腹腔内癒着の程度は同等であり、群間に有意差はないことを確認した。

(4) カンデサルタンを投与した OLETF、LETO それぞれのラットの癒着スコアリング結果は、OLETF 群で癒着が改善する程度が少ない傾向がみられたが、有意差は認めなかった。

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 1 件)

Hirayama M, Kinoshita H, Inoue M, Kawashima K, Yoshimura S: Delayed hemopneumothorax resulting from a

ventriculoperitoneal shunt procedure.
Minerva Anesthesiol 77 : 938, 2011

〔学会発表〕（計1件）

Seiko Yoshimura, M.D., Keisuke Fujii, M.D.,
Masanori Haba, M.D., Takaaki Negoro, M.D.,
Koji Ogawa, M.D.: Ultrasound-guided
Lateral Approach of the Infraclavicular
Axillary Vein Catheterization May Have a
Risk of Brachial Plexus Injury. Annual
Meeting of American Society of
Anesthesiologists, 2011.10, Chicago, IL,
USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉村 聖子 (YOSHIMURA SEIKO)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：40468286