

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：14501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659784

研究課題名(和文)ワイヤーミオグラフィシステムによる血管抗攣縮薬の薬理学的作用と力価の決定

研究課題名(英文)Pharmacological analysis of antispasmodic with wire myograph

研究代表者

榊原 俊介 (Sakakibara, Shunsuke)

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50444592

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：マイクロサージャリーをもちいた遊離組織移植術では、術中の血管閉塞(攣縮)を防ぐためにリドカインの撒布が広く行われてきた。一方で、その至適濃度について、薬理学的な実験的事実に基づいた知見はなかった。われわれはワイヤーミオグラフィシステムを用いることで血管の弛緩・収縮を数値化させ、リドカインの至適濃度の検討を行った。また、リドカイン単剤では十分な抗攣縮作用が得られない場合があるため、他の薬剤での検討も行った。その結果、塩酸パパペリン、フェントラミンメシル酸塩、オルプリン塩酸塩、ニトログリセリンにおいて抗攣縮作用を濃度依存的に認めた。以上より、これらの薬剤も抗攣縮薬として使用される。

研究成果の概要(英文)：To avoid the vascular spasm during microvascular surgery for free tissue transfer, lidocaine has been widely used. On the other hand, the proper concentration of lidocaine is unknown. We introduced wire-myograph system for pharmacological and physiological analysis of lidocaine or other substances for its anti-spasmodic activity. We examined papaverine hydrochloride, phentolamine mesmate, olprinone hydrochloride, nitroglycerine, and prostaglandin E1. On the result, those substances, except prostaglandin E1, showed concentration-dependent anti-spasmodic activity. On the other hand, prostaglandin E1 showed concentration-dependent spasmodic activity which may be caused by inflammatory activity. In conclusion, those substances may be used for anti-spasmodic agent during microsurgical operation.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：マイクロサージェリー学 血管生理学

1. 研究開始当初の背景

マイクロサージャリーによる血管吻合技術は外科治療に革命的な進歩をもたらした。特に悪性腫瘍切除後の再建においては、切除による欠損が大きいために切除不能となっていた症例や、切除後の患者の QOL の向上に果たす役割は極めて重要である。

一方でマイクロサージャリーによる血管吻合では血管の開存が目的であるため、綿密な術前計画を行い、また、術中・術後には血管の閉塞を様々な手段により防がなくてはならない。血管の閉塞因子の最も大きな物の一つに、血管の攣縮（スパズム）が挙げられる。スパズムは血管平滑筋の生理的な反射によるものであるために、発症頻度は静脈に比して動脈の方が高いとされる。スパズムの予防として、術中に塩酸リドカイン溶液などの撒布が行われる。これら溶液の濃度や使用頻度については、至適量を示唆する過去の文献は存在するが、多くは経験的に執り行われているのが現状である。特に塩酸リドカイン溶液に関しては、我々の施設では 2% のものを使用しているが、20% の溶液を使用している施設もある。また、一度の撒布後の薬効持続時間については不明である。

マイクロサージャリーを用いた血管吻合術の開存率はおよそ 95% にも上るため、抗攣縮剤については問題視されず経験的に使用されてきた側面があることは否めない。一方で、これら抗攣縮剤を術中に使用するにあたり、術創での毛細血管などを介した浸透性の吸収量は無視することが出来ず、また、薬剤アレルギーをもつ患者への使用など、考慮を要する課題は多い。これらの問題を解決すべく、代替薬の検討を行う事とした。

2. 研究の目的

(1) 塩酸リドカインの至適濃度の検討を行う。

(2) 代替薬の検索およびその力価の検討を行う。

特に代替薬として、オルプリノン塩酸塩、ニトログリセリン、プロスタグランディン E1、フェントラミンメシル酸塩、塩酸パパペリンを候補として挙げた。

3. 研究の方法

薬理学的解析にはワイヤーミオグラフィシステムを用いた。本装置は、2本のL字状のフックを用いて輪切りにした血管を牽引する。このとき、片方は固定され、もう片方はアンプに繋がり、牽引された血管にかかる力を g 数として表す事が出来る。

実験対象として、ラット(wistar 系、メス、リタイア)を用いた。ラットを深麻酔下に仰臥位に固定し、腹部大動脈を顕微鏡下に摘出した。摘出された血管は、リンゲル液 (NaCl 118mM, KCl 4.7mM, CaCl₂/2H₂O 2.5mM, MgSO₄/7H₂O 1.2mM, KH₂PO₄ 1.2mM, NaHCO₃ 25mM, C₆H₁₂O₆ 11mM, Na₂EDTA 0.5mM) に浸

漬した。保存する場合は冷蔵保存とし、翌日までに実験を行った。

リンゲル液内で幅約 1mm の輪切りとしたのち、L 字フックに引っ掛けた。チャンバーはリンゲル液 3ml を添加し、95%O₂, 5%CO₂ ガスを送りバブリングを行った。またチャンバーは灌流液により 37℃ とした。

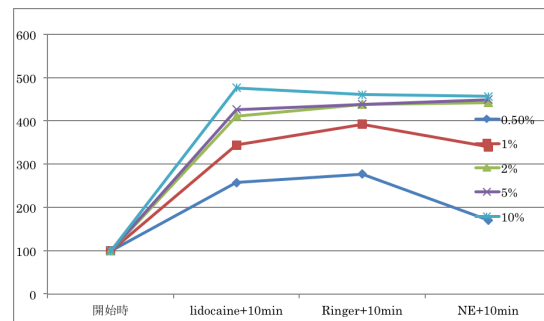
フックを牽引し、1g の負荷をかけた。数分で血管が弛緩してくる為、10 分程度の静置期間を要した。およそプラトーに達した時点で、最終濃度が 5μM になるようにノルエピネフリンを添加した。これにより血管の収縮が認められるため、ミオグラフ上は 1g を上回る様になる。この数値が安定した後、リドカイン塩酸塩、オルプリノン塩酸塩、ニトログリセリン、プロスタグランディン E1、フェントラミンメシル酸塩、塩酸パパペリンを添加した。

4. 研究成果

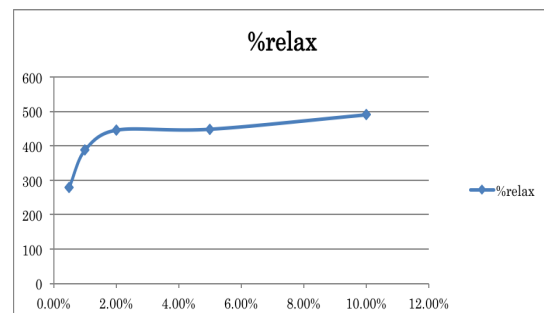
(1) リドカイン塩酸塩

NE、塩酸リドカイン水溶液、リンゲル液、NE それぞれの添加 10 分後の負荷量 (g)

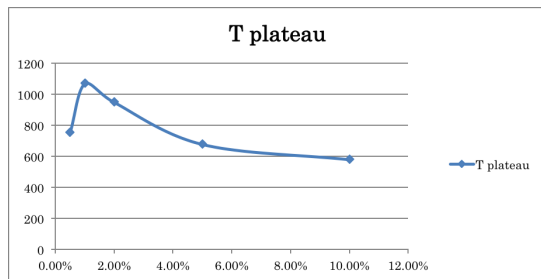
塩酸リドカイン水溶液添加後プラトーに達するまでの時間 (秒)、プラトーに達した時点での負荷量 (g) 上記負荷量測定時の血管の弛緩率について検討を行った。



各濃度の塩酸リドカイン水溶液の投与により血管の弛緩効果が得られた。10 分後に塩酸リドカインを除去し、リンゲル液に置換しても弛緩効果に変化は見られなかった。ノルエピネフリンを追加投与したところ、0.5%、1% の群では弛緩効果の減弱が見られたが、2.0 ~ 10.0% の群では弛緩効果は保たれていた。



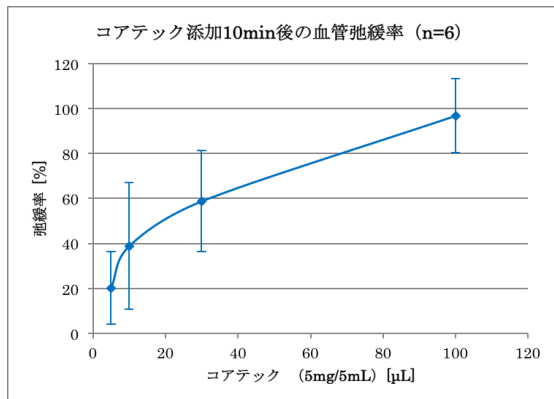
塩酸リドカイン水溶液投与後、プラトーに達した血管弛緩効果を比較した。2%の群までは濃度依存的であったが、それ以上の濃度の塩酸リドカイン水溶液ではほぼ一定となった。



血管弛緩効果がプラトーに達するまでの時間は1~5%までは濃度依存的であったが、5%以上では差は少なくなった。プラトーに達する時間は最短でも10分弱かかった。

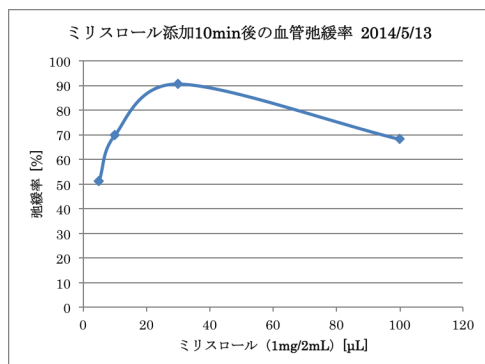
今回の実験からは、(1)塩酸リドカイン水溶液による弛緩効果やその持続性は、2.0%までは濃度依存的であるがそれ以上では一定である、(2)その弛緩効果がプラトーに達するまでの時間は1.0~5.0%までは濃度依存的であるが、それ以上では一定である、と考えられた。

(2) オルプリノン塩酸塩



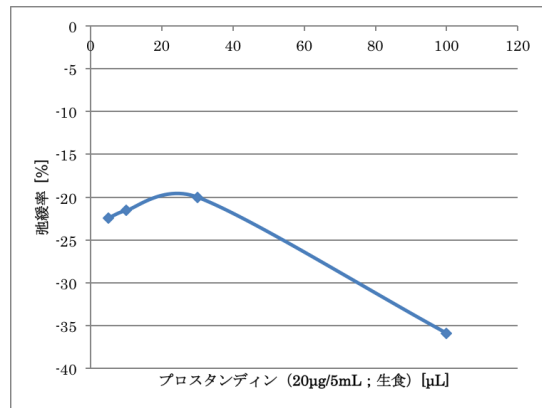
オルプリノン塩酸塩としてコアテック®を用いた。濃度依存的な弛緩率曲線が得られた。3mlのリンゲル溶液に1mg/mlのコアテックを100μl加えた時点(0.1mg/3ml)で、ほぼノルエピネフリンによる血管収縮がキャンセルされた。

(3) ニトログリセリン



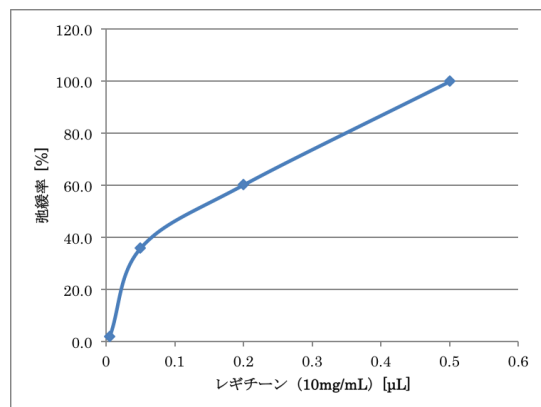
ニトログリセリンとしてミリスロール®を用いた。3mlのリンゲル液に0.5mg/mlのミリスロールを40μl添加(20μg/3ml)の時点で弛緩率は最大となった。その後、弛緩率はやや鈍くなったが、今後、n数を増やして検討を行う必要がある。

(4) プロスタグランジン E1



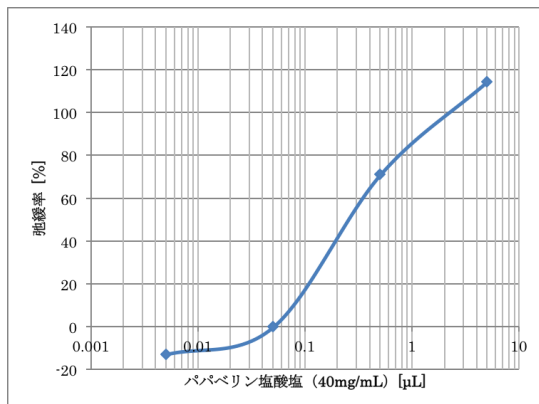
プロスタグランジン E1として、注射用プロスタグランジン®を用いた。本薬剤は血管拡張作用のある物質として通常、全身投与されている。本実験系においては、負の弛緩作用を認めた。つまり、濃度依存的に血管は収縮する傾向にあった。本実験系に用いた濃度を検証したところ、通常投与量をボラス投与した場合の濃度域に入るが、投与方法としては同容量を1~2時間かけて緩徐に投与する事や、肺胞において分解される事等から、極めて低い濃度で作用していると考えられる。一方でPGE1は炎症惹起物質でもあるため、炎症作用による血管収縮が前面に押し出された可能性も否定できない。いずれにしても、更に低容量域における検討を要する。

(5) フェントラミンメシル酸塩



フェントラミンメシル酸塩としてレギチーン®を用いた。他の薬剤同様、濃度依存的な弛緩率曲線が得られた。3mlのリンゲル溶液に10mg/mlのレギチーンを0.5μl加えた時点でほぼノルエピネフリンによる血管収縮

がキャンセルされた。
(6)塩酸パパペリン



他の薬剤同様、濃度依存的な弛緩率曲線が得られた。3ml のリンゲル溶液に 40mg/ml の塩酸パパペリンを 5 μl 加えた時点でほぼノルエピネフリンによる血管収縮がキャンセルされた。

以上より、今回検討を行ったオルプリノン塩酸塩、ニトログリセリン、プロスタグランディン E1、フェントラミンメシル酸塩、塩酸パパペリンのうち、少なくともプロスタグランディン E1 を除いて、濃度依存的な血管拡張作用を認めた。プロスタグランディン E1 については、他の研究知見では血管拡張が認められている事などから、今後、さらに希釈された濃度において検討を行う必要があると考えられる。

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 2 件)

榊原俊介、野村正 ら (著者 5 名、掲載されている順番: 1 番目))
様々な血管吻合術後皮弁モニタリング
日本マイクロ会誌 in press(査読あり)

Sakakibara S, Ishida Y, et al. (著者 5 名、掲載されている順番: 1 番目))

Intima/medulla reconstruction and vascular contraction-relaxation recovery for acellular small diameter vessels prepared by hyperosmotic electrolyte solution treatment.

J. Artif. Organs 2014;17(2):169-77 (査読あり)

[学会発表](計 2 件)

榊原俊介、高須啓之、野村正 ら
多様な血管吻合術後皮弁モニタリング
第 40 回日本マイクロサージャリー学会学術集会 (2013.9.26-28、盛岡)

小川晴生、榊原俊介 ら
マイクロサージャリーにおける抗攣縮薬の効果について
第 39 回日本マイクロサージャリー学会学術集会(2012.12.6-7、福岡)

6. 研究組織

(1)研究代表者

榊原 俊介 (SAKAKIBARA SHUNSUKE)
神戸大学・医学研究科・特命助教
研究者番号: 50444592

(2)研究分担者

寺師 浩人 (TERASHI HIROTO)
神戸大学・医学部附属病院・教授
研究者番号: 80217421

橋川 和信 (HASHIKAWA KAZUNOBU)
神戸大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号: 90403237