

令和 2 年 5 月 31 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11060

研究課題名(和文) 遠隔虚血プレコンディショニングのメカニズムを利用した心停止後症候群治療戦略の検討

研究課題名(英文) A strategy for the treatment of post cardiac arrest syndrome adopting the mechanism of remote ischemic preconditioning.

研究代表者

南嶋 しづか (Minamishima, Shizuka)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号：20622088

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：遠隔虚血プレコンディショニングを伝達する液性因子であり虚血再灌流障害を軽減すると言われているキヌレン酸(KYNA)が、心停止(CA)/心肺蘇生(CPR)後の予後に及ぼす影響についてマウスモデルで検討した。CA/CPRから30分後の血清KYNA濃度は、生存群より7日以内に死亡したマウスで有意に高かった。CPR開始前にKYNAを投与するとCPR開始5分後の血圧は著明に増加したものの、血清過酸化水素濃度も著増し生存率は改善しなかった。KYNAによるCA/CPR後の活性酸素種産生増加や心筋の陽性変力作用のメカニズムの解明、KYNA産生抑制とCPR後の予後改善の可能性などさらなる研究が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、虚血再灌流障害を軽減し臓器保護作用を持つと報告されているキヌレン酸(KYNA)は、CPR直前に投与すると陽性変力作用によりCPR後の心機能を改善する可能性がある一方で活性酸素種の産生を増加するという、『諸刃の剣』である事が明らかとなった。キヌレン酸は中枢神経変性疾患に対する治療薬として既に開発が進んでいる。今後、KYNAが心筋収縮を増強するメカニズムやミトコンドリア機能に及ぼす影響を明らかにすることは、KYNAの臨床応用を虚血再灌流障害領域に拡大していけるかを検討するだけでなく、安全性を担保するためにも重要である事を本研究はあらためて示唆している。

研究成果の概要(英文)：Kynurenic acid (KYNA), one of the humoral mediators of remote ischemic preconditioning, has been reported to protect organs from ischemia reperfusion injury. We studied the impact of KYNA on the outcome of cardiac arrest (CA) and cardiopulmonary resuscitation (CPR) in mice. Serum KYNA level at 30 minutes after CPR was markedly increased in the dead mice group after CA/CPR compared with the alive. Administration of 80 mg/kg KYNA 1 minutes before CPR increased mean arterial pressure but also serum hydrogen peroxide level at 5 minutes after CPR, and then failed to improve survival rate after CA/CPR. Further study is needed to reveal the mechanism responsible for the cardiac inotropic effect and upregulation of reactive oxygen species production.

研究分野：麻酔蘇生学

キーワード：キヌレン酸 心停止後症候群 虚血再灌流障害

1. 研究開始当初の背景

心停止(CA)/心肺蘇生(CPR)による全身性の虚血再灌流障害(IR injury)は心停止後症候群を惹起し、蘇生後の死亡に関与するだけでなく生存者の社会復帰を阻む要因となる。心停止後症候群に対する治療については、これまで様々な薬物¹⁾やガス²⁾が虚血再灌流障害に対し臓器保護作用をもつことが報告されているにもかかわらず、有用性が認められ実用に至ったものはない。以前から知られている下肢骨格筋などの局所の虚血が別の臓器の致死的な IR injury を軽減する遠隔虚血プレコンディショニング(RIPC)のメカニズムに、低酸素に対する生体応答(低酸素応答)を制御する転写因子 HIF と HIF を負に制御する細胞 PHD が重要な役割を果たしていること、さらに、RIPC において血液を介して遠隔臓器に影響を及ぼす液性因子の一つがトリプトファンの最終代謝産物の一つであるあるキヌレン酸(KYNA)であることが明らかとなった³⁾。

2. 研究の目的

KYNA は心臓だけでなく脳⁴⁾や腎臓⁵⁾の IR injury に対し臓器保護的に働くことが明らかにされていることから、CA/CPR 後の全身性 IR injury を軽減し、心停止後症候群の生存率や神経学的予後をも改善するのではないかと考えた。本研究では、KYNA の心停止後症候群に対する治療薬としての有用性をマウスの心 CA/CPR モデルを用いて検討し、RIPC のメカニズムを標的とした新しい心停止後症候群治療法開発へと展開させることを目標とした。

3. 研究の方法

(1)CA/CPR 後の予後と血清 KYNA 濃度との関係についての検討

8~12 週齢の雄性 C57BL/6 マウスに麻酔後、気管内挿管と左大腿動静脈へのカニューレーションを行い、塩化カリウム 0.08g/kg の経静脈的投与により CA を惹起した。9 分間の CA 後に CPR (手指による胸部圧迫と 100%酸素による機械換気)を開始し、自己心拍再開 (ROSC:平均動脈圧 50mmHg) に到達するまで継続した。血行動態はデータ集積システム(PowerLab)で CPR 後 30 分まで記録し解析した。記録終了後 (CPR 開始 30 分後) に大腿動脈より採血後抜管し、その後のマウスの生存率を 7 日間観察した。7 日以上生存した群 (生存群) と 7 日までに死亡した群 (死亡群) に分けて、血清 KYNA 濃度を比較した。

(2)キヌレン酸の CPR 直前投与が予後に与える影響についての検討

上記と同様にマウスに心停止を惹起した。8 分後に KYNA 40 mg/kg を静注し、さらに 1 分後 (CA より 9 分後) に CPR を開始、ROSC に到達するまで継続した。CPR 開始 5 分後に大腿動脈より採血し、IR injury の指標の一つである活性酸素種の産生量を反映する血清過酸化水素濃度を測定した。

4. 研究成果

(1)CA/CPR 後の予後と血清 KYNA 濃度との関係についての検討

CA/CPR から 7 日後の生存率は 53.8%であった (右図)。7 日以上生存した生存群 (n=7) と 7 日までに死亡した死亡群 (n=6) に分けて比較したところ、CPR 開始から ROSC に到達するまでの時間 (s) は生存群: 68 ± 7 、死亡群: 72 ± 11 で差はなかったものの、CPR 開始 30 分後の血清 KYNA 濃度は死亡群で有意に高かった (表 1)。

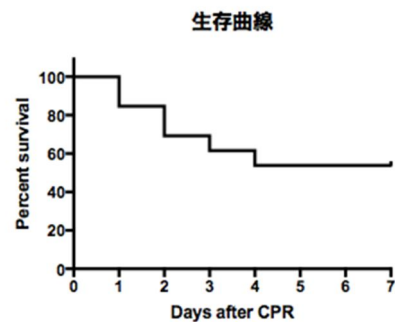


表 1 CPR 開始 30 分後の血清 KYNA 濃度

	生存群 (n=6)	死亡群 (n=5)
血清 KYNA 濃度 (ng/ml)	132 ± 50	235 ± 74*

*P<0.05 vs Vehicle (mean ± SD)

本研究の結果から CA/CPR 後の KYNA 濃度と生存率には負の相関関係があるという、予測と真逆のデータが得られた。KYNA が CA/CPR 後の血行動態や IR injury に及ぼす影響について明らかにするため、(2)の実験を行った。結果を以下に示す。

(2) キヌレン酸の CPR 直前投与が予後に与える影響についての検討

CPR1 分前に KYNA 40 mg/kg を静注した群 (KYNA 群, n=7) と相当容量の Vehicle を投与した群 (Vehicle 群, n=7) で比較したところ、CPR から ROSC 到達までの時間や動脈血液ガス分析に差は

なかった (表 2)。

表 2 CPR 開始 5 分後の動脈血ガス分析

	Vehicle (n=7)	KYNA (n=7)
pH	6.71 ± 0.05	6.68 ± 0.01
PaO ₂	178 ± 29	207 ± 46
PaCO ₂	77 ± 6	82 ± 5

(mean ± SD)

次に、心拍数 (bpm) と平均動脈圧 (mmHg) を測定したところ、心拍数については両群間に差はなかったものの、CPR 開始 5 分後の平均動脈圧は KYNA 群で有意に高かった (表 3)。

表 3 心拍数と平均動脈圧の変化

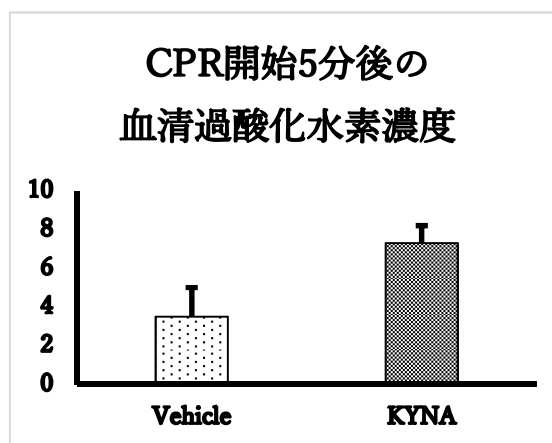
	Vehicle (n=7)		KYNA (n=7)	
	baseline	CPR 開始 5 分後	baseline	CPR 開始 5 分後
心拍数 (bpm)	263 ± 33	515 ± 26	231 ± 15	530 ± 9
平均動脈圧 (mmHg)	95 ± 9	53 ± 11	91 ± 3	82 ± 7*

*P<0.05 vs Vehicle (mean ± SD)

しかし、CPR 開始 5 分後の血清過酸化水素濃度 (μM) は Vehicle 群では 3.5 ± 1.5 であったのに対し、KYNA 群では 7.3 ± 0.9 と有意に高かった (右図)。また、生存率には両群間で差はなかった。

キヌレン酸はトリプトファン代謝の最終産物の一つで、様々な臓器の虚血再灌流障害を軽減し、中枢神経系では抗酸化作用を示すことが報告されている。本研究は、キヌレン酸が PCAS の新たな治療薬になり得る可能性について、CPR 後の血行動態や血清過酸化水素濃度から検討した。CPR 開始 1 分前に KYNA 40 mg/kg を投与した KYNA 群では、CPR 開始 5 分後の平均動脈圧は Vehicle 群に比し有意に高かった。この結果から、KYNA を CPR 前に投与すると CPR 後の心臓の収縮力が増加し、CPR 後の心機能を改善する効果があることが示唆された。しかし、CPR 開始 5 分後の血清過酸化水素濃度は KYNA 群で有意に高かった。KYNA による活性酸素種産生増加のメカニズムは不明であるが、先の実験で血清 KYNA 濃度が CA/CPR 後の死亡群で高かった原因の一つであることが示唆された。

CA/CPR 後の KYNA 産生抑制と生存率との関係や KYNA による心筋の陽性変力作用のメカニズムなど、KYNA と CPR 後の予後との関連についてはさらなる研究が必要である。



< 引用文献 >

1. Minamishima S et al, Circulation 2009;120:888-896
2. Minamishima S et al, Circulation 2011;124(15):1645-1653
3. Olenchock BA et al, Cell 2016; 164:884-95
4. Germano IM et al, Ann. Neurol. 1987;22:730-734
5. Pundir M et al, J. Surg. Res. 2013;183:668-677

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 南嶋しづか
2. 発表標題 心肺蘇生に100%酸素吸入は必要か？
3. 学会等名 第64回日本麻酔科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 南嶋しづか
2. 発表標題 心停止・心肺蘇生後早期のキヌレニン経路活性化は予後を悪化させる
3. 学会等名 第67回日本麻酔科学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鈴木 武志 (Suzuki Takeshi) (80327600)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師 (32612)	
研究分担者	加藤 純悟 (Kato Jungo) (40465018)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教 (32612)	

