

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11053

研究課題名(和文)臓器保護指向型鎮静法の開発：デクスメドトミジンの心保護作用

研究課題名(英文)Organ-oriented sedation strategy: cardioprotective effects of dexmedetomidine

研究代表者

原 哲也 (HARA, Tetsuya)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授

研究者番号：50304952

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：デクスメドトミジンの心保護作用を明らかにするために、心筋虚血の前後でデクスメドトミジンを投与し、気絶心筋の回復に与える影響とその細胞内機序を、ブタの気絶心筋モデルを用いて検討した。デクスメドトミジンの心筋保護作用はPI3K/Aktの活性化を介して発揮され、その下流ではHIF-1の発現が増加していることが示唆された。一方、caspase-3の発現に与えるデクスメドトミジンの影響は有意とは言えず、更なる検討を要すると考えられた。心筋虚血リスクを有する重症患者の鎮静においては、デクスメドトミジンを活用すべきである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

デクスメドトミジンの心保護作用とその細胞内機序は十分には解明されていない。本研究により、デクスメドトミジンは気絶心筋に対する保護作用を有すること、デクスメドトミジンによりPI3K/Akt経路の活性化を介してHIF-1の発現が増加すること、が明らかとなった。これらの結果は、心リスクを有する重症患者の人工呼吸管理における鎮静薬を選択する際の重要な情報であり、周術期や集中治療における重症患者管理を最適化し、鎮静に関連した臓器障害の発生率や死亡率の減少に貢献すると思われる。

研究成果の概要(英文)：Cardioprotective effects of dexmedetomidine against myocardial ischemia/reperfusion injury and its intracellular mechanisms were examined in swine stunned myocardium model. Preischemic or postischemic administered dexmedetomidine enhanced recovery of myocardial contractile function at 90 minutes after reperfusion. Dexmedetomidine increased Akt and HIF-1 alpha expression in ischemic myocardium, and this intracellular signal transductions were abolished by PI3K/Akt inhibitor LY294002 pretreatment. This results suggest that cardioprotective effects of dexmedetomidine are exerted through activation of PI3K/Akt pathway and increase of HIF-1 alpha expression in ischemic myocardium.

研究分野：麻酔学

キーワード：虚血再灌流傷害 気絶心筋 鎮静薬 デクスメドトミジン アドレナリン 2受容体

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

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活性酸素種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Ca²⁺利用の障害あるいはCa²⁺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)。われわれは犬およびブタを用い、左前下行枝の15あるいは12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心筋保護作用を報告してきた(Hara T, et al.: *Anesth Analg* 2001; 92: 1139-45, Yoshitomi O, Hara T, et al.: *J Anesth* 2005; 19: 124-30, Use T, Yoshitomi O, Hara T, et al.: *Cardiovasc Drugs Ther.* 2006; 20: 327-34, Akiyama D, Yoshitomi O, Hara T, et al.: *J Anesth* 2010; 24: 575-81, Yoshitomi O, Hara T, et al.: *Shock* 2012; 38: 92-7, Shibata I, Yoshitomi O, Hara T, et al.: *Scand Cardiovasc J* 2013; 47: 50-7)。

2. 研究の目的

心臓血管手術などの大侵襲手術の術後管理や敗血症などの急性期重症患者管理では人工呼吸管理が必須であり、人工呼吸中の鎮静による低血圧や臓器灌流障害を契機とする多臓器不全が問題となっている。鎮静薬や鎮静法の選択は臓器保護の視点から取り組む必要があり、虚血耐性の増強効果が発揮される抗虚血効果の高い鎮静薬・鎮静法が望ましい。デクスメドミジンはアドレナリン 2受容体に選択性が高い、新しい鎮静薬であるが、その臓器保護作用はいまだ十分には解明されていない。デクスメドミジンの心保護作用を明らかにするために、心筋虚血の前でデクスメドミジンを投与し、そのコンディショニング効果が気絶心筋の回復に与える影響とその細胞内機序を、ブタの気絶心筋モデルを用いて検討する。

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(Akiyama D, Hara T, et al.: *J Anesth* 2010; 24: 575-81, Yoshitomi O, Hara T, et al.: *Shock* 2012; 38: 92-7) 気絶心筋の回復に与えるデクスメドミジンの心筋保護効果を、その虚血前投与(プレコンディショニング)および再灌流時投与(ポストコンディショニング)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。気絶心筋におけるアポトーシスの関与は caspase-3 を用いて評価し、デクスメドミジンによる心筋保護作用の機序として現在、特に注目されている PI3K/Akt および hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) を用いて評価する。

ブタを生体として用いることで、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。デクスメドミジンの心保護作用とその細胞内機序は十分には解明されておらず、重症患者の人工呼吸管理における鎮静を最適化するための重要な情報となる。今回の研究で得られる知見として、デクスメドミジンは気絶心筋に対する保護作用を有すること、デクスメドミジンにより PI3K/Akt および HIF-1 が活性化されること、デクスメドミジンにより caspase-3 の活性化が抑制されることなどが期待される。これらの結果は、周術期や集中治療における重症患者管理に有用な知見をもたらす、鎮静に関連した臓器障害の発生率や死亡率の減少に貢献すると考えられる。

3. 研究の方法

ブタ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、デクスメドミジンが気絶心筋の回復に与える影響とその細胞内機序としての PI3K/Akt、HIF-1、caspase-3 の関与を検討する。デクスメドミジンは虚血前および再灌流時に投与する。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。心保護作用の細胞内機序を解明するために、細胞内シグナル伝達に関わるメディエーターの阻害薬を用い、さらに Western blot 法で心筋組織のタンパク発現を評価する。

実験群を デクスメドミジン虚血前投与群、デクスメドミジン虚血前投与 + PI3K/Akt 阻害薬群、対照群、再灌流直前細胞採取群、デクスメドミジン再灌流時投与群、デクスメドミジン再灌流時投与 + PI3K/Akt 阻害薬群の6群に分け、それぞれ10頭ずつのブタを用いて検討する。

実験1 デクスメドミジン虚血前投与が気絶心筋の回復に与える影響と PI3K/Akt の関与(実験群、)

(1) 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ドューサーカテーテルを留置する。

- (2) 循環動態の安定後にベースライン値を測定する。
- (3) 実験群 ではデクスメドミジン (血中濃度 100 ng/ml) を冠動脈内持続投与する。30 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。
- (4) 実験群 では PI3K/Akt 阻害薬である LY294002 (血中濃度 1 μg/ml) を冠動脈内投与し、その 5 分後にデクスメドミジン (血中濃度 100 ng/ml) を冠動脈内持続投与する。30 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。
- (5) 実験群 ではデクスメドミジン投与を行わず、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。
- (6) 再灌流後 90 分間観察する。
- (7) 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。
- (8) 超音波クリスタルで心筋局所短縮率を測定し心収縮力回復の指標とする。
- (9) カラーマイクロソファ法で局所心筋灌流量を測定する。

実験 2 デクスメドミジンが Akt、HIF-1、caspase-3 の発現に与える影響 (実験群)

- (1) 実験 1 と同様な手技で実験モデルを作製する。
- (2) 循環動態の安定後にベースライン値を測定する。
- (3) 実験群 ではデクスメドミジン (血中濃度 100 ng/ml) を冠動脈内持続投与する。30 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。
- (4) 塩化カリウム液の冠動脈内投与により心停止させ、心筋組織を採取する。
- (5) Akt、HIF-1、caspase-3 それぞれの抗体を用いた Western blot 法により、Akt、HIF-1、caspase-3 の発現を評価する。

実験 3 デクスメドミジン再灌流時投与が気絶心筋に与える影響と PI3K/Akt の関与 (実験群)

- (1) 実験 1 と同様な手技で実験モデルを作製する。
- (2) 循環動態の安定後にベースライン値を測定する。
- (3) 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。再灌流と同時にデクスメドミジン (血中濃度 100 ng/ml) を 30 分間、冠動脈内持続投与する。
- (4) 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 LY294002 (血中濃度 1 μg/ml) を冠動脈内投与し、その 5 分後にデクスメドミジン (血中濃度 100 ng/ml) を 30 分間、冠動脈内持続投与する。
- (5) 再灌流後 90 分間観察する。
- (6) 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。
- (7) 超音波クリスタルで心筋局所短縮率を測定し心収縮力回復の指標とする。
- (8) カラーマイクロソファ法で局所心筋灌流量を測定する。

4. 研究成果

実験 1

デクスメドミジンの虚血前投与により再灌流 90 分後の気絶心筋の回復が促進された。PI3K/Akt 阻害薬 LY294002 の前処置によりデクスメドミジンの虚血再灌流傷害に対する心保護効果は減弱した。

実験 2

デクスメドミジンにより虚血心筋における Akt、HIF-1 の発現が増加し、caspase-3 の発現が減少する傾向にあった。また、PI3K/Akt 阻害薬 LY294002 により、これらのタンパク発現は抑制される傾向にあった。

実験 3

デクスメドミジンの再灌流時投与により再灌流 90 分後の心筋収縮の回復が促進された。PI3K/Akt の阻害薬 LY294002 の存在下ではデクスメドミジンの虚血再灌流傷害に対する心保護効果が減弱した。

実験結果のまとめ

デクスメドミジンの虚血前あるいは再灌流時投与により、12 分間の虚血および 90 分間の再灌流で作成した気絶心筋の回復が促進されたが、これらの心保護作用は PI3K/Akt の阻害薬である LY294002 により消失した。また、デクスメドミジンは虚血心筋における Akt、HIF-1 の発現を増加させたが、これらのタンパク発現は PI3K/Akt 阻害薬 LY294002 により抑制された。これらの結果は、デクスメドミジンの心筋保護作用が PI3K/Akt の活性化を介して発揮され、その下流では HIF-1 発現が増加していることを示唆している。一方、caspase-3 の発現に与えるデクスメドミジンの影響は有意とは言えず、更なる検討を要すると考えられた。心筋虚血リスクを有する重症患者の鎮静においては、デクスメドミジンを活用するべきである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----