

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16730

研究課題名(和文) 麻酔薬による糖尿病患者の血小板機能変化の解明と最適な周術期管理法の基盤確立

研究課題名(英文) Elucidation of anesthetic-induced changes in platelet function and establishment of a basis for optimal perioperative management in diabetic patients

研究代表者

川本 修司 (KAWAMOTO, SHUJI)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：80766668

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では術後集中治療室に入室した糖尿病/非糖尿病患者から術前後に採取した末梢血を用い、 $\alpha_2$ アドレナリン受容体作動性鎮静薬デクスメドミジン(DEX)と静脈麻酔薬プロポフォル(PRO)が血小板活性化マーカー:P-セレクトリン発現(PS)に及ぼす作用を解析した。非糖尿病患者では、DEXにより濃度依存性にPSは亢進したが、術前後間に有意差は認めなかった。低濃度PROは術前後ともPSは亢進し、高濃度では術前のみ抑制された。糖尿病患者ではDEX、PROの術前術後ともPSは非糖尿病群より高くなった。DEXによりPSは亢進し術後が高くなった。PROは低濃度では術前後ともPSは亢進し高濃度では術前のみ抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病患者の血小板に特徴的な機能亢進した $\alpha_2$ アドレナリン受容体と鎮静薬/麻酔薬の関係性、手術侵襲と麻酔薬の血小板P-セレクトリン発現への影響については従来報告がなく、本研究によって周術期に血小板P-セレクトリン発現レベルを解析することの意義が初めて示された。これらの成果により、周術期管理における血小板機能変化の意義がさらに明らかになり、より最適な糖尿病患者の周術期管理方法の開発応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed the effects of the  $\alpha_2$ -agonist dexmedetomidine (DEX) and the venous anesthetic propofol (PRO) on the platelet activation marker: P-selectin expression (PS) in peripheral blood collected before and after surgery from diabetic/non-diabetic patients admitted to the postoperative intensive care unit. In non-diabetic patients, DEX enhanced PS dose-dependently, but there was no significant difference between pre- and postoperative treatment. Low concentrations of PRO enhanced PS both before and after surgery, while high concentrations of PRO inhibited PS only before surgery. In diabetic patients, PS was higher pre- and postoperatively in both DEX and PRO than in nondiabetic patients. As in non-diabetic patients, DEX enhanced PS in a concentration-dependent manner, but it was significantly higher postoperatively than preoperatively. PRO enhanced PS at low concentrations both pre- and postoperatively, and inhibited PS at high concentrations only preoperatively.

研究分野：麻酔科学

キーワード：血小板 糖尿病 麻酔 集中治療 デクスメドミジン プロポフォル  $\alpha_2$ アドレナリン受容体 術後

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病は、様々な術後合併症のリスク因子であり、入院の長期化、保険医療資源の使用増大、および死亡増加の原因となる。最も重大な合併症の一つは、心筋梗塞、脳梗塞などの血栓塞栓症であり、血小板<sub>2</sub>アドレナリン受容体機能の亢進がその一因を担っている可能性が報告されている(Lahiri, P. et al.(2005) Platelets 16,111)。現在、術後集中治療室(ICU)に入室する患者の多くは、<sub>2</sub>アドレナリン受容体作動性鎮静薬デクスメトミジン、または静脈麻酔薬プロポフォールの持続静脈注射により長時間鎮静される。そのため、麻酔薬/鎮静薬の違いによる糖尿病患者の血小板機能変化を解明し、術後の出血・血栓塞栓症予防を考慮した最適な周術期管理方法を確立することが極めて重要である。糖尿病合併患者の血小板は、自然凝集能の亢進や<sub>2</sub>アドレナリン受容体拮抗薬投与による凝集抑制作用の減弱が報告されている。さらに術後ICUに入室し、数日、長ければ数ヶ月もの長期に渡って鎮静され身動きの取れない状況は血栓症を起こすリスクをさらに高めるものである。そのため、術後の出血・血栓塞栓症予防を考慮した糖尿病患者に対する最適な周術期管理法の開発・応用が必要である。

## 2. 研究の目的

本研究では、術後ICUに入室した糖尿病患者および非糖尿病患者から術前後に採取した末梢血を用いて、<sub>2</sub>アドレナリン受容体作動薬デクスメトミジンと静脈麻酔薬プロポフォールが*in vitro*において血小板活性化マーカーとして知られるP-セレクチン発現に及ぼす作用をフローサイトメトリーにより解析し、糖尿病患者由来の血小板に対する鎮静薬/麻酔薬の影響を調べることが目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1)患者背景と血液採取法

本研究の施行に際し、京都大学医学部附属病院 医の倫理委員会より承認を得た(承認番号: R1109)。術前に書面により同意を取得し、食道全摘術または膵切除術を施行後、ICUに入室した糖尿病患者および非糖尿病患者を対象とした。対象患者より手術開始前、および術後ICU入室直後に動脈圧ラインから動脈血(20ml程度)を採取した。20歳未満の患者、術前に血小板数、血小板機能、凝固能に異常を認めた患者、2週間前までに抗血小板薬・抗凝固薬の投与を受けていた患者、術中輸血を受けた患者、血小板機能に明らかに影響を与えるとされる薬剤(ヘパリン、フルルピプロフェン、ヒドロキシエチルデンプン製剤、カテコラミンなど)を術中投与された患者は対象から除外した。患者には吸入麻酔薬(セボフルランまたはデスフルラン)、ロクロニウム、レミフェンタニル、フェンタニルによる全身麻酔を施行した。輸液量は担当麻酔科医に一任し、術後手術室内で覚醒させ、抜管してICUに入室した。

### (2)血小板の調整

血液サンプルに3.8%クエン酸三ナトリウムを10%容量で混合した。血小板数は自動血液分析装置を用いてカウントした。多血小板血漿(PRP)は、血液サンプルを160gで室温にて10分間遠心分離し、次いで上清を回収することによって調製した。残りの下部をさらに1600g、室温で30分間遠心分離し、透明な上清を血小板乏血漿(PPP)とした。PPPで希釈して血小板数を $3 \times 10^5 / \mu\text{l}$ に調整した。

### (3)フローサイトメトリーによるP-セレクチン発現の解析

PRPをPBSで10倍に希釈した。ADP刺激による血小板分析のために、希釈したPRPを30分間室温でデクスメトミジン(0, 5, 10, 100ng/ml)またはプロポフォール(0, 40, 70, 100 $\mu\text{M}$ )でインキュベートした。サンプルは、氷上にて60分間1%ホルムアルデヒドで固定し、4 $^{\circ}\text{C}$ で15分間900gで遠心分離後、PBSで2回洗浄した。ペレットを100 $\mu\text{l}$ のPBSに4 $^{\circ}\text{C}$ で懸濁した。次いで、血小板懸濁液の5 $\mu\text{l}$ を、PER-CPで標識した抗CD61抗体およびPEで標識した抗CD62P(P-セレクチン)抗体を、PBSで調整した50 $\mu\text{l}$ の最終量で、暗所室温で60分間インキュベートした。非特異的結合を推定するためにPE標識IgGを使用した。反応は、氷冷PBSを添加して停止させた。サンプルは、FACS Calibur(Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)を使用して分析した。各サンプルについて、10,000個の血小板からのデータを収集した。血小板は、前方および側方散乱強度およびCD61発現によって同定を行なった。活性化された血小板表面膜上のP-セレクチン発現レベルを、PEの平均蛍光強度(MFI)として記録した。

## 4. 研究成果

非糖尿病患者において、デクスメトミジンにより濃度依存性にP-セレクチン発現は亢進したが、術前と術後間に有意差は見られなかった。また、低濃度プロポフォール(40 $\mu\text{M}$ )は術前後ともP-セレクチン発現は亢進し、高濃度プロポフォール(100 $\mu\text{M}$ )は術前のみ抑制されたが、術後は抑制されなかった。糖尿病患者において、デクスメトミジン、プロポフォールの術前術後いずれの濃度において、P-セレクチン発現は非DM群よりも高い値を示した。非糖尿病患者と同様にデクスメトミジンにより濃度依存性にP-セレクチン発現は亢進したが、術前よりも術後が有意に高くなった。また、プロポフォールは非DM群と同様に低濃度(40 $\mu\text{M}$ )では術前後とも

P-セレクチン発現は亢進し、高濃度(100  $\mu$ M)では術前のみ抑制されたが、術後は抑制されなかった。

周術期における血小板機能は出血量、血栓塞栓症の発症に影響する可能性があり、術後数日、長ければ数ヶ月もの長期間にわたって ICU において投与されるデクスメデトミジン、プロポフォールの血小板機能に対する影響を明らかにすることは麻酔科学研究の中で非常に重要な意味を持つ。今回の結果、糖尿病患者の P-セレクチン発現レベルが、非糖尿病患者より術前後とも高いことは、糖尿病患者由来の血小板が活性化しており、血栓傾向にある可能性を示している。我々の健常人に対する先行研究(Kawamoto S. et al. (2015) Eur. J. Pharmacol. 766, 122)では、デクスメデトミジンは濃度依存性に P-セレクチン発現を亢進したが、これは本研究の結果と一致し、手術侵襲が加わった後もこの傾向は変わらないことを示している。一般に手術侵襲により血管内皮が損傷したり、カテコラミンやサイトカインが分泌されることで術後血小板は活性化される。非糖尿病患者において、デクスメデトミジンは術前後でも血小板活性化の程度は同程度であったことに対して、糖尿病患者では術後の方が P-セレクチン発現が明らかに増加していた。これは、手術侵襲により糖尿病患者血小板の  $\alpha_2$  アドレナリン受容体感受性が亢進または、 $\alpha_2$  アドレナリン受容体数が増加している可能性を示唆している。一方、先行研究で我々は健常者由来血小板を用いて、プロポフォールが血小板機能に対して低濃度で血小板凝集亢進、高濃度で凝集抑制という二相性の作用を及ぼすことを示したが(Hirakata, H. et al. (1999) Anesthesiology. 91, 1361)、今回の結果は非糖尿病患者、糖尿病患者ともに術前は同様の傾向を示した。これは糖尿病がプロポフォールの作用しているされるトロンボキサン  $A_2$  受容体経路やシクロオキシゲナーゼ活性に影響しない可能性を示唆している。また術後は高濃度で P-セレクチン発現が抑制されなかったことは、手術侵襲により血小板が活性化しているためと考えられる。

今回の limitation としては第一に症例数が少ないことが挙げられ、さらなる症例の蓄積が必要である。第二に、術中の薬剤投与量、輸液量、手術時間、手術侵襲、糖尿病の重症度が十分統一化されていないことが挙げられるが、これらを完全に同等にすることは困難である。第三に本研究は *in vitro* での研究であり、薬物代謝や血流、シェアストレス、血小板と血管内皮との相互作用などが評価されていない。今後は臨床において術後 ICU 入室した糖尿病患者にプロポロールやデクスメデトミジンを投与して、血小板機能変化を解析することが必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 川本 修司、福田 和彦	4. 巻 25
2. 論文標題 デクスメトミジンは 2アドレナリン受容体を介してヒト血小板由来マイクロパーティクル産生を増加させる	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本集中治療医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 457-459
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.3918/jsicm.25_457">https://doi.org/10.3918/jsicm.25_457</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Akiko Hirotsu, Eriko Kusudo, Natsumi Mori, Yoshimitsu Miyai, Kengo Suzuki, Shuji Kawamoto, Kazuhiko Fukuda	4. 巻 4
2. 論文標題 Successful perioperative management of living-donor liver transplantation for a patient with severe methylmalonic acidemia: a case report	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia Clinical Reports	6. 最初と最後の頁 83-86
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1186/s40981-018-0221-y">https://doi.org/10.1186/s40981-018-0221-y</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 楠戸 絵梨子、川本 修司、松川 志乃、甲斐 慎一	4. 巻 67
2. 論文標題 第VIII因子インヒビターを有する血友病A患者の麻酔経験	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 麻酔	6. 最初と最後の頁 165-167
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤原 浩平、濱田 美帆、松川 志乃、甲斐 慎一、川本 修司	4. 巻 68
2. 論文標題 A型急性大動脈解離で搬送されたLoeys-Dietz症候群患者に対する4度の麻酔経験	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 麻酔	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shuji Kawamoto, Eriko Kusudo, Kazuhiko Fukuda	4. 巻 6
2. 論文標題 Use of Argatroban in Combination With Nafamostat Mesilate in Open-Heart Surgery for a Pediatric Patient With Heparin-Induced Thrombocytopenia Type II: A Case Report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia Clinical Reports	6. 最初と最後の頁 3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1186/s40981-020-0310-6">https://doi.org/10.1186/s40981-020-0310-6</a>	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 川本 修司
2. 発表標題 肝移植術周術期管理におけるFloTrac/Vigileo systemの位置付け
3. 学会等名 日本麻酔科学会第64回関西支部学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川本 修司、白木 敦子、武田 親宗、清水 覚司、深川 博志、田中 具治
2. 発表標題 Kartagener症候群患者に対する脳死両肺移植術の麻酔経験
3. 学会等名 日本心臓血管麻酔学会第23回学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武田 親宗、名原 功、川本 修司、清水 覚司、深川 博志、田中 具治、米倉 寛、川崎 洋平、竹内 正人、溝田 敏幸、川上 浩司
2. 発表標題 傾向スコアを用いた腹部大動脈瘤人工血管置換術における波形解析機能付き動脈カテーテルの使用と予後の関係
3. 学会等名 日本心臓血管麻酔学会第23回学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 白木 敦子、川本 修司、瀬川 一
2. 発表標題 薬剤性抗利尿ホルモン不適切分泌症候群 (SIADH) により重篤なCO2ナルコーススを呈した脳死左肺移植後の一例
3. 学会等名 第46回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川本 修司
2. 発表標題 明日からの臨床に役立つ管理の実際
3. 学会等名 きょうと周術期呼吸管理セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shuji Kawamoto, Kazuhiko Fukuda
2. 発表標題 Effects of dexmedetomidine and propofol on in vitro platelet P-selectin expression in postsurgical patients in an intensive care unit
3. 学会等名 Euroanaesthesia 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akiko Hirotsu, Eriko Kusudo, Mori Natsumi, Kengo Suzuki, Yoshimitu Miyai, Shuji Kawamoto
2. 発表標題 Successful anesthetic management of a living-donor liver transplant for a patient with severe methylmalonic acidemia: A case report
3. 学会等名 Euroanaesthesia 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村田 裕, 川本 修司, 福田 和彦
2. 発表標題 ロクロニウムはスガマデクスで包接されないモルホリン環を介したP2Y12受容体シグナル伝達経路の遮断作用により血小板機能を抑制する
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会 優秀演題
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池垣 緑, 川本 修司
2. 発表標題 当院における直近5年間のフィブリノゲン製剤の使用実態
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川本 修司, 村田 裕, 福田 和彦
2. 発表標題 大会長企画「胸腹部大動脈瘤の手術・麻酔の知って得する工夫」 「心臓血管外科周術期関連因子と血小板機能」
3. 学会等名 日本心臓血管麻酔学会第24回学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 董 理, 溝田 敏幸, 武田 親宗, 川本 修司
2. 発表標題 成人心臓大血管手術後脳梗塞に関する過去起点コホート研究
3. 学会等名 日本心臓血管麻酔学会第24回学術集会
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----