

平成 22 年 5 月 19 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2008 ～ 2009
 課題番号：20791554
 研究課題名 (和文) セボフルレンの投与方法及び時期が心筋虚血再灌流障害におよぼす影響
 研究課題名 (英文) The effect of manners of administration and timing of sevoflurane on myocardial ischemia / reperfusion injury.
 研究代表者
 古屋 宗孝 (FURUYA MUNETAKA)
 神奈川歯科大学・歯学部・講師
 研究者番号：90318890

研究成果の概要 (和文)：【2008 年度】control 群と 3.9% セボフルレンの投与方法の違いによる 6 群とを比較した。各群における虚血時不整脈および再灌流時不整脈の発生時間および I/R (infarct size/area at risk) に有意差は認められなかった。今回の実験において採血した血液中より 8-OHdG⁺を測定したが検出が困難であった。【2009 年度】control 群、k/x 全麻下セボフルレンを 0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 持続投与した群とを比較した。1.0% 投与群において I/R の縮小効果が認められた。セボフルレン 1.0% の持続投与は 8-OHdG⁺の産生が抑制された。【2008】 We compared 3.9% sevoflurane exposure groups in six different manners of administration with control group. There were no significant differences in duration of arrhythmias during myocardial ischemia and reperfusion and I/R (infarct size /area at risk) among seven groups. Although we measured 8-OHdG⁺ in the blood, we could not detect it.

【2009】 We compared continuous sevoflurane exposure groups in four different concentrations (0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%) under k/x anesthesia with control group. I/R (infarct size /area at risk) was reduced in a 1.0% sevoflurane exposure group. 1.0% continuous sevoflurane exposure depressed production of 8-OHdG⁺.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,600,000	780,000	3,380,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：セボフルレン・心筋虚血再灌流障害・8-OHdG⁺

1. 研究開始当初の背景

この研究を開始する当初、心筋虚血再灌流障害と揮発性吸入麻酔薬に対する研究報

告や背景は以下の通りであった。1986 年に Jennings & Reimer らがイヌを用い、5 分の虚血と 5 分の再灌流を 4 回行うことに

より、その後続く心筋梗塞を生ずる程の長い 40 分間の虚血に対し耐性を持ち、さらに心筋梗塞の範囲を縮小させる現象を見だし ischemic precondition と命名した。また、揮発性吸入麻酔薬であるイソフルレンが同様の効果を有することがウサギ、イヌなどで観察され注目されている。Cason¹⁾らは、ウサギにおいて静脈麻酔薬であるプロポフォールによる全身麻酔薬下、虚血再灌流の 30 分前に 15 分の 1.1 % イソフルレンを吸入させた後、15 分の wash out を行い、infarct size を計測した。その結果、infarct size が優位に縮小することを見だした。さらに、Kersten²⁾らがイソフルレンを曝露したのち、投与をやめ一定期間 wash out したのちに心筋を虚血負荷すると、対照群と比較して優位に心筋梗塞が縮小し、揮発性吸入麻酔薬にも ischemic preconditioning 様効果があることを報告した。その後、揮発性吸入麻酔薬を用いた ischemic preconditioning 様効果には ischemic preconditioning 同様に K⁺-ATP チャンネルが関与していることが解ってきた³⁾。また、摘出モルモット心において、セボフルレンの前処置で、虚血によるミトコンドリアの ATP 減少が抑制され、心機能が改善したと報告された⁴⁾。

以上のように揮発性吸入麻酔薬が心筋虚血再灌流障害に及ぼす影響について報告がなされていた。我々麻酔科医にとっても、日常臨床にて使用している揮発性吸入麻酔薬が虚血性心疾患に対し、いかなる影響を及ぼすかは大きな関心事であり、セボフルレンをはじめとする揮発性吸入麻酔薬が術後の心機能保持に関与しているとの報告もある⁵⁾。しかし、日本において臨床で良く使用されているセボフルレンを用い投与時期や投与方法および投与濃度を詳細に検討し、心筋虚血再灌流障害に対していかなる影響を及ぼすかを検討した文献は調べた限り認められなかった。また、高齢社会や西洋型の生活様式に伴い、虚血性心疾患を有する患者が増加しており、当施設においてもそのような合併症を有する患者に全身麻酔を施行する機会が増加してきたという背景があった。

参考文献

- 1) Brian A. Cason, M. D., A. Kurt Gamperl, Ph. D., Robert E. Slocum, B. S., Robert F. Hickey, M. D. : Anesthetic-induced Preconditioning. *Anesthesiology* 87:1182-1190, 1997.
- 2) Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS, et al: Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K(ATP) channels: Reduction of myocardial size with an acute memory

phase. *Anesthesiology* 87:361-370, 1997.

3) 萬家俊博, 新井達潤. *Ishemic Preconditioning と麻酔, 心臓, Anesthesia 21 Century*; 6 巻, 1-18 号, ソフトナイン, 東京, 4-11, 2004.

4) Novalija E, Kevin LG, Eells JT et al: Anesthetic preconditioning improves adenosine triphosphate synthesis and reduces reactive oxygen species formation in mitochondria

5) Van Der Linden PJ, Daper A, Trenchant A, et al. Cardioprotective effects of volatile anesthetics in cardiac surgery. *Anesthesiology* 2003;99:516-7

2. 研究の目的

上記に示した社会背景等を踏まえ、*in vivo* 心筋虚血再灌流障害ウサギモデルを用い、現在日本で使用されている揮発性吸入麻酔薬であるセボフルレンを単に全身麻酔薬としてではなく、虚血性心疾患を有する患者に積極的に使用する心筋保護薬として投与時期、方法、濃度、時間等を詳細に検討し、心筋保護について検討するとともに、虚血再灌流時に発生する心室性不整脈に対する影響も詳細に検討を行った。また、セボフルレンと活性酸素に対する関係を測定するため、8-ヒドロキシデオキシングアノシン (8-OHdG[·]) を測定した。8-ヒドロキシデオキシングアノシン (8-OHdG[·]) は、活性酸素による生体損傷を鋭敏に反映する。そこで、心筋虚血再灌流に伴い、発生した活性酸素による心筋障害を 8-ヒドロキシデオキシングアノシン (8-OHdG[·]) を指標に測定し、セボフルレンが活性酸素に対し、どのように修飾するのかを解明するために測定を行った。

3. 研究の方法

(1) 前処置

全ての実験群は、以下のように前処置を行った。

ウサギ (New Zealand White、オス、2.5~3.0 kg) に ケタミン (35mg/kg) / ザイラジン (5mg/kg) 混合液 (以下 k/x) を筋注後、全身麻酔下に左側頸動脈および頸静脈を露出後、カテーテルを挿入した。その後、気管切開を行い、気管内チューブを挿入した。頸動脈カテーテルには血圧トランスデューサを、頸静脈カテーテルには点滴回路を接続し、換気は動物用人工呼吸器と動物用麻酔器を用い k/x 全身麻酔下、room air と O₂ の混合ガスで調節呼吸を行った。換気回数 は 25~30 回 / min に調節し、呼気ガスモニターを用い、終末呼気炭酸ガス濃度が 35~45 mmHg、さらに動脈血液ガス分析装置により PaO₂ > 100 mmHg、PaCO₂ : 35~45 mmHg、pH: 7.35~7.45、Base Excess : -3~+3 になるよ

うに換気条件を設定した。体温は直腸温を 37.5~38.5 °C に維持を行った。輸液は点滴回路より生理食塩液を 15 ml/h で実験終了まで持続投与した。左第 4 肋間で開胸後、心嚢膜を切開し、心臓を露出させた。針付き絹糸で房室溝と心尖との中間線上の左冠状動脈前下行枝のまわりを一周させ、その絹糸の両端を内径 2 mm 長さ 2.5 cm のビニールチューブに通し結紮器を作成し、任意に虚血および再灌流が行えるモデルを作成した。血栓防止のために 500 units/h のヘパリンを持続点滴静脈内投与した。虚血は結紮器の糸を牽引しビニールチューブを LAD に圧迫させ止血鉗子でビニールチューブを固定する事で行い、虚血は局所のチアノーゼ、心電図上の ST の変化を指標とした。すべての実験群において循環動態を安定させるために外科手術後 15 分間放置したのち実験操作に先行し循環動態測定と採血を行いベースライン値とした。全ての群において再灌流が終了後、area at risk を同定するために左冠状動脈前下行枝を再結紮し evans blue を投与後、直ちに心臓を摘出し、凍結後、スライス切片を作製し、37 °C、pH 7.4 に調整した 1% 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride 溶液にて染色後、infarct size、area at risk、非虚血部位を我々が開発した方法で、それぞれコンピュータに取り込み、infarct size/area at risk および area at risk/LV (left ventricle) を算出した。また、実験中に測定した心電図を用い、心室性不整脈の発生状態を control 群と比較検討を行った。また、各ポイント(虚血開始 1 分前、再灌流 5 分前、再灌流 30 分後、再灌流 180 分後)にて採血し遠心分離より得られた血清より 8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-OHdG⁺) の測定を行い、control 群と比較検討を行った。

(2) 実験群

各実験群における control 群は、k/x 全身麻酔下、30 分の虚血、180 分の再灌流を行った。

① 実験 1

3.8% セボフルレンを用い、S1 群(k/x 全身麻酔下、虚血 5 分前にセボフルレンを 5 分間投与した群)、S2 群(k/x 全身麻酔下、虚血と同時にセボフルレンを 5 分間投与した群)、S3 群(k/x 全身麻酔下、虚血 5 分後にセボフルレンを 5 分間投与した群)、S4 群(k/x 全身麻酔下、再灌流 5 分前にセボフルレンを 5 分間投与した群)、S5 群(k/x 全身麻酔下、再灌流と同時にセボフルレンを 5 分間投与した群)、S6 群(k/x 全身麻酔下、再灌流 5 分後にセボフルレンを 5 分間投与した群)に分け、実験を行った。

② 実験 2

k/x 全身麻酔下、セボフルレンを持続投与し、30 分の虚血、180 分の再灌流を行い、

心筋保護が得られるセボフルレンの投与濃度を詳細に検討した。すなわち、セボフルレンを投与しない群を control 群、虚血と同時に再灌流終了までセボフルレンを 0.5% 濃度で投与した群(S 0.5 群)、1.0% 濃度で投与した群(S 1.0 群)、1.5% 濃度で投与した群(S 1.5%)、2.0% 濃度で投与した群(S 2.0 群)にそれぞれ実験群を分けた。さらに心筋保護が得られるセボフルレンの最小濃度の投与群を用い、8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-OHdG⁺) を測定し、control 群と心筋保護が得られるセボフルレンの最小濃度を投与したセボフルレン群の活性酸素発生量を測定し、比較検討を行った。

4. 研究成果

(1) 実験 1

循環動態については RPP を指標に行った結果、全ての群において有意差は認められず、各群の循環動態は同一条件であることが証明された。心室性不整脈は全ての群において認められたが、各群における虚血時不整脈および再灌流時不整脈の発生時間に有意な差は認められなかった。R/L (area at risk/left ventricle) は、control 群および各 S 群に有意差は認められず、各群の虚血域は同一条件であったことが証明された。I/R (infarct size/area at risk) は、control 群 64.6±1.7、S1 群 68.0±3.9、S2 群 57.6±4.8、S3 群 51.5±8.7、S4 群 55.7±4.5、S5 群 55.9±10.8、S6 群 58.1±4.8 となり、各群において有意差は認められなかった。今回の実験において採血した血液中より 8-OHdG⁺ を測定したが検出が困難であり再度検討が必要と思われた。実験 1 における実験条件において、各群における循環動態に有意差が認められなかったことから、各群における不整脈の発生時間、I/R、R/L に対し RPP は影響を与えないことが示唆された。また、I/R において各群に有意差が認められなかったことから心筋保護効果は認められないことが示唆され、今回の実験条件において APC (anesthetic preconditioning) は得られず、また、不整脈にも影響を及ぼさないことが示唆された。

(2) 実験 2

各群における循環動態は、各群に有意差は認められなかった。よってこの研究における循環動態は同一条件であることが示唆された。虚血時不整脈は、C 群と比較して S0.5 群、S1.0 群、S2.0 群において発生回数の減少が有意に認められた。再灌流時不整脈の発生回数は各群において有意差は認められなかった。R/L (area at risk/left ventricle) は、有意差が認められず各群における虚血域の大きさは同一であることが示唆された。I/R

(infarct size/area at risk)は、C 群 61.1 ± 3.2 、S 0.5 群 55.2 ± 5.6 、S 1.0 群 39.1 ± 2.9 、S 1.5 群 45.5 ± 3.3 、S 2.0 群 52.1 ± 3.7 であった。S 1.0 群は他群と比較し有意をもって I/R に縮小効果が認められたことから、k/x 全身麻酔下におけるセボフルレン 1.0 % の持続投与は心筋保護効果を有することが示唆された。control 群と S 1.0 群の 8-OHdG 測定を行ったところ S 1.0 群において 8-OHdG の産生が抑制されセボフルレン 1.0 % の持続投与は活性酸素の産生抑制が示唆されたが、さらなる検討を行う予定である。

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)

[学会発表](計1件)

古屋宗孝、前畑洋次郎、小林 杏、樋口一敏、油井 仁、有坂博史、吉田和市、李 昌一、揮発性吸入麻酔薬の心筋虚血再灌流障害と心筋酸化ストレスに及ぼす影響、神奈川歯科大学学会総会、2008、12、6、神奈川。

6. 研究組織

(1)研究代表者

古屋宗孝 (FURUYA MUNETAKA)

神奈川歯科大学・歯学部・講師

研究者番号:90318890