

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 11 日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592011

研究課題名（和文）肺移植術後の気道過敏性亢進メカニズムの解明

研究課題名（英文）Mechanism of airway hyperresponsiveness after lung transplantation

研究代表者

花崎 元彦（HANAZAKI MOTOHIKO）

川崎医科大学・医学部・講師

研究者番号：60379790

研究成果の概要（和文）：肺移植術後に気道過敏性亢進をきたし呼吸管理に難渋することがある。肺移植後の気道過敏性変化に関する報告は散見されるが機序の解明に至ったものはない。移植された肺に気道過敏性亢進を生じさせる膨大な因子の中から、周術期に使用される薬剤が与える影響を調べた。免疫抑制剤シクロスポリン、タクロリムスは移植術後に多用され血管平滑筋を収縮させるが、臨床使用濃度を上回る濃度を投与してもラット気道平滑筋に有意な収縮を生じなかった。また臨床における投与方法を再現すべく免疫抑制剤を連日投与した後の研究でも、アセチルコリンなどのアゴニストへの反応性は変わらなかった。さらに近年登場した筋弛緩拮抗薬スガマデクスについても気道平滑筋収縮を発生もしくは増強させることは無かった。以上より肺移植術後の気道過敏性亢進メカニズムは大変複雑で有り今回の研究で調べたもの以外の因子の関与が示唆された。

研究成果の概要（英文）： It has been reported that an airway hyperresponsiveness (AHR) was observed in the non-asthmatic recipients who received lung transplantation. The mechanism of AHR after lung transplantation is unclear, and various factors seem to be involved in. Immunosuppressants are commonly used in transplanted patients to prevent the acute transplant rejection. These agents are reported to cause hypertension, suggesting they may cause vascular smooth muscle contraction. Both cyclosporine A and tacrolimus had no effect on the contraction in rat airway smooth muscle. And, effect of sugammadex, novel agent for reversal of neuromuscular blockade, was also examined. Sugammadex also failed to show significant contractile effects on rat airway smooth muscle. These result showed that the mechanism of AHR after lung transplantation is complicated and need further investigation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：麻酔・蘇生学

キーワード：移植、再生医療、シグナル伝達、アレルギー、気道過敏性、カルシウム感受性、免疫抑制剤、筋弛緩薬

## 1. 研究開始当初の背景

特発性間質性肺炎、肺リンパ脈管筋腫症など有効な治療法が無く進行性の肺疾患に対する唯一の治療法は肺移植術であり、肺移植周術期管理の中で術後に移植肺を良好に保ちながら呼吸管理を行うことは最重要課題の一つである。移植肺に特有の問題として、ドナーからの摘出時に本来の神経系が切断された脱神経の状態であるため、咳反射の消失や反射性調節呼吸への影響のほか気道の過敏性にも変化をきたす。研究代表者は肺移植周術期管理において、気道過敏性変化が見られ術後管理が困難となった症例を経験してきた。この肺移植術後の気道過敏性変化については脱神経のみでは十分に説明できずメカニズムも解明されていない。

肺移植後の気道過敏性変化に関する報告は散見されるが殆どは症例報告もしくは **retrospective** に臨床症状や成績を考察したものである。その一つに喘息の既往があるドナーから、既往のないレシピエントへの肺移植後にレシピエントが喘息を発症した報告がある。我々も同様の症例を経験し、 $\beta_2$  刺激薬塩酸プロカテロールの吸入で症状改善が見られた。これらはドナー肺という「局所」において一度獲得された気道過敏性がレシピエントに移植後も維持されていることを示し興味深い。喘息既往の有無に関わらず肺移植術後患者ではメタコリン、ヒスタミンに対する気道過敏性が亢進しているとの報告もあり、脱神経以外の要因、とくに局所における気道過敏性変化機構の存在を示唆している。

気道をはじめとする平滑筋収縮機構において従来はアゴニストによる刺激で細胞膜の  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルが開放し  $\text{Ca}^{2+}$  が細胞内に流入する（細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇）ことが機序と考えられていた。しかし近年、これに加えて細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度に依存しない収縮機構（ $\text{Ca}^{2+}$  感受性調節機構）の存在が確認された。これは平滑筋異常収縮を機序とする病態に深く関連し喘息などの気道過敏性亢進もその例外ではない。

研究代表者、分担者は気道平滑筋収縮機構に関する研究を従来より行いラット気道平滑筋においても  $\text{Ca}^{2+}$  感受性調節機構が存在すること、 $\text{Ca}^{2+}$  感受性亢進機序に対して各種の麻酔薬が抑制作用を示すこと、G 蛋白 RhoA とその下流に位置する ROCK からなる RhoA-ROCK 系を抑制することで  $\text{Ca}^{2+}$  感受性亢進が抑制されることなどを示してきた。肺移植術後の気道過敏性に影響を与えうる

ものとしては、先述の脱神経だけでなく、術後に投与される膨大な治療薬の影響、さらには移植肺という局所に発生する器質的変化や  $\text{Ca}^{2+}$  感受性亢進機序などのアゴニストへの反応性変化など様々な因子があげられ、それらが単独、もしくは複合して気道過敏性亢進を発生していると考えられる。

以上の背景より研究代表者らは、肺移植術後の気道過敏性亢進のメカニズムを解明し、その制御法を見いだすことが我が国の移植医療をさらに発展させることになると考え、そのアプローチとして周術期に使用される薬剤が気道過敏性亢進メカニズムに与える影響について調べる本研究の着想に至った。

## 2. 研究の目的

肺移植術の術後管理において、気道過敏性亢進による気道抵抗上昇など、しばしば呼吸管理に難渋する症例を経験する。移植肺は脱神経という特異な状態だけでなく時間経過とともに気道において生理学的変化を来している可能性が有る。本研究はこの肺移植術後の気道過敏性変化のメカニズムを解明し、その制御法を確立することで我が国の移植医療をより発展させることを目的に行うものである。

## 3. 研究の方法

### ラット気管支における等尺性張力に免疫抑制剤が与える影響

移植術後患者に必ず投与される免疫抑制剤は血管平滑筋で強力な収縮作用を示すことが報告されているが気道平滑筋への作用は不明である。免疫抑制剤が気道平滑筋収縮に与える影響を調べた。

雄性 Wistar 系ラットの左主気管支より幅 3mm の輪状切片を作成し Krebs-Henseleit 液を含むオーガンバス（容量 5mL）に設置した後、以下のプロトコルで等尺性張力を測定した。

(1) 安定した静止張力 (1g) を得た後にシクロスポリンまたはタクロリムス (FK506) (10  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$ ) を投与した。

(2) シクロスポリンまたはタクロリムス (10  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$ ) で前処置した後にアセチルコリン (ACh) (0.1  $\mu\text{M}$ -1 mM) を累積投与した。

## 免疫抑制剤の反復投与がラット気管支平滑筋収縮に及ぼす影響

ラット気道平滑筋において、免疫抑制剤の単独投与は有意な収縮系作用を示さなかったが、実際の臨床において免疫抑制剤は移植術後、連日投与される。このため反復投与が及ぼす影響についても調べた。

雄性 Wistar 系ラットを 3 群に分けシクロスポリン (10 mg/kg)、タクロリムス (1 mg/kg)、およびコントロール群として vehicle を皮下注射した。3 日および 7 日間投与後のラットから左気管支輪状切片 (幅 3mm) を作成し Krebs-Henseleit 液を含むオーガンバス (容量 5mL) に設置、安定静止張力 (1g) を得た後に以下のプロトコルで等尺性張力を測定した。

- (1) アセチルコリン (ACh) (0.1 M-1 mM) を累積投与した。
- (2) アトロピン (1  $\mu$ M)、インドメタシン (1  $\mu$ M) 存在下に high K<sup>+</sup> 溶液 (10 - 90 mM) を累積投与した。

## スガマデクスがラット気管支平滑筋収縮に及ぼす影響

手術終了後、術中に使用した筋弛緩薬の拮抗には従来抗コリンエステラーゼ薬が使用されてきたが、そのムスカリン作用により気道平滑筋収縮を来すため、喘息など気道過敏性亢進患者への投与は困難であった。近年登場したスガマデクスは筋弛緩薬と包接複合体を形成するという機序により拮抗を得るため気道過敏性亢進患者にも安全に使用しうると期待された。しかし重大な副作用として気管支痙攣が比較的高頻度で発生するとされその機序は不明である。このスガマデクスの使用が気道平滑筋収縮の原因となる可能性があるためこの影響を調べた。

雄性 Wistar 系ラット (12 週) から 3mm の左気管支輪状切片を作成し Krebs-Henseleit 液を含むオーガンバス (容量 10 mL) に設置した。安定静止張力 (1g) を得た後に以下のプロトコルで等尺性張力を測定した。

- (1) スガマデクス (0.01  $\mu$ M-1mM) を累積投与した。
- (2) ACh 30  $\mu$ M で安定した収縮を得た後、スガマデクス (10 および 100  $\mu$ M) を投与した。
- (3) アセチルコリン (ACh) (0.1  $\mu$ M-1mM) を累積投与した。その後 Krebs-Henseleit 液により再び安定静止張力を得た。スガマデクス (10  $\mu$ M) を 5 分間投与した後 ACh (0.1  $\mu$ M-1mM) を累積投与した。

スガマデクス投与前後における ACh の濃度反応曲線を 2way ANOVA、Bonferroni test により比較した。

## 4. 研究成果

### ラット気管支における等尺性張力に免疫抑制剤が与える影響

- (1) シクロスポリンまたはタクロリムス (10  $\mu$ M, 100  $\mu$ M) の投与では静止張力にいずれも影響を及ぼさなかった。
- (2) シクロスポリンまたはタクロリムス (10  $\mu$ M, 100  $\mu$ M) で前処置した後にアセチルコリン (0.1  $\mu$ M-1 mM) を累積投与した。シクロスポリンの前処置はアセチルコリンによる収縮に有意な影響を及ぼさなかった。タクロリムスは 10  $\mu$ M で有意な作用を見せなかったが、100  $\mu$ M ではアセチルコリンによる濃度-反応曲線を右方移動させ有意な抑制作用を示した。

これらの結果より免疫抑制剤は少なくとも臨床使用濃度 (シクロスポリン; 0.2  $\mu$ M, タクロリムス; 0.02  $\mu$ M) では気道平滑筋収縮を発生、増強する作用は無いと考えられ、肺移植術後の気道過敏性上昇には他の要因が影響していることが示唆された。

### 免疫抑制剤の反復投与がラット気管支平滑筋収縮に及ぼす影響

シクロスポリン、タクロリムス群ともに 3、7 日投与後のラット気管支において、ACh、high K<sup>+</sup> に対する反応性はいずれもコントロール群に対して有意差がみられなかった。本研究では臨床使用量 (シクロスポリン A ; 3-5 mg/kg、タクロリムス ; 0.1-0.3 mg/kg) を超える免疫抑制剤を投与したが有意な作用は確認されなかった。免疫抑制剤は副作用として高血圧や腎血流低下による乏尿が見られ血管平滑筋収縮作用が示唆されるが、少なくともラット気道平滑筋への影響はないと考えられた。

単回投与の結果とあわせると、免疫抑制剤が単独でラット気道平滑筋収縮を発生、増強することは無いと考えられ、肺移植術後の気道過敏性上昇には他の要因が影響していることが示唆された。

### スガマデクスがラット気管支平滑筋収縮に及ぼす影響

- (1) スガマデクスは臨床使用濃度をはるかに上回る 1mM でもラット気道平滑筋に収縮を発生させなかった。

(2) 30  $\mu$ M の ACh による収縮に対して、スガマデクスは 10  $\mu$ M、100  $\mu$ M ともに有意な影響を示さなかった。

10  $\mu$ M は臨床使用濃度、100  $\mu$ M は投与直後の最高血中濃度を考慮して設定された。

(3) スガマデクスの存在は ACh による収縮に対して影響を示さなかった。

以上より、スガマデクスが単独で気道平滑筋収縮を発生もしくは増強する可能性は低いと思われ、他の要因の関与が示唆された。

#### 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 4 件)

1. Sakai H, Nishizawa Y, Nishimura A, Chiba Y, Goto K, Hanazaki M, Misawa M. Angiotensin II induces hyperresponsiveness of bronchial smooth muscle via an activation of p42/44 ERK in rats. *Pflugers Arch.* (査読有り) 2010; 460, 3, 645-655

2. Yamasaki A, Omori M, Hanazaki M, Murakami F, Takaya T, Shimoda Y, Tanaka T. The postoperative management of patients after pluriopneumectomy--influence of the mode of the operation. Masui. (査読有り) 2010; 59(11): 1400-4.

3. Hanazaki M, Takata K, Goto K, Katayama H, Yokoyama M, Morita K, Shirakawa Y, Yamatsuji T, Naomoto Y. Anesthetic management of a patient with Alport-leiomyomatosis syndrome. *J Anesth.* (査読有り) 2009; 23(3):453-5.

4. Chiba Y, Sato S, Hanazaki M, Sakai H, Misawa M. Inhibition of geranylgeranyltransferase inhibits bronchial smooth muscle hyperresponsiveness in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* (査読有り) 2009; 297(5): L984-91.

[学会発表] (計 17 件)

1. 落合陽子、土井ゆみ子、花崎元彦、片山浩：臍頭十二指腸切除後、上腸間膜静脈狭窄症が原因で代謝性アシドーシスおよび心拍出量の低下が遷延した一症例。第 29 回日本集中治療医学会中国四国地方会。2012 年 1

月 28 日。倉敷市

2. Hanazaki M, Katayama H, Nakatsuka H, Fujita Y, Chiba Y: Effects of systemic treatment with immunosuppressants on rat airway smooth muscle contraction. ASA 2011 Annual Meeting 2011 年 10 月 16 日 米国シカゴ

3. 落合陽子、川上朋子、土井ゆみ子、花崎元彦、片山浩。薬剤性と思われる出血傾向から緊急気道確保を必要とした一症例。日本麻酔科学会 中国・四国支部第 48 回学術集会。2011 年 9 月 17 日 広島市

4. 高野洋平、大森恵、花崎元彦、高谷哲夫、村上史高、下田豊：腹腔鏡下虫垂切除術直後に ARDS を発症した 1 例。第 28 回日本集中治療医学会中国四国地方会。2011 年 6 月 19 日 米子市

5. 花崎元彦、森田潔、山岡建介、酒井寛泰、千葉義彦、三澤美和：免疫抑制剤の反復投与がラット気道平滑筋収縮に及ぼす影響。日本麻酔科学会第 58 回学術集会。2011 年 5 月 19 日 神戸市

6. 花崎元彦、溝渕知司、森田潔、山岡建介、酒井寛泰、千葉義彦、三澤美和：ラット気道平滑筋収縮に及ぼす免疫抑制剤の影響。第 84 回日本薬理学会年会。2011 年 3 月 (東日本大震災のため誌上開催)

7. Hanazaki M, Morita K, Sakai H, Chiba Y, Misawa M: Effect of immunosuppressants on rat airway smooth muscle contraction. ASA 2010 Annual Meeting. 2010 年 10 月 17 日 米国サンディエゴ

8. 高野洋平、大森恵、花崎元彦、高谷哲夫、村上史高、下田豊：術後にシベノールによると思われる高度低血糖発作を繰り返した 1 例。日本麻酔科学会中国・四国支部第 47 回学術集会。2010 年 9 月 11 日 米子市

9. Hanazaki M, Mizobuchi S, Morita K, Kohjitani A, Sakai H, Chiba Y, Misawa M: Rho-kinase inhibitors augment anesthetics-induced relaxation in rat airway smooth muscle. *Worldpharma* 2010. 2010 年 7 月 19 日 デンマーク、コペンハーゲン

10. Sakai H, Chiba Y, Hanazaki M, Misawa M: Angiotensin II induces

hyperresponsiveness of bronchial smooth muscle via an activation of p42/44 ERK in rats. Worldpharma 2010. 2010年7月19日 デンマーク、コペンハーゲン

1 1. 西澤裕子, 西村綾子, 酒井寛泰, 渡邊悠, 千葉義彦, 花崎元彦, 三澤美和: 気道の薬理学的研究 (第 338 報): ラット気管支平滑筋の angiotensin II 誘発気道過敏性における Src familykinase の関与. 第 122 回 日本薬理学会関東部会. 2010年6月5日 静岡市

1 2. 花崎元彦, 溝渕知司, 森田潔, 山岡建介, 千葉義彦, 三澤美和: 免疫抑制剤がラット気道平滑筋収縮に及ぼす影響. 日本麻酔科学会第 57 回学術集会. 2010年6月4日 福岡市

1 3. 友成雅敏, 吉沼裕美, 佐藤幸子, 花崎元彦: 家族性筋緊張性ジストロフィー患者に対して硬膜外併用脊髄くも膜下麻酔が有用であった一例. 日本臨床麻酔学会第 29 回大会. 2009年10月30日 浜松市

1 4. Hanazaki M, Yokoyama M, Morita K, Kohjitani A, Chiba Y: Rho-kinase inhibitors augment anesthetics -induced relaxation in rat airway smooth muscle. ASA 2009 Annual Meeting. 2009年10月17日 米国ニューオーリンズ

1 5. 石井美穂, 大戸浩峰, 乙咩公通, 花崎元彦: Plastic bronchitis に対する緊急粘液栓除去術の麻酔経験. 日本麻酔科学会関東甲信越・東京支部第 49 回合同学術集会. 2009年9月26日 松本市

1 6. 花崎元彦: ALI および敗血症性ショックを伴った患者の緊急開腹手術の麻酔管理. PBLD 「気道確保困難症例、肺疾患患者の麻酔」日本麻酔科学会第 56 回学術集会. 2009年8月17日 神戸市

1 7. 花崎元彦, 千葉義彦, 横山正尚, 森田潔, 糀谷 淳, 酒井寛泰, 三澤美和: Y-27632 はイソフルランの気道平滑筋弛緩作用を増強する. 第 82 回日本薬理学会年会. 2009年3月16日 横浜市

[図書] (計 3 件)

1. 花崎元彦, 中塚秀輝: 文光堂 2010 年. 麻酔科トラブルシューティング AtoZ 「最後の筋弛緩薬投与から 3 時間経過し麻酔覚醒の時期にも拘わらず、筋弛緩モニターで四連

反応比が 50%以下である」. pp522-523

2. 花崎元彦, 中塚秀輝: 文光堂 2010 年. 麻酔科トラブルシューティング AtoZ 「筋弛緩リバース後覚醒したら再手術のため、再挿管が必要になった」. pp524-525

3. 花崎元彦, 高田研, 五藤恵次: メディカルサイエンスインターナショナル 2009 年. Lisa 「肺全摘後の肺水腫 (PPE)」. pp544-547

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]

ホームページ等  
<http://kwweb-res.kawasaki-m.ac.jp/kwmhp/KgApp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

花崎 元彦 (HANAZAKI MOTOHIKO)  
川崎医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 60379790

(2) 研究分担者

千葉 義彦 (CHIBA YOSHIHIKO)  
星薬科大学・薬学部・准教授  
研究者番号: 00287848

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: