

## 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5月24日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592018

研究課題名（和文） 麻酔ならびにショック時の血管反応性に関する研究

研究課題名（英文） Vascular reactivity during anesthesia and shock in human arteries in vitro

研究代表者

恒吉 勇男 (TSUNEYOSHI ISAO)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号：90301390

研究成果の概要（和文）：生体内ペプチドによる麻酔およびショック時の血管反応ならびに生体反応に及ぼす影響を検討した。新しい鎮静薬であるベンゾジアゼピン誘導体の JM1232(-) に関して人血管に対する直接的影響とラットを用いた in vivo での循環反応に及ぼす影響に関して検討した。またヒトインスリン感受性を中心とした麻酔の代謝に及ぼす影響に関して、血糖コントロールのバイオマーカーである 1.5AG を測定して検討した。

研究成果の概要（英文）：We tested the effects of human peptides during anesthesia and shock on human vascular smooth muscle and vital reactions. A novel isoindolin-1-one derivate, JM1232(-), directly dilated human gastropiploic arteries in vitro in clinical doses and this drug suppressed the heart rate and blood pressure of rat dose-dependent manner. In addition, as to the relationship between blood sugar and insulin susceptibility during anesthesia, we measured a biomarker for blood sugar control, 1.5AG, in patients with general anesthesia.

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	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：周術期管理学

## 1. 研究開始当初の背景

生理活性ペプチド（ホルモン）は生命活動に必要なシグナルを標的臓器に伝えることで臓器・組織の相互連携を可能とし、円滑な生命活動を可能にするネットワークトランスポーターとして重要な役割を担っている。したがって、ホルモンの分泌低下や異常亢進は、諸臓器の急速な機能低下あるいは亢進をもたらす、結果として生体活動のバランスを喪

失させ、生命の危機的状況を惹起することになる。麻酔、集中治療の分野は、このようなホルモンバランスの喪失をもたらす危機的場面によく遭遇する。たとえば、一般的に用いる全身麻酔は、生体の生理反応や代謝活動を抑制し、またホルモンの分泌を低下させることで、侵襲に対する抵抗性を急速に低下させる。さらに、敗血症や多臓器不全などの危機的状況では、ホルモンの役割は重要性を増

し、最大限のペプチド活性を得ようとホルモンを限界まで分泌させることで、細菌感染をはじめとする侵襲反応に打ち勝とうとする。しかし、やがて細胞は恒常性を失い、ホルモン分泌の枯渇や刺激伝達系の機能低下からネットワーク機能が破綻し、生命の危機的状況を迎えることになる。それ故、生体反応とホルモンの分泌動態ならびに作用機序を研究・解明することは非常に大切である。

## 2. 研究の目的

麻酔・集中治療の分野で特に重要となるホルモンは、循環に関わるホルモンと代謝に関わるホルモンであると思われる。

### (1) 病的状態における血管反応性の変化

多臓器不全にホルモンを投与し、生命維持に重要な臓器、組織活動を回復させることは、新しい試みであり、その有効性に期待が懸けられている。特に、臓器障害の発生において全身に張り巡らされている血管系とそれを介して伝達されるさまざまな生理活性物質が深く関与しており、そのネットワークの解明と血管反応性に関する検討はぜひとも必要である。近年、米国コロンビア大学のLandryらのグループが少量のバソプレシン持続投与が敗血症時の血管拡張性ショックに対し著明な血管反応性の改善をもたらし、ショックの治療法としてのバソプレシンの有用性を報告した。我々もバソプレシンが敗血症ショック患者において強い昇圧効果を発揮すること、体液代謝に影響を与えないこと、またその抗利尿作用と逆説的にショック患者においては強い利尿効果を持つことを報告した (Critical Care Medicine, 2001, 29:487-493)。しかし、ショック時におけるホルモンの分泌動態とその反応性に関して、いまだ不明な点が多い。

本研究ではショック時における

- ① 血管弛緩、収縮因子の発現状況および各因子間の相互作用
- ② 内因性ホルモンの分泌と循環動態との関連性について、臨床研究および基礎実験を通して明らかにし、
- ③ 血管反応性低下のメカニズムを分析解析することで血管反応性を回復させる新しい治療法の開発を到達目標とする。

### (2) 麻酔時の生体内ホルモン分泌変動とその生理反応の変化

手術侵襲と代謝に関する研究を継続する。特に、インスリンは、糖代謝の主役のみならず体温保持や抗炎症作用といった未知の役割を担っている可能性もあり、手術侵襲や糖尿病との関連性を踏まえ検討する。また、アディポネクチンは、インスリン機能と密接に関係している可能性が示唆されており、代謝に

関連するホルモンやサイトカインとのネットワークを解明し、全身管理に役立つ新しい治療指針を検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) 病的状態における血管反応性の変化

当研究室ではより臨床病態を反映するためヒト血管にスポットをあて、等尺性張力測定法を用いた血管反応性に関する基礎実験を行ってきた。具体的には、胃癌患者の胃切除術に際し取り出された胃大網から胃大網動脈を切除し、実体顕微鏡(ニコン SMZ-2T-2)を用いて大網動脈周囲の結合織や脂肪をブラントを用いて取り除き2mm大の血管リングを作成し、等尺性張力をストレインアンプ(日本電気三栄, 6M82)を用いて測定し、ペンレコーダー(ナショナル, VP-6527)で記録、解析した。また、血管細胞内に含まれているcGMP等の細胞内伝達物質の変化を生化学的手法を用いて測定した (Br. J. of Anaesth. 76, 251-257, 1996, Anesth Analg. 82, 943-953, 1996)。

### テーマ1. 敗血症ショック時の内皮機能の変化についての検討

敗血症ショック時には血管内皮から様々な拡張性因子が放出され血管虚脱をもたらすと推察されているが、特にNO、プロスタサイクリンおよび内皮由来過分極因子(EDHF)の3者のかかわりが大きいと考えられている。動物の血管を用いた実験において大血管ではNOによる、小血管ではEDHFによる血管拡張作用が強いと報告されているが、ヒト血管における各因子の発現状況、相互連関についてはよく分かっていない。今回、ヒト胃大網動脈および腸管膜動脈の末梢細動脈をエンドトキシンやサイトカイン等の炎症性ケミカルメディエーターで刺激することで敗血症ショック血管モデルを作成し、各種拡張性因子の血管に及ぼす影響を各々の拮抗剤を投与することで検討する。本実験結果は、敗血症ショック患者の血管内皮機能をコントロールする上できわめて重要な情報源となり得ると思われる。

### テーマ2. 敗血症ショック患者の内因性ホルモンの変動に関する検討

敗血症ショック時にはストレスホルモンの分泌が亢進し、循環および体液バランスの校正を行うと考えられている。

近年、敗血症ショックや出血性ショック患者に認められる循環虚脱の原因の一つとしてストレスホルモンの枯渇による循環失調が提唱されている。我々は、敗血症ショック患者の血液中バソプレシン濃度はショック後期には低値となり、少量の外因性バソプレシンの持続投与により循環の改善が認められることを報告した。このバソプレシン投与によるショックの治療は、ストレスホルモンの枯渇に対する補充療法としての意味合いがあり新しい治療法として興味を持たれる。しかし、現在までに敗血症ショック患者におけるストレスホルモンの分泌動態はよく分かっていない。今後の課題として、敗血症のみならず出血および体外循環に起因したショック患者のホルモン動向を観察し、ストレスホルモンの循環動態に与える効果を明らかにしたい。これらの結果により血管作動性ホルモンの補充投与の必要性および妥当性が明らかになるものと思われる。

#### テーマ3. 内因性ホルモンのヒト血管平滑筋に及ぼす影響に関する検討

以前我々は、バソプレシンのヒト血管平滑筋に及ぼす影響を検討し、バソプレシンが強いノルエピネフリン感受性の亢進をもたらすことを報告した。今後、この実験を継続しバソプレシンとノルエピネフリンとの相互作用に介在するシグナル伝達系を解明し、効果発現の機序を明らかにする。これより得られた結果は、薬剤抵抗性の血管拡張を伴ったショック患者の治療薬開発の上で重要な知見となり得る可能性を秘めていると考えられる。また、バソプレシンのみならずレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系を含めた血管作動性ホルモンのヒト血管に及ぼす影響を検討し、それらホルモンの循環維持における役割を明らかにする。

#### テーマ4. ショック時のヒト血管平滑筋における筋源性収縮反応 (Myogenic response) に関する検討

血管平滑筋は血流、圧、温度に対し血管径を一定に保とうとする自動能 (Myogenic response) を有していると考えられている。ショック時にはこれらの刺激に対する myogenic response は失調し患者の循環動態に強い影響を与えているものと推察されるが、これまでにヒト血管における myogenic response を検討

した研究は皆無である。今回申請する Pressure Servo Control system はサーボコントロールで血管内圧を細かく調整でき shear stress や血圧に対する myogenic response の変化が観察可能となる。さらに、従来から当研究室で検討しているショック血管モデルにこれらのシステムを導入することでショック患者の血管に生じうる myogenic response の変化を in vitro で研究できる。これらの結果は、ショック患者における myogenic response の循環への影響を知り得るのみならず、vascular auto-regulation 機構の変化を知るうえでも貴重なデータとなり得ると思われる。

#### テーマ5. ショック血管における抗酸化剤 (ラジカルスカベンジャー) の効果に関する検討

ショック時には活性酸素をはじめ種々のフリーラジカルが産生され血管を傷害する。また NO は活性酸素と結合しヒドロキシラジカルを生成し強い血管内皮障害を惹起することが知られている。血管内皮細胞の保護は、循環のみならず血小板の活性化やトロンボモジュリンの不活化をはじめとする血液凝固系の保全を考える上でも重要である。今回、ショック血管におけるラジカルスカベンジャーの効果を検討することで、ショック時に認められる血管細胞傷害に対する治療薬としての効果を明らかにする。

#### (2) 麻酔時の生体内ホルモン分泌変動とその生理反応の変化

##### テーマ1. 麻酔薬とインスリン分泌および反応性に関する検討

吸入麻酔薬はインスリン分泌を抑制することが知られている。しかし、完全静脈麻酔時におけるインスリンの分泌に関してはよく判っていない。麻酔薬とインスリン分泌能の変化を経時的に測定し、両者の相互関係を明らかにする。

##### テーマ2. 手術侵襲とアディポネクチン分泌に関する検討

これまでの研究において、麻酔中のアディポネクチンの変化は検討されていない。したがって、麻酔侵襲においてアディポネクチン分泌がどのように変化するかを明らかにし、生体反応の変化との関連性を明らかにする。

##### テーマ3. 手術侵襲とレプチン分泌に関する

## る検討

麻酔中のレプチンの変化に関しても、これまで十分に検討されておらず、不明な点が多い。麻酔侵襲においてレプチン分泌がどのように変化するのかを明らかにし、生体反応の変化との関連性を明らかにする。

テーマ 4. 麻酔薬と代謝に関係するホルモンの測定を継続する。

ホルモン測定の対象を麻酔のみならず集中治療の分野に広げる

テーマ 5. ホルモン分泌の変化を解析し、麻酔・手術侵襲に伴うホルモン分泌に及ぼす影響について検討する。

テーマ 6. 麻酔時に糖負荷テスト等を通じて耐糖能の変化を検討する。あわせて、代謝に関連するホルモンとの分泌動態を比較し、その影響を明らかにする。

インスリンをはじめとする糖代謝に関係するホルモンの分泌動態と耐糖能の変化に及ぼす影響について検討する。集中治療分野の患者も検討する。

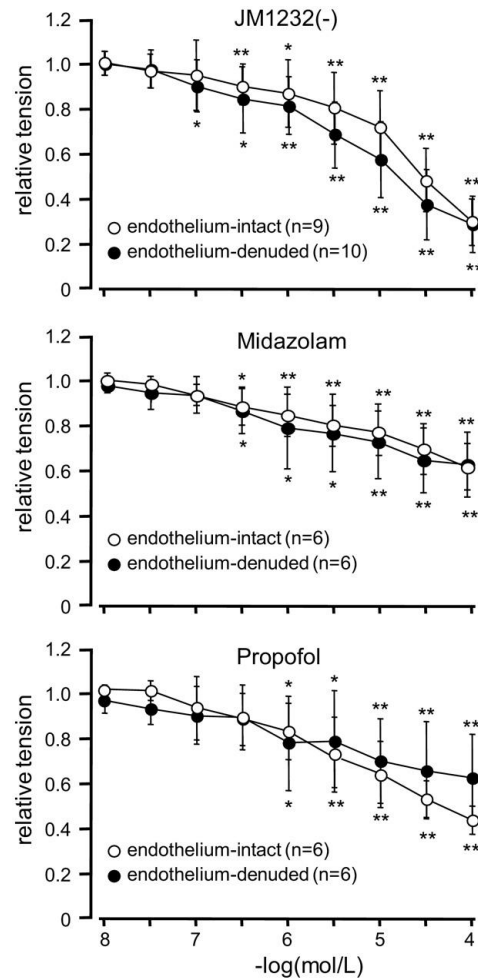
## 4. 研究成果

(1) 新しい鎮静薬であるベンゾジアゼピン誘導体の JM1232(-)に関して人血管に対する影響とラットを用いた *in vivo* での循環反応に及ぼす影響に関して検討し、論文にまとめて報告した。

Effects of a novel benzodiazepine derivative, JM-1232(-), on human gastroepiploic artery *in vitro*. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 25: 72-77, 2011.

ヒト血管平滑筋において、新しいベンゾジアゼピン誘導体の JM1232(-)は、プロポフォルやミダゾラムと同程度の血管弛緩反応を有した。さらに、この血管弛緩反応は、ベンゾジアゼピン受容体拮抗薬であるフルマゼニルによって拮抗されたことから、末梢血管にあるベンゾジアゼピン受容体を介してその弛緩反応を発現していることが明らかとなった。これまでに、末梢血管においてベンゾジアゼピン受容体を介した血管弛緩反応を確認した報告はきわめてまれであり、学術的な意義が深い研究結果である。

図 1 各種麻酔薬のヒト血管に及ぼす影響



各種麻酔薬は、濃度依存性にヒト血管を拡張した。JM1232(-)は臨床濃度で血管拡張作用を呈した。

Cardiovascular responses to intravenous injection of a novel isoindolin-1-one derivative in conscious rats. *Brain Res.* 2009;1300:105-9

新しい麻酔薬として開発された JM1232(-)の循環動態に与える効果を明らかにするために、ラットに JM1232(-)を静注して、血圧及び心拍数の変動を観察した。結果として、JM1232(-)は心拍数を増加させる一方で血圧を低下させる作用が強いことが判明した。この際、交感神経を除いたラットでは血圧、心拍数ともに減少することから、JM1232(-)は、baroreflex を刺激して、心拍出量を維持すると考えられた。また、この血圧低下作用はフルマゼニルで拮抗されることから中枢神経のベンゾジアゼピンレセプターを介していることが判明した。

これら研究結果は、日本麻酔科学会学術集会の一般演題およびシンポジウムにおいて発表された。さらに、血管平滑筋に関する研究は、

日本麻酔科学会総会で開催された Journal of Anesthesia のリサーチシンポジウムにおいて、ヒト血管における反応性と題して、血管収縮と弛緩のメカニズムに関して一般麻酔科医を対象として講演した。またその内容を Journal of Anesthesia へ投稿し、啓蒙をおこなった。

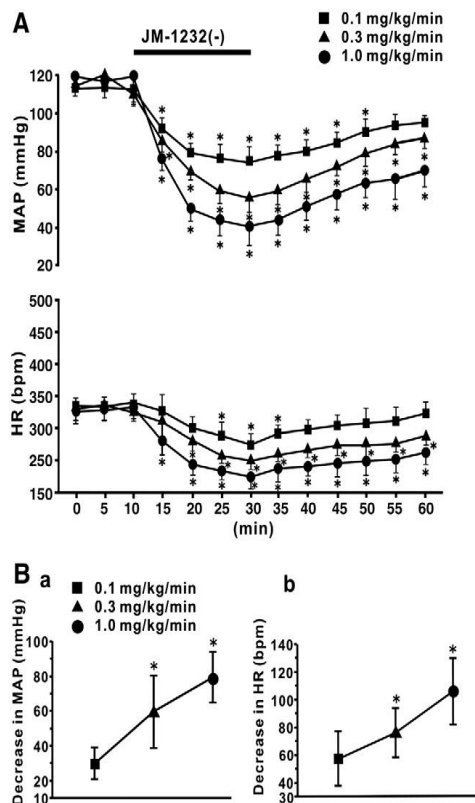


図2 JM1232 (-) による血圧、心拍数の変化 JM1232 (-) は濃度依存性に血圧、心拍数を抑制した。

(2) ヒトインスリン感受性を中心とした麻酔の代謝に及ぼす影響に関して、臨床研究を継続している。具体的には、肝臓切除など侵襲の大きな手術時における糖代謝をはじめとするエネルギー消費がどのように変化するのか、各種バイオマーカーを測定して検討している。最近注目されている ERAS (enhanced recovery after surgery) などの概念が、手術患者の回復にどのような効果や影響が認められるのか糖代謝関連物質を測定して、観察している。これらの研究成果は、本年度中にはまとめ上げる予定としている。

麻酔薬とインスリン分泌および反応性に関する検討に関して、手術侵襲と耐糖能の変化を検討した。結果として、早期の糖利用を推

定するバイオマーカーである 1.5AG が手術により低下し、手術侵襲で糖の利用が制限されることが明らかとなった。しかしながら、1.5AG の低下は、糖尿病患者では顕著ではなかった。これは、糖尿病患者では、もともと 1.5AG の値が低いために、さらなる低下を招来しにくいと考えられた。今回の研究結果により、耐糖能異常を有さない一般手術患者において、手術侵襲が糖の利用率を低下させ、身体に負荷をかけている事実が客観的に証明された。今後は、このマーカーの変化を用いて、手術侵襲と耐糖能の改善を図る治療法の検討が必要である。今回の研究成果は、国内外の学会はもとより、早急に論文としてまとめ、世界的に向けて発信する予定である。

麻酔薬とアディポネクチンとレプチン分泌に関する研究テーマも課題として挙げたが、上記実験により時間的余裕がなくなり、十分に検討することができなかった。今後の検討課題として残された。

## 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6件)

- ① Tsuneyoshi I.: Vascular reactivity in human arteries: from experimental study to clinical application. Journal of anesthesia (査読有) 26: 147-51, 2012.
- ② 白阪哲朗, 小田麻由, 日高康太郎, 須江宣俊, 石山健次郎, 太田尾 剛, 矢野武志, 新福玄二, 柏田政利, 森 信一郎, 鬼塚 信, 指宿昌一郎, 恒吉勇男: 麻酔とオレキシン (誌上抄読会). 臨床麻酔 (査読有) 35: 845-851, 2011.
- ③ Toyoaki Maruta, Takeyuki Nemoto, Shinya Satoh, Tasuku Kanai, Toshihiko Yanagita, Akihiko Wada, Isao Tsuneyoshi: Dexmedetomidine and clonidine inhibit the function of  $Na_v1.7$  independent of  $\alpha_2$ -adrenoceptor in adrenal chromaffin cells. Journal of Anesthesia (査読有) 25: 549-557, 2011.
- ④ Moriyama T, Tsuneyoshi I., Kanmura Y: Effects of a novel benzodiazepine derivative, JM-1232 (-), on human gastroepiploic artery in vitro. Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia (査読有) 25: 72-7, 2011.
- ⑤ Shirasaka T, Yonaha T, Onizuka S, Tsuneyoshi I.: Effects of orexin-A on propofol anesthesia in rats. Journal of anesthesia (査読有) 25: 65-71, 2011.

- ⑥ Tetsuro Shirasaka, Kunitake Takato, Isao Tsuneyoshi: Cardiovascular responses to intravenous injection of a novel isoindolin-1-one derivative in conscious rats. Brain Research (査読有) 1300: 105-113, 2009.

[学会発表] (計10件)

- ①松岡博史, 與那覇 哲, 田村隆二, 矢野都子, 谷口正彦, 恒吉勇男: 心原性心肺停止蘇生後に低体温療法を行い社会復帰を果たした2症例. 九州麻酔科学会第49回大会, 2011年9月17日, 宮崎.
- ②日高康太郎, 丸田 望, 小田麻由, 木梨瑠子, 森 信一郎, 恒吉勇男: 開頭脳腫瘍摘出術中に肺閉塞を発症した一症例. 九州麻酔科学会第49回大会, 2011年9月17日, 宮崎.
- ③矢野武志, 小田信子, 矢野都子, 松岡博史, 谷口正彦, 恒吉勇男: 肺胞出血および高カリウム血症を呈し死亡した全身性エリテマトーデスの一症例. 九州麻酔科学会第49回大会, 2011年9月17日, 宮崎.
- ④田村隆二, 内村修二, 小田麻由, 日高康太郎, 田村真由子, 恒吉勇男: 術前炭水化物含有飲料摂取の麻酔導入時循環動態への影響. 九州麻酔科学会第49回大会, 2011年9月17日, 宮崎.
- ⑤新福玄二, 矢野武志, 森 信一郎, 指宿昌一郎, 恒吉勇男: 肝切除術中に中心静脈値と術中出血量・周手術期管理への影響の後ろ向き研究. 日本麻酔科学会第58回学術集会, 2011年5月20日, 神戸.
- ⑥白阪哲朗, 日高康太郎, 小田麻由, 矢野武志, 恒吉勇男: レミフェンタニルの意識下ラットにおける心血管系および交感神経活動に及ぼす影響. 日本麻酔科学会第58回学術集会, 2011年5月19日, 神戸.
- ⑦山下幸貴, 石山健次郎, 太田尾 剛, 新福玄二, 江川久子, 恒吉勇男: 非脱分極性筋弛緩薬ロクロニウムの効果発現時間と心拍出量に関する検討—低侵襲性動脈心拍出量測定装置を用いて—. 日本麻酔科学会第58回学術集会, 2011年5月19日, 神戸.
- ⑧恒吉勇男: ヒト血管の反応性: 通常反応からショックまでの変化と対処法. (JA シンポジウム: 血管に関する麻酔科の基礎的研究) 日本麻酔科学会第58回学術集会, 2011年5月19日, 神戸.
- ⑨白阪哲朗, 石山健次郎, 太田尾 剛, 櫛間英樹, 宮里岳志, 恒吉勇男: 新たな鎮静催眠薬 JM1232 の意識下ラットにおける心血管系および交感神経活動に及ぼす影響. 日本麻酔科学会第56回学術集会, 2009年8月17日, 神戸.
- ⑩森山孝宏, 恒吉勇男, 高橋佳子, 砂永仁子,

永田悦郎, 上村裕一: JM-1232 のヒト血管平滑筋への作用についての検討. 日本麻酔科学会第56回学術集会, 2009年8月17日, 神戸.

[図書] (計1件)

- ① Isao Tsuneyoshi, Josephine M. Garcia-Ferrer, Hung Pin Liu, Walter A. Boyle: Physiologic substrates of drug action—Vascular reactivity. Anesthetic pharmacology: Basic principles and clinical practice, Alex S. Evers, Mervyn Maze, Evan D. Kharasch (Eds.), pp277-292, Cambridge University Press; second edition, UK, 2011.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

恒吉 勇男 (TSUNEYOSHI ISAO)  
宮崎大学・医学部・教授  
研究者番号: 90301390