

## 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 28 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009 年度～2011 年度

課題番号：21791472

研究課題名（和文） 揮発性全身麻酔薬が動的心筋内微小灌流に与える効果に関する研究

研究課題名（英文） The effect of volatile anesthetics for the myocardial microperfusion in systolic and diastolic phase.

研究代表者

根来 孝明 (NEGORO TAKAAKI)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：30336896

研究成果の概要（和文）：

心臓を構成する筋肉である心筋は、絶えず収縮と弛緩を繰り返している。その筋肉に血液を供給する微細な血管に対する揮発性吸入麻酔薬の作用を検討するため、ラットの心筋をスライスし、薬剤の影響下で内部の血管径がどのように変化するのか観察した。心筋内の微小血管は血管収縮薬に対する収縮反応を示したが、血管拡張薬による安定した拡張反応が認められず、研究方法が不適切である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The myocardium that is the muscle of the heart has repeated contraction and relaxation continuously. In order to reveal the action of the volatile anesthetic to the microvessel which supplies blood to the myocardium, we sliced the cardiac muscle of the rat and observed the myocardial microvessel how vessel diameter would change under the influence of vasoactive drugs and volatile anesthetics. Although the capillary vessels in a myocardium showed the contraction under the vasoconstrictor drug, the stable relaxation response by a vasodilator drug was not observed. It was thought that the method of study was unsuitable.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
21年度	900,000	270,000	1170,000
22年度	1,000,000	300,000	1300,000
23年度	1,000,000	300,000	1300,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3770,000

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：揮発性吸入麻酔薬・動的心筋内微小灌流

## 1. 研究開始当初の背景

虚血性心疾患は外科手術の周術期における最も注意すべき合併症である。全身麻酔下に手術を行っている患者にとって、心筋の血液灌流維持は深刻な問題となっている。

心筋内を走行する冠動脈の微小血管はきわめて複雑な構造と循環動態を有している。心筋層の外膜側4/5を灌流する心外膜細動脈と心内膜側1/5を灌流する心内膜細動脈はいずれも血管壁に平滑筋細胞を持った中膜を有し、収縮性に富む抵抗血管である。このうち心内膜細動脈は心収縮による血管内径の変化が大きく、収縮期に血液の搾出する機能を持っている。筋収縮によって血管にもたらされる動的ストレスは血管内皮や血管平滑筋の働きにも影響を与えている可能性がある。

揮発性全身麻酔薬のイソフルランやセボフルランは血管拡張作用を有しており、心外膜下冠動脈に対する作用についても古くから報告がある。しかし、心内膜細動脈などの心筋内の微小血管に対する作用については不明のままであった。

## 2. 研究の目的

我々は、心筋内の微小循環を担う心筋穿通枝、非穿通枝、小動脈、心外膜側細動脈、心内膜側細動脈が、収縮期と拡張期で現在もっとも一般的な麻酔薬である揮発性吸入麻酔薬（セボフルラン、イソフルラン）によってどのように変化するのかを観察し、そしてその血管の内皮機能に与える作用のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1)ハロタン吸入で全身麻酔した雄の Wistar ラットを開胸し、ヘパリンを投与して抗凝固を得た後、冷却した St.Thomas 心筋保護液を上行大動脈より灌流した。心停止を得て心

臓を摘出し、ビブラトームを用いて摘出心臓のスライス標本を作成した。この標本を酸素 93%、二酸化炭素 7%の混合ガスでバブリングした 37°Cのクレブス液で満たした観察用チャンバーに入れ、顕微鏡を用いて心筋内血管を観察した。目標とする心筋内冠動脈（穿通枝、非穿通枝、小動脈、心外膜細動脈、心内膜細動脈の5種）を同定した後、顕微鏡に装着した CCD カメラで動脈の画像を得て、メディアコンバータを介してコンピューターに取り込んだ後、動脈径の変化をコンピューター画面上で血管径測定用のソフトウェアを用いて解析することとした。

(2)スライス標本で得られた冠動脈を、フェニレフリン(0.5  $\mu$  M)で収縮させた後にニコランジル (0.1  $\mu$  M~10  $\mu$  M) を適用し、心筋内冠動脈の内径の変化を観察した。セボフルランまたはイソフルラン (0.5~2.0 MAC) を上記クレブス液に混入し、観察用チャンバーを灌流した上でニコランジル (0.1  $\mu$  M~10  $\mu$  M) を適用し、心筋内冠動脈の内径の変化を観察することとした。

(3)標本冠動脈に対し血管内皮の機能阻害薬である ibuprofen 、 L-NAME 、 tetrabutylammonium のそれぞれで処理した標本を用いて、冠動脈をフェニレフリン (0.5  $\mu$  M)で収縮させ、セボフルランまたはイソフルラン (0.5~2.0 MAC) を適用し、心筋内冠動脈の内径の変化を観察することとした。

(4)標本をイソフルランまたはセボフルラン暴露のグループに分け、それぞれにおいて共焦点顕微鏡によるライブセルイメージング技術を用い、心筋内冠動脈での NO 産生量、カルシウムイオン濃度変化、eNOS mRNA の活性測定を行い、結果を比較検討することとした。

#### 4. 研究成果

(1)当初、作成した心筋スライス標本を用いて検鏡下に穿通枝、非穿通枝、小動脈、心外膜細動脈、心内膜細動脈を同定する予定であったが、我々施設で従来行ってきた脳組織のスライス標本と比較して、心筋はスライス標本が作製しにくく、得られた標本の血管も血管種別の同定が困難であった。また、心筋の拡張期と収縮期において血管反応の実験を行う予定であったが、収縮期の標本は血管同定がさらに困難であった。このため今後の実験は拡張期における心筋内血管を中心に行うことを余儀なくされた。

(2)この心筋内血管をフェニレフリン( $0.5 \mu\text{M}$ )で収縮させ、ニコランジル ( $0.1 \mu\text{M} \sim 10 \mu\text{M}$ ) を適用し、心筋内冠動脈の内径の変化を観察する実験を行った。標本内の血管はフェニレフリンにより収縮すること、灌流液による洗浄により弛緩する様子が観察された。このことから、観察された血管は血管平滑筋を有する心筋内小動脈もしくは細動脈と考えられた。フェニレフリンにより収縮を促したこの標本に、ニコランジル ( $0.1 \mu\text{M} \sim 10 \mu\text{M}$ ) を累積適用し、心筋内冠動脈の内径の変化を観察する実験を行った。しかしニコランジルによる容量依存性血管拡張は得られなかった。このためセボフルランまたはイソフルラン ( $0.5 \sim 2.0 \text{MAC}$ ) 存在下でニコランジルを適用し、心筋内冠動脈の内径の変化を観察する実験も不十分な結果であった。

(3)血管内皮の機能阻害薬である **ibuprofen**、**L-NAME**、**tetrabutylammonium** のそれぞれで処理した標本を用いて、冠動脈をフェニレフリン( $0.5 \mu\text{M}$ )で収縮させ、セボフルランまたはイソフルラン ( $0.5 \sim 2.0 \text{MAC}$ ) を適用し、心筋内冠動脈の内径の変化を観察する実験では、フェニレフリン収縮の得られない標本が半数を超え、内皮機能阻害薬や揮発性麻酔

薬の効果判定は困難であった。これらの結果は標本の歩留まりの悪さに起因すると考えられ、統計学的に安定した結果を得るのは困難であった。

(5)上記(1)~(4)の実験で好結果が得られなかったため、共焦点顕微鏡によるライブセルイメージングを用いた内皮細胞 NO、eNOS mRNA 測定実験は技術習得のみに終始した。

#### 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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[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

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

根来 孝明 (NEGORO TAKAAKI)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：30336896

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

中畑 克俊 (NAKAHATA KATSUTOSHI)  
和歌山県立医科大学・医学部・助教  
研究者番号：70332971