

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25年3月23日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22791440

研究課題名（和文） 心筋の虚血再灌流障害における強心薬の効果的な投与開始のタイミングと機序の解明

研究課題名（英文） Milrinone and levosimendan administered after reperfusion improve myocardial stunning in swine.

研究代表者

柴田 伊津子 (SHIBATA ITSUKO)

長崎大学・大学病院・助教

研究者番号：10404245

研究成果の概要（和文）：作用機序の異なる強心薬 PDEⅢ阻害薬ミルリノンとカルシウム感受性増強作用薬レボシメンダンが心筋スタニングに対する心筋保護効果を得るための投与時間とその機序について研究した。ミルリノンの虚血再灌流直後の投与は心筋スタニングからの回復を改善し、その機序は p38 MAPK を介する薬理的ポストコンディショニング効果であることが証明された。レボシメンダンは虚血再灌流 20 分後からの投与では改善を認めたが虚血再灌流直後の投与では改善を認めなかった。レボシメンダンの心筋スタニングからの回復改善効果は直接的な陽性変力作用と証明された。

研究成果の概要（英文）：We assessed the effect of milrinone application timing after reperfusion against myocardial stunning as compared with levosimendan in swine. Furthermore, we examined the role of p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) in the milrinone-induced cardioprotection. Milrinone should be administered just after reperfusion to protect myocardial stunning through p38 MAPK, whereas levosimendan improvement of contractile function could be mainly dependent on its positive inotropic effect.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：心筋虚血再灌流障害、心筋スタニング、強心薬、PDEⅢ阻害剤、p38MAPK、カルシウム感受性増強作用薬、薬理的ポストコンディショニング

1. 研究開始当初の背景

冠動脈疾患や冠危険因子を有する患者は増加している。心筋虚血自体が冠動脈血行再建術のようにその疾患の治療の対象となることもあれば、心筋虚血を合併した患者がその他の手術を受ける場合もある。医療技術の進

歩により、以前なら手術適応外となっていたハイリスク患者に対しても、積極的に手術が行われているため。心筋虚血を合併した患者が手術を受ける機会は年々増加している。心筋虚血を予防することが第一であるが、すでに虚血心筋障害を発症した患者には効率よ

く薬剤を投与し、虚血心筋障害から早期に回復させることが重要である。

今回の研究では、強心作用をもつ薬物の心筋保護の機序を明確にすることにより、その強心作用を有効に発揮させる投与時間を明確にすることが目的である。強心薬の強心作用と心筋保護効果を最大限に生かせる投与時間が判明すれば、心筋酸素消費量増大すなわち心筋虚血の悪化をもたらすことなく、有効に使用することができる。ホスホジエステラーゼ (PDEIII) 阻害薬 milrinone は心筋スタンピングに対する薬理的プレ及びポストコンディショニング効果が報告されている。カルシウム感受性増強作用薬 revosimendan は欧米で臨床使用されており静脈投与が可能で KATP チャンネル開口作用をもつ。作用機序の異なる強心薬である PDE III 阻害薬 milrinone とカルシウム感受性増強作用薬の有効な強心作用と最大限の心筋保護効果を得るために最も効果的な投与時間と機序の関係が判明すれば、周術期の虚血に対する安全で効率的な治療法となる。

2. 研究の目的

心筋虚血が起こってからの強心薬の選択について、虚血再灌流後の投与時間の違いが強心作用発現や心筋保護効果の違いに与える影響について検討する。強心薬は心機能を亢進させる一方、その使用量の増加は過度の陽変時作用や陽変力作用をもたらす逆に心筋虚血の悪化を招く危険性がある。今回の研究では、作用機序の異なる強心薬である PDE III 阻害薬 milrinone とカルシウム感受性増強作用薬 revosimendan を用いて、効果的な強心作用と心筋保護効果を得るために最も効果的な投与時間とその機序を解明することを目的とする。このことにより周術期の虚血に対する安全で効率的な強心薬を選択することが可能となる。

3. 研究の方法

(1) 豚の心筋虚血再灌流モデル

- ①. 豚をケタミンの筋肉注射で鎮静し、耳の皮静脈より末梢ルートを確認する。
- ②. 豚をアルファクロラロース、フェンタニルで基礎麻酔後、気管切開を行い、人工呼吸器を装着し、臭化ベクロニウムを投与し筋弛緩を得る。同じ皮膚切開部より、右内頸静脈に中心静脈ラインを確保、右頸動脈に動脈カテーテルを挿入し観血的血圧をモニターする。
- ③. 胸骨を切開し、心臓を露出し、上行大動脈に心拍出量測定用超音波血流プローブ、心尖部より左心室腔内へ左室圧 (LVP) 測定用トランスデューサーカテーテルを留置する。
- ④. 左頸動脈と左冠動脈前下行枝 (LAD) を露出し、ヘパリン化の後に、冠灌流圧 (CPP) 測

定用ポートと冠血流量 (CBF) 測定用超音波血流計付き回路を用いて、頸動脈-LAD バイパスを作製する。LAD 灌流領域に局所心筋短縮率 (%SS) 測定用の一対の超音波クリスタルを植え込む。

⑤. 虚血再灌流：頸動脈-LAD バイパス回路を遮断し、LAD 灌流領域を 12 分間虚血にした後に 90 分間再灌流を行う。

⑥. 血行動態：心拍数、心拍出量、左室収縮圧、左室拡張末期圧、左室内圧上昇速度、冠灌流圧、冠血流量。

心収縮力：局所心筋短縮率。

上記項目について、baseline、LAD バイパス回路を遮断直前、虚血再灌流直前、虚血再灌流 5、20、30、60、90 分後に測定する。

再灌流性不整脈：再灌流後 10 分間の心室頻拍、心室細動の出現率。以上の項目を各群間で比較検討する。

(2) PDEIII 阻害薬ミルリノンによる薬理的ポストコンディショニング効果

①. ミルリノンを虚血直後から 20 分間または虚血後 20~90 分に投与し、各血行動態、再灌流後の心収縮力の回復率、再灌流性不整脈の出現率をコントロール群と比較検討する。

②. ①の各群に p38MAPK 阻害薬 SB203580 を $1.2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ で冠動脈内投与し、心収縮率の回復率、再灌流性不整脈の出現率に及ぼす影響を検討する。

③. 虚血再灌流後の LAD 灌流領域の心筋を摘出し、細胞からライシスバッファーを用いて蛋白を抽出し、Akt 活性をウエスタンブロット法により確認する。

(3) カルシウム感受性増強作用薬レボシメンダンによる心筋保護効果の機序の解明

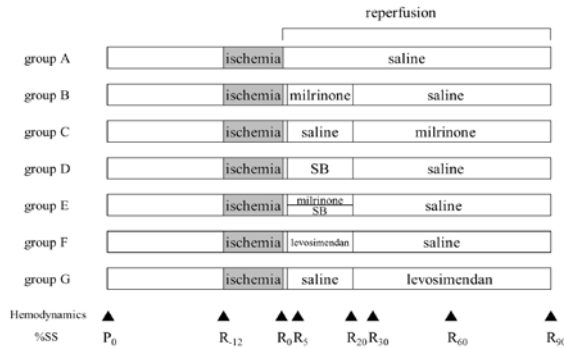
①. レボシメンダンを虚血再灌流直後から 20 分間または虚血後 20~90 分に投与し、各血行動態、再灌流後の心収縮力の回復率、再灌流性不整脈の出現率をコントロール群と比較検討する。

4. 研究成果

(1) プロトコール

76 匹のブタをコントロール群 (A 群)、虚血再灌流直後からミルリノンを $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ で 10 分間投与後、 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ で 10 分間中心静脈から投与した群 (B 群)、再灌流後 20~90 分後にかけてミルリノンを $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ で 10 分間投与後、 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ で 60 分間中心静脈から投与した群 (C 群)、SB203580 を再灌流直後後から 20 分間 $1.2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ で冠動脈内投与した群 (D 群)、B 群のミルリノンの投与に重ねて SB203580 を再灌流直後後から 20 分間 $1.2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ で冠動脈内投与した群 (E 群)、虚血再灌流直後からレボシメンダンを $1.2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ で 10 分間投与後、 $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ で 10 分間中心静脈から投与した群 (F 群)、再灌流後 20~90 分後にかけてレボシメ

ンダンを 1.2 μg/kg/分で 10 分間投与後、0.2 μg/kg/分で 60 分間中心静脈から投与した群 (G 群) にランダムに分けた。各ポイントで血行動態と心収縮力の計測をおこない比較検討した。ベースラインの P₀、虚血直前の R₁₂、再灌流直前の R₀、再灌流 5, 20, 30, 60, 90 分後を R₅, R₂₀, R₃₀, R₆₀, R₉₀ の 8 ポイントで計測した。



(2) 統計

群間・群内比較には分散分析と Student-Newman-Keuls (SNK) post hoc test を行い、VF と VT の発生率に関してはχ² 検定を行った。p < 0.05 を有意差ありとした。

(3) VT/VF の発生率

7 群間で再灌流 10 分以内の心室細動および心室頻拍の発生率とリドカインの使用量には有意差を認めなかった。

Table 1. Incidence of ventricular fibrillation (VF) or ventricular tachycardia (VT) And total amount of lidocaine used during the first 10 min after reperfusion

	Group A	Group B	Group C	Group D	Group E	Group F	Group G
Total Number	12	11	12	9	11	10	11
	4	3	4	3	3	2	3
Lidocaine (mg/kg)	2.4±1.0	2.8±0.9	2.3±0.6	2.2±0.7	2.4±0.9	2.1±0.4	2.8±1.5

Values are mean ± SD.

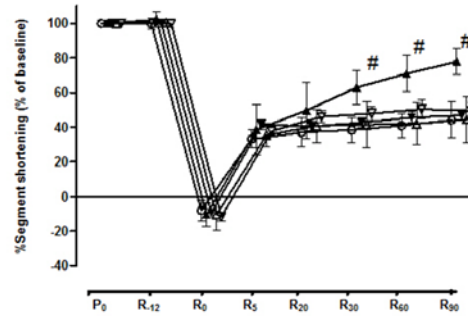
(4) 血行動態

心拍数、平均動脈圧、左室収縮期圧、左室拡張終期圧、最大左室内圧上昇速度、冠血流量は A 群との間に有意差を認めなかった。

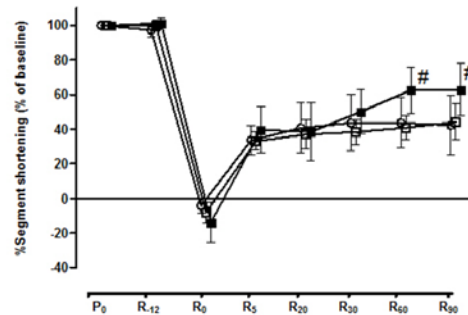
(5) 局所心筋短縮率 (%SS)

%SS = (拡張末期心筋長 - 収縮期末心筋長) / 拡張末期心筋長 で求めた。P₀ での局所心筋短縮率 (%SS) を 100% とし各ポイントでの %SS の改善率を比較した。R₃₀, R₆₀, R₉₀ の %SS の改善率は A 群で 38±7%, 41±7%, 44±11% であった。これに対し、B 群では R₃₀, R₆₀, R₉₀ が 60±7%, 72±5%, 79±5% G 群では R₆₀, R₉₀ が 63±13%, 63±15% と有意な改善を認めた。一方 C, D, E, F 群ではどの測定ポイントでも A 群と有意差を認めなかった。

[図 1.]



[図 2.]



[図 1. 2] 局所心筋短縮率 (%SS)

Values are expressed as mean ± SD.

#: p < 0.05 vs group A.

図 1 : Group A (○), group B (▲), group C (▼), group D (△) and group E (▽).

図 2 : group A (○), group F (□) and group G (■).

(6) ①. PDE 阻害薬ミルリノンは虚血再灌流直後から投与した群では心筋スタニングからの回復を改善し、この改善効果は p38MAPK 阻害薬である SB203580 を投与することで消失した。一方、虚血再灌流後 20~90 分投与群では改善が見られなかった。以上より、ミルリノンは心筋スタニングに対して保護作用があり、その保護作用は薬理的ポストコンディショニング効果であることが証明された。

②. カルシウム感受性増強作用薬レボシメンタンは虚血再灌流直後及び虚血再灌流後 20~90 分に投与した群では心筋スタニングからの改善を認めたが、虚血再灌流直後投与では心筋スタニングからの回復の改善を認めなかった。このことからレボシメンタンの心筋スタニングからの回復改善作用は直接作用であることが証明された。

以上より、スタン心筋の心収縮力の回復を目的とする場合、虚血再灌流直後には薬理的ポストコンディショニング効果が期待できる PDE 阻害薬ミルリノンが効果的で、時間が経過した場合はカルシウム感受性増強作用薬レボシメンタンが有効であることが証明された。

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. Shibata I, Cho S, Yoshitomi O, Ureshino H, Maekawa T, Hara T, Sumikawa K. Milrinone and levosimendan administered after reperfusion improve myocardial stunning in swine. Scand Cardiovasc J. 査読有 47, 2013, 50-7.
2. Yoshitomi O, Cho S, Hara T, Shibata I, Maekawa T, Ureshino H, Sumikawa K. Direct protective effects of dexmedetomidine against myocardial ischemia-reperfusion injury in anesthetized pigs. Shock. 査読有 38, 2012, 92-7.
3. Sakai K, Cho S, Shibata I, Yoshitomi O, Maekawa T, Sumikawa K., Inhalation of hydrogen gas protects against myocardial stunning and infarction in swine. Scand Cardiovasc J. 査読有 46, 2012, 183-9.
4. Maekawa T, Cho S, Ichinomiya T, Tosaka S, Matsumoto S, Shibata I, Hara T, Sumikawa K. Fasudil administered during early reperfusion protects against myocardial infarction through activation of PI3K/Akt/NOS pathway in rats. 循環制御. 査読有 33, 2012, 96-103.

[学会発表] (計 4 件)

1. 柴田伊津子、右室梗塞に対し右室補助人工心臓を装着し救命しえた一例、第 12 回麻酔科学ウィンターセミナー、2012. 2. 10-12、北海道
2. Itsuko Shibata、A p38 MAPK inhibitor, SB203580, blocks cardioprotective effect of post-ischemic administration of milrinone against myocardial stunning in swine. American Society of anesthesiologists annual meeting 2011、2010 年 10 月 16-20 日、San Diego (U. S. A.)
3. 柴田伊津子、ホスホジエステラーゼ阻害薬ミルリノンとカルシウム感受性増強薬レボシメンダンの投与時期が心筋スタニングの回復に与える影響について、日本麻酔科学会第 56 回学術集会、2010 年 6 月 3-5 日、福岡市

4. Itsuko Shibata, Administration of the levosimendan 20-min after Reperfusion Improves Stunned Myocardium in Swine. 13th Asian Australasian Congress of Anesthesiologists, 2010 年 6 月 1-5 日, Fukuoka (Japan)

[図書] (計 2 件)

1. 柴田伊津子、澄川耕二. 克誠堂出版、麻酔前の評価・準備と予後予測 2012、191-196
2. 村田寛明、柴田伊津子、澄川耕二. 克誠堂出版、IV. 循環薬理 周術期循環管理 2011、223-247

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)
該当なし

○取得状況 (計 0 件)
該当なし

[その他]

ホームページ等
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柴田 伊津子 (SHIBATA ITSUKO)
長崎大学・大学病院・助教
研究者番号：10404245

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし