

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 4 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462399

研究課題名(和文) アドレノメデュリンの循環作用と麻酔薬 - 作用機序の解明と敗血症における意義 -

研究課題名(英文) The effects of anesthetics on adrenomedullin-induced circulatory action in rats and human neuroblastoma cells

研究代表者

黒田 昌孝 (Kuroda, Masataka)

群馬大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30375555

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：敗血症や心不全などの重症病態と関連するADM2, 5の循環作用に及ぼす麻酔薬セボフルランおよびプロポフォルの影響を検討した。両麻酔薬は中枢破壊ラットにおいて容量依存性にADM2, 5による血管拡張反応を抑制した。その抑制機序は培養細胞SK-N-MCにおいてはADM2, 5による細胞内cAMP産生を容量依存性に抑制したが、フォルスコリンおよびcholera toxinによるcAMP産生および受容体結合には影響しなかった。以上より麻酔薬はADM2, 5による循環作用に抑制的に作用し、その抑制部位は受容体からGタンパク質に至る過程に存在することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Adrenomedullin (ADM) 2, 5 is subtype of mammalian ADM and implicated in the regulation of circulatory homeostasis and the pathophysiology of various diseases including septic shock, congestive heart failure, hepatic cirrhosis, chronic renal failure. We studied the effects of sevoflurane and propofol on ADM 2, 5 induced vasodilation in pithed rats, ADM receptor-mediated responses in SK-N-MC cells, which are used as a model system to study the ADM receptor and its downstream pathways, and the production of inflammatory mediators and endothelial function in rat sepsis model. Both anesthetics dose-dependently inhibited ADM-induced vasodilatory response in pithed rats. The inhibitory site of both anesthetics on those response would involve Gs protein between the ADM receptor and adenylate cyclase activation, while endothelial function might not be preserved by anesthetics in sepsis.

研究分野：麻酔科学

キーワード：アドレノメデュリン サイクリックAMP 血管拡張 敗血症 炎症

1. 研究開始当初の背景

カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)およびアドレノメデュリン(ADM)は、CGRPファミリーと呼ばれる神経ペプチド群を構成する代表的な物質であり、心不全、心筋梗塞、敗血症、ショック、腎不全、高血圧などの心血管系が障害される様々な病態において血中に分泌され、心血管系、腎、呼吸器系などのホメオスタシスを維持するのに重要な役割を担っており、その作用は強力な血管拡張作用、陽性変力作用の他、抗炎症作用、臓器保護作用、血管新生作用など多岐に及び、特に ADM と敗血症の病態との関連においては、重度な血圧低下の原因となる可能性があるが、炎症性サイトカインの産生の抑制や内皮細胞機能障害の抑制、さらにその血中濃度の増加は予後悪化と関連することが基礎および臨床分野で報告されており、治療的側面における可能性も考えられている。ADMにはサブタイプが存在し、そのうち哺乳類に存在するのは ADM1,2,5 の3種類である。近年発見された、ADM2,5は、従来のADM1と比較し同等、あるいはより強力な血圧低下作用があることが報告されている他、受容体への作用特性からより多様な生物学的関連および効果を有している可能性があり、重症病態により深く関与している可能性がある。

これまでに、揮発性麻酔薬が CGRP による血管拡張作用を抑制し、CGRP 受容体を介する反応を Gs 蛋白レベルで抑制することを報告し、ADM1による血管拡張作用に対しても抑制作用を有することを報告した。したがって本研究においても麻酔薬が抑制的に作用する可能性が高いと考えられる。また、病態生理学的関連においては、ADMが敗血症において高度の血管拡張作用や抗炎症作用を有するのに対し、麻酔薬も抗炎症作用や臓器保護効果が報告されており、ADMとの相互作用を有する可能性がある。多様な作用と効力を有する ADM サブファミリーと麻酔薬との関係性を明らかにすることは、周術期重症患者管理を考える上でも意義が大きい

2. 研究の目的

(1) 揮発性麻酔薬セボフルランおよび静脈麻酔薬プロポフォールが ADM2,5 の循環作用に及ぼす影響を検討するために、中枢破壊ラットモデルにおける種々の循環動態パラメータを測定し比較検討する。

(2) 麻酔薬が ADM2,5 の細胞内情報伝達をどのレベルで抑制しているのかを明らかにするため、内因性に ADM 受容体を有する培養細胞 SK-N-MC を用いて作用機構を検討する。

(3) 敗血症の病態における麻酔薬と ADM の関連を検討するため、ラット敗血症モデルを作成し、麻酔薬による、種々の循環動態パラメータの経時的変化への影響、ADM およびその他の各種炎症性メディエータの血中濃度を測定し麻酔薬投与による影響を評価す

る。また、麻酔薬の内皮細胞機能に及ぼす影響を検討する。

3. 研究の方法

(1) 中枢破壊ラットモデルを作成して、ADM2 および ADM5 による種々の循環動態パラメータの変化に及ぼす麻酔薬の影響を評価する。麻酔薬投与群として、セボフルランまたはプロポフォールを投与しておき、外因性に ADM2,5 を投与して、投与前後の循環動態パラメータの変化を測定する。測定する循環動態パラメータは、平均血圧、心拍出量、全身血管抵抗、心拍数であり、血管抵抗は平均血圧/心拍出量で算出する。ADM 投与前後における各種循環動態パラメータの変化を麻酔薬非投与群と比較し、その変化に及ぼすセボフルランまたはプロポフォールの影響を、麻酔薬の投与量を変化させたときの容量依存性に着目して検討する。

(2) 内因性に CRLR 受容体を有する培養細胞 SK-N-MC に対し、ADM2,5 を投与した時の細胞内情報伝達に及ぼす麻酔薬の影響を評価する。ADM2,5 で刺激したときの細胞内 cAMP 産生、adenylate cyclase 活性化作用を有するフォルスコリン、および Gs 蛋白活性化作用を有する cholera toxin による細胞内 cAMP 産生に及ぼすセボフルランまたはプロポフォールの影響を、麻酔薬の投与量を変化させたときの容量依存性に着目して検討する。また、受容体結合への影響を検討するため、¹²⁵I で標識したリガンドを使用し Binding studies を施行する。

(3) ラット敗血症モデルを作成して、セボフルラン (2%) 投与群、プロポフォール (4mg/kg/h) 投与群、麻酔薬非投与群に分け 8 時間投与し、平均血圧、心拍数、心拍出量の測定と血液採取を施行し、各種炎症メディエータの産生および血行動態のベースラインと比較した変化と、内皮細胞機能に及ぼす麻酔薬の影響を検討する。

4. 研究成果

(1) 中枢破壊ラットモデルにおいて、セボフルラン (2%, 4%) およびプロポフォール (8mg/kg/h, 16mg/kg/h) は、それぞれ容量依存性に、ADM2,5 によって引き起こされる血圧低下反応を容量依存性に抑制した。一方、心拍出量の上昇に対しては有意な変化は認められなかった。結果として、平均血圧/心拍出量で算出される血管抵抗に関しては、各種麻酔薬が容量依存性に抑制的に作用する結果となった。したがって、麻酔薬は ADM2,5 による血管拡張反応を抑制する。

(2) 培養細胞 SK-N-MC に対し、ADM2,5 を投与した時の影響を評価した結果、両麻酔薬は ADM2,5 で刺激したときの細胞内 cAMP 産生を容量依存性に抑制したが、フォルスコリンおよび cholera toxin による細胞内 cAMP 産生には影響しなかった。一方、受容体結合試験においては、リガンドへの競合は認められな

かった。以上より麻酔薬の抑制部位は受容体からGタンパク質に至る過程に存在することが推測され、これまでの報告と一致する結果となったがより詳細な抑制部位の検討が今後の課題である。

(3) 敗血症モデルにおける検討では、両麻酔薬はそれぞれADM、TNF- α 、IL-1、IL-6、活性化補体、HMGB-1の炎症性メディエータの産生を容量依存性に抑制し、これは過去の報告とも一致する結果となった。一方、アセチルコリンによる内皮依存性血管拡張反応については影響が見られず、麻酔薬が敗血症病態で内皮細胞機能に保護的に作用する予想とは一致せず、研究方法や実験モデルを含め今後の再検討が必要である。

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)

[雑誌論文](計9件)

Kuroda M, Sakamoto T, Orihara M, Saito S. Two- and Three-Dimensional Transesophageal Echocardiography for Two Separate Primary Cardiac Lymphomas in the Right Heart. 査読有. *Anesth Analg*. 2017 Jan 23 Epub ahead of print. doi: 10.1213/ANE.0000000000001875.

Kuroda M, Miyoshi S, Saito S, Taguchi S. Transesophageal Echocardiography for Parachute-Like Asymmetrical Mitral Valve with Hypertrophy of the Left Ventricle and a Dominant Papillary Muscle in an Adult. 査読有. *Anesth Analg*. 2016; 123: 578-81. doi: 10.1213/ANE.0000000000001401.

Mita N, Kuroda M, Miyoshi S, Saito S. Association of Preoperative Right and Left Ventricular Diastolic Dysfunction With Postoperative Atrial Fibrillation in Patients Undergoing Lung Surgery: A Prospective Observational Study. 査読有. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2017; 31: 464-473. doi:10.1053/j.jvca.2016.09.003.

Kuroda M, Kumakura M, Sato T, Saito S. The Usefulness of Three-Dimensional Transesophageal Echocardiography for a Primum Atrial Septal Defect. 査読有. *Anesth Analg*. 2015; 121: 1151-4. doi: 10.1213/ANE.0000000000000958.

Mita N, Kuroda M, Saito S, Miyoshi S. Effect of lateral body position on transesophageal echocardiography images and the association with patient characteristics: A prospective observational study. 査読有. *Ann Card Anaesth*. 2015; 18: 299-305. doi: 10.4103/0971-9784.159797.

Kuroda M, Ohta J, Mita N, Miyoshi S,

Kadoi Y, Saito S. Notch of the anterior leaflet of the tricuspid valve with severe tricuspid regurgitation. 査読有. *Anesth Analg*. 2015; 120: 576-9. doi: 10.1213/ANE.0000000000000570.

黒田昌孝. 大動脈ステントグラフト内挿術と経食道心エコー. 査読無. *臨床麻酔*. 2015; 39: 331-343.

黒田昌孝, 齋藤繁. 中心静脈穿刺の教育とインストラクター制度. 査読無. *日本臨床麻酔学会誌*. 2013; 33: 652-659.

黒田昌孝, 齋藤繁. 三次元経食道心エコー(3DTEE)による系統的な画像取得、表示および解析方法. 査読無. *臨床麻酔*. 2013; 37: 647-658.

[学会発表](計8件)

折原雅紀、黒田昌孝、伍井由夏、高田康輔、齋藤繁、橋詰賢一. 胸部大動脈ステントグラフト留置後に経食道心エコーにより検出されたエンドリーク血流速度と術後エンドリーク残存との関連. 日本麻酔科学会第63回学術集会. 2016.5.27. 福岡県福岡市.

坂本崇、黒田昌孝、折原雅紀、佐藤友信、齋藤繁. 異なる2層に存在する心臓リンパ腫と術中経食道心エコー. 日本心臓血管麻酔学会第21回学術大会. 2016.9.16. 神奈川県横浜市.

前原智、黒田昌孝、齋藤繁. 心房中隔欠損症(ASD)における欠損孔の心周期に伴う変化と欠損孔型による比較検討. 日本麻酔科学会第62回学術集会. 2015.5.28. 兵庫県神戸市.

三田範勝、黒田昌孝、齋藤繁、三好壮太郎、加賀谷慎、華山悟. 肺手術後の心房細動発生と心機能の関係. 日本麻酔科学会第62回学術集会. 2015.5.29. 兵庫県神戸市.

熊倉みなみ、黒田昌孝、高田亮、室岡由紀恵、折原雅紀、太田浄、齋藤繁. 一次孔心房中隔欠損症における欠損孔の心周期変動の評価に三次元経食道心エコー3DTEEが有用であった一症例. 日本心臓血管麻酔学会第20回学術大会. 2015.10.10. 福岡県福岡市.

高田亮、黒田昌孝、熊倉みなみ、折原雅紀、碓井正、志賀達哉、齋藤繁、橋詰賢一. 胸部大動脈ステントグラフト内挿術におけるエンドリーク評価に経食道心エコーが有用であった2症例の検討. 日本心臓血管麻酔学会第20回学術大会. 2015.10.10. 福岡県福岡市.

太田浄、黒田昌孝、植野正之、長谷川義治、河村文夫、齋藤繁. 心房中隔欠損症における欠損孔サイズの評価 - 2D および 3D 経食道心エコー(TEE)による比較検討. 日本麻酔科学会第61回学術集会. 2014.5.17. 神奈川県横浜市.

三田範勝、黒田昌孝、齋藤繁、高橋利和、

加賀谷慎、三好壮太郎. 体位変換による
心臓位置の変化 - 経食道心エコーを用い
た観察研究. 日本麻酔科学会第61回学術
集会. 2014.5.16. 神奈川県横浜市.

〔図書〕(計2件)

黒田昌孝、齋藤繁. レジデント 麻酔・
全身管理で使用される薬物の基礎知識と
使用法. 医学出版. 2013年. 9頁.

黒田昌孝、齋藤繁. 臨床麻酔実践シリー
ズ6 麻酔科医に必要な超音波ガイド手技
のポイントと教育. ライフメディコム.
2013年. 11頁.

〔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

黒田 昌孝 (KURODA, Masataka)

群馬大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30375555

(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

()