

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462404

研究課題名(和文)レミフェンタニルが吸入麻酔薬による心筋保護効果と抗炎症効果に及ぼす影響

研究課題名(英文)The effects of remifentanil on volatile anesthetics-induced myocardial protection and antiinflammatory effect

研究代表者

田中 克哉(TANAKA, Katsuya)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授

研究者番号：30263841

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ウサギの心筋虚血再灌流モデルを用いて、レミフェンタニル、吸入麻酔薬イソフルラン、およびレミフェンタニルとイソフルラン併用が対照群と比較して心筋梗塞サイズを減少させるか検討した。その結果、レミフェンタニル、イソフルランはそれぞれ有意に心筋保護効果を発揮した。両者の併用も心筋保護効果を発揮したが、それぞれの単独群と有意差はなかった。別の実験系からNO阻害薬が心筋保護効果を消失させた。したがって、その作用機序にNOが関与することが示唆された。これらは、臨床でよく用いられレミフェンタニルと吸入麻酔薬の併用が心筋保護効果を発揮し、その作用機序の一部を解明した。

研究成果の概要(英文)：Using the myocardial ischemia and reperfusion model in vivo rabbit, we studied whether remifentanil, inhalation anesthetic isoflurane and remifentanil and isoflurane combination decreased myocardial infarction size as compared with the control group. As a result, remifentanil, the isoflurane significantly showed myocardial protection effect, respectively. In addition, the combination of both showed myocardial protection effect, but there was no significant difference between groups. NO inhibitor made myocardial protection effect disappear from different experiment. Therefore, it was suggested that NO was involved in the mechanism of action. This study showed that combination of commonly used remifentanil and inhalation anesthetic showed myocardial protection effect and this study elucidated a part of the mechanism of this action.

研究分野：麻酔科学

キーワード：吸入麻酔薬 薬理学 ストレス レミフェンタニル 心筋保護効果 プレコンディショニング

1. 研究開始当初の背景

(1) 心疾患は欧米において死因の第一位であり、わが国においても食生活の欧米化にともない年々その発生割合を増加させている。麻酔管理上、虚血性心疾患やリスクを有する患者の周術期心合併症は患者予後にとって大きな問題であり、発生予防とその治療は重要である。

(2) 1997年 Kersten らは吸入麻酔薬であるイソフルランを長時間の心筋虚血再灌流傷害を与える前に先行投与しておく、動物の心筋虚血再灌流モデルで心筋梗塞サイズが有意に減少することを報告した(Kersten JR et al.: Anesthesiology 1997: 87;361-70)。

(3) 我々はそれらの作用機序について Reactive oxygen species (ROS) の関与、Cyclooxygenase-2 の関与など報告してきた。特に APC 作用のエンドエフェクターの一つと推測されている K_{ATP} チャネルの関与については in vivo 動物モデル (Tsutsumi YM et al.: Anesthesiology 2006: 104;495-502) で報告した。(図1)

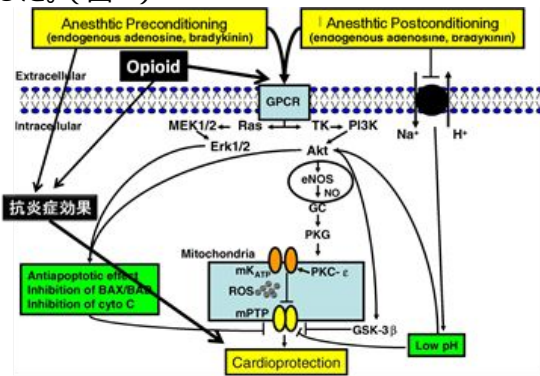


図1 吸入麻酔薬とオピオイドの作用機序

(4) 一方、オピオイドも心筋虚血再灌流傷害に対して保護的に働くことが知られている (Tsutsumi YM, et al.: Anesth Analg 2010;111(5):1117-21)。

(5) レミフェンタニルやフェンタニルなどのオピオイドは臨床の心臓血管外科手術では必ず投与されている。これは、吸入麻酔薬は心保護効果が強いという動物実験の結果が臨床では当てはまりにくい理由なのかもしれない。また、近年レミフェンタニルによる心筋保護効果は μ 受容体によるものではなく、中枢神経を介しているのかもしれないという報告がある。これらの結果は吸入麻酔薬とレミフェンタニル併用の麻酔は相加相乗的に心筋保護を強化する可能性を示している。

(6) また、吸入麻酔薬による心筋保護には好中球の活性を抑制して抗炎症作用が関与することも指摘されている。オピオイドも免疫抑制作用があることが広く知られている。しかし、吸入麻酔薬やオピオイドによる抗炎症作用および両者併用時の抗炎症効果がどの程度で、心筋保護効果に関連があるかどうか不明である。

2. 研究の目的

(1) 吸入麻酔薬とレミフェンタニルの心筋保護効果の関連性、作用機序、抗炎症効果について調査する。

3. 研究の方法

(1) ウサギおよびマウスの心筋虚血再灌流モデルを用いて、レミフェンタニルおよび吸入麻酔薬イソフルランが心筋保護効果に及ぼす影響について研究を行った。ウサギの場合は以下のように行った。

13 週齢オス日本白色種ウサギの耳静脈からペントバルビタール 30mg/kg を投与し、入眠確認後、気管切開を行い人工呼吸を行う。

右内頸静脈と右内頸動脈に輸液および薬剤投与のためと動脈圧測定用のカテーテルをそれぞれ挿入する。

左開胸をして心膜を切開し、冠動脈左前下行枝の枝に 4-0 絹糸をかけ、冠動脈閉塞と再灌流が行えるようにする。

全てのウサギは 30 分間の冠動脈閉塞と 3 時間の再灌流を施し、最後に冠動脈を再び閉塞する。Evans blue dye を静脈内投与し冠動脈灌流域と非灌流域を区別して心臓を迅速に取り出し心筋の灌流域と非灌流域を分離しスライスする。

TTC にて染色を行い心筋梗塞サイズを測定する。

プロトコールは図2に示すとおりである。イソフルラン、レミフェンタニルは心筋虚血 45 分前から 30 分間投与する。イソフルランは 1.0MAC 投与し、レミフェンタニルは 1.0 mcg/kg/min を投与する。併用群は、それぞれ低濃度どうしまたは高濃度どうしを併用する。(図2参照)

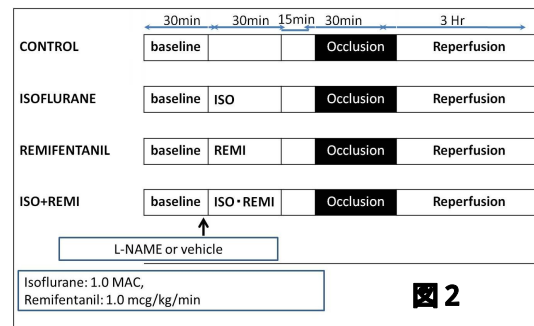


図2

(2) イソフルランおよびレミフェンタニルのプレコンディショニングの作用機序解明のために上記に示した小動物の心筋虚血再灌流モデルを用いて実験を行った。NO の関与、Caveolae および Caveolin-3 の関与、ミトコンドリアのカルシウム依存性カリウムチャネル (mK_{Ca}) の関与について、それぞれの阻害薬や促進薬を心筋虚血再灌流傷害の前に投与することで心筋梗塞サイズがどのように変化するか実験した。

(3) マウスを用いた実験で、Caveolin-3 KO マウスを用いてイソフルランの心筋保護効果に caveolae および Caveolin-3 が関与するか

検討した。

4. 研究成果

(1)ウサギの心筋虚血再灌流モデルを用いて行った心筋梗塞サイズの結果は表1のとおりである。

群	Con	Remi	Iso	Remi + Iso
心筋梗塞サイズ(%)[mean(SD)]	46 (8)	29 (13)*	27 (15)*	31 (12)*

表1 *P<0.05 vs Con

また、NO 合成酵素阻害薬である N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) を 10mg/kg 投与するとイソフルラン単独、レミフェンタニル単独、両者併用の心筋梗塞サイズ縮小効果が消失した。以上よりレミフェンタニルによるプレコンディショニング効果は吸入麻酔薬の併用によっても、更なる増強効果はない。吸入麻酔薬およびレミフェンタニルの心筋保護効果に NO が関与することが示唆された。

(2)イソフルランによる心筋保護効果の作用機序について、まずカベオラの影響についての結果を示す。マウスによる危険エリア(図3-A)と心筋梗塞サイズ(図3-B)が図3のように得られた。危険部位はすべての群で差がなく均一な実験ができていていることを示している。対照群(control)に比べ1.0 MACのイソフルラン(ISO(1.0))は有意に心筋梗塞サイズが縮小したが、0.5 MACのイソフルラン(ISO(0.5))では心筋保護効果がないことが

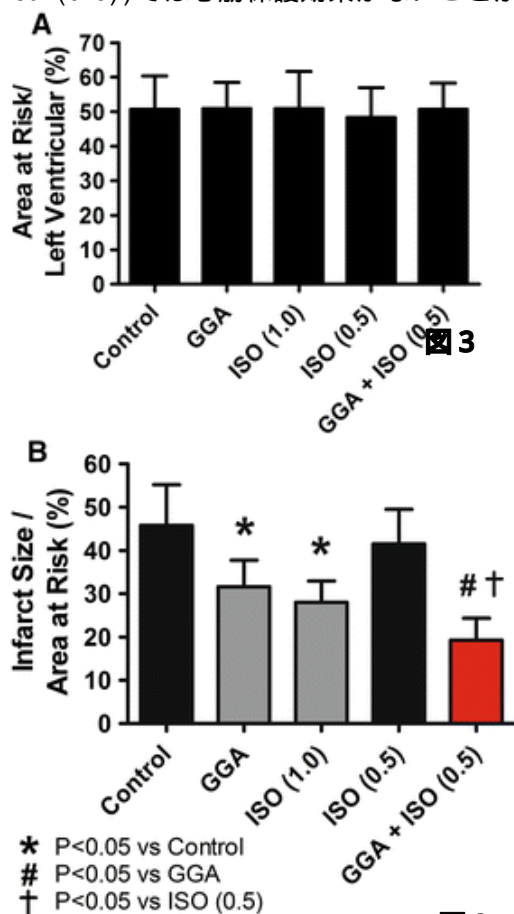


図3

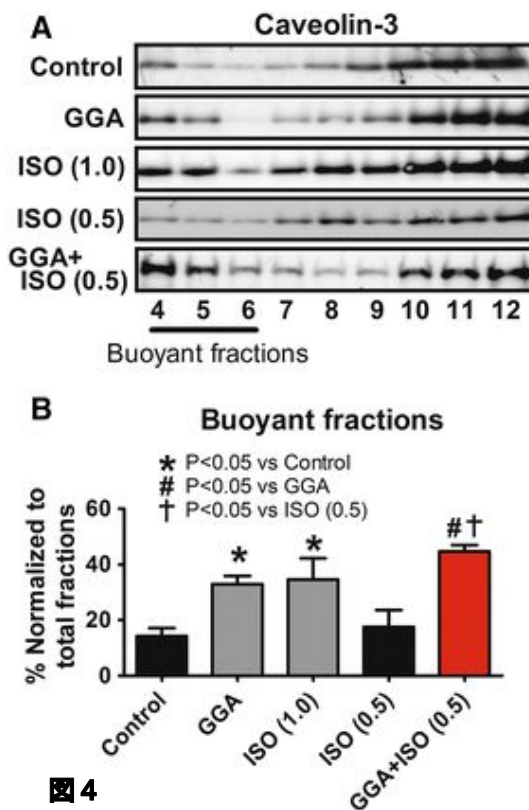


図4

分かった。それぞれの心臓から caveolin-3 の発現をみると ISO(1.0)は発現が対照群より有意に多く、ISO(0.5)は変わらなかった。(図4)このことは吸入麻酔薬の心筋保護作用は caveolin-3 が関与することが示唆される。

次に、イソフルランの心筋保護効果に mK_{Ca} が関与するか、ウサギの心筋虚血再灌流モデルを用いて心筋梗塞サイズを測定した。結果は図5の通りである。

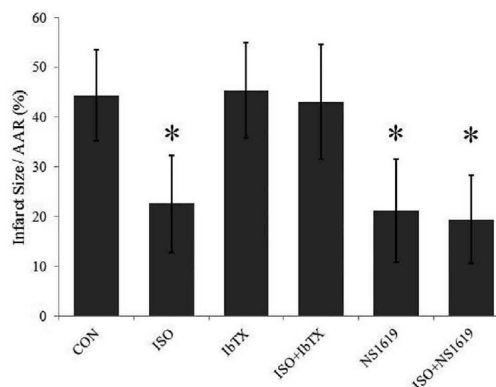


図5

Myocardial infarct size expressed as a percentage of the area at risk (AAR)
CON = control ; ISO = isoflurane ; IbTX = ibeiotoxin.
Data are given as means ± SD.
*Significantly different from control (P<0.05).

mK_{Ca} の阻害薬であるイベリオトキシン (IbTX)を前投与するとISOによる心筋梗塞サイズ縮小効果はなくなった。また、mK_{Ca} 開口薬である NS1619 は単独で心筋梗塞サイズを縮小した。これらのことから、イソフルランによる心筋保護効果に mK_{Ca} が関与することが示唆された。

(3) イソフルランによる心筋保護効果に Caveolin-3 が関与するか KO マウスを用いて実験した。その結果を図6に示す。

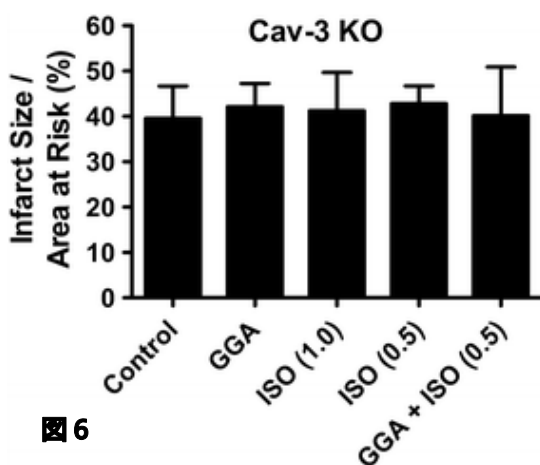


図6

Cav-3 KO マウスでは野生株のマウスで見られた ISO(1.0)による心筋梗塞減少効果が見られなかった。このことは、イソフルランによる心筋保護効果は Cav-3 が必要であることが示唆された。

(4) 以上、本研究費を用いて行った研究でレミフェンタニルとイソフルランによる心筋保護効果の作用機序に関する研究が行えた。これらの結果の一部は、海外の英文雑誌に成果を報告し、我々が報告した論文はすでに別の論文に引用されるなど高い注目を浴びている。また、国内の学会でも招待講演などでその成果の一部を報告している。反省する点として当初、考えていた抗炎症効果に関する実験は予備実験で TNF を測定したが大きな差を見出すことができず、時間と資金の不足のため十分な実験が行えなかった。今後、周術期のストレスから心臓を保護するための戦略を確立するためにこの分野の研究は益々注目されると思われる。吸入麻酔薬の心筋保護効果は糖尿病患者や高齢者で作用減弱することが分かっている、そのような患者が周術期の心筋虚血に陥りやすいことも分かっている。そのため、そのようなリスクの高い患者にも有効な戦略が立てられれば、多くの患者が安全に手術を受けることができ、社会的貢献も高くなると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

Kinoshita M, Tsutsumi YM (2 番目), Tanaka K (5 番目), 他 2 名: Isoflurane-induced postconditioning via mitochondrial calcium-activated potassium channels. *J Med Invest* 査読有 63 巻 2016 年 80-84 頁 DOI: 10.2152/jmi.63.80

Hamaguchi E, Tanaka K (2 番目), Tsutsumi YM (7 番目), 他 4 名: Exendin-4, glucagon-like peptide-1 receptor agonist, enhances isoflurane-induced

preconditioning against myocardial infarction via caveolin-3 expression. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 査読有 19 巻 2015 年 1285-1290 頁
<http://www.europeanreview.org/article/8590>

Tsutsumi YM (1 番目), Tanaka K (8 番目), 他 6 名: Exendin-4 ameliorates cardiac ischemia/reperfusion injury via caveolae and caveolins-3. *Cardiovasc Diabetol* 査読有 13 巻 2014 年 132 DOI: 10.1186/s12933-014-0132-9

Tsutsumi YM (1 番目), Tanaka K (10 番目), 他 8 名: Geranylgeranylacetone protect the heart via caveolae and caveolin-3. *Life Sci* 査読有 101 巻 2014 年 43-48 頁 DOI: 10.1016/j.lfs.2014.02.019

Tanaka K, Kersten JR, Riess ML: Opioid-induced cardioprotection. *Curr Pharm Des* 査読有 20 巻 2014 年 5696-5705 頁 DOI: 10.2174/1381612820666140204120311

〔学会発表〕(計 2 件)

田中克哉 吸入麻酔薬による臓器保護効果 日本麻酔科学会 中国四国支部第 5 2 回学術集会 2015 年 9 月 5 日 岡山コンベンションセンター(岡山県岡山市)

田中克哉 プレコンの最前線 麻酔科医の立場から 日本麻酔科学会第 6 2 回学術集会(招待講演) 2015 年 5 月 28 日 神戸ポートピアホテル(兵庫県神戸市)

〔その他〕

ホームページ等
徳島大学教育研修者総覧 田中克哉
<http://pub2.db.tokushima-u.ac.jp/ERD/person/60304/profile-ja.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 克哉 (TANAKA, Katsuya)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授
研究者番号: 3 0 2 6 3 8 4 1

(2) 研究分担者

大下 修造 (OSHITA, Shuzo)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・非常勤講師
研究者番号: 6 0 1 4 4 9 4 5

堤 保夫 (TSUTSUMI, Yasuo)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・准教授
研究者番号: 9 0 5 2 3 4 9 9