

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861386

研究課題名(和文)敗血症病態におけるスガマデクスによる筋弛緩拮抗機序の解明と臨床現場への提言

研究課題名(英文)Interaction between sugammadex and rocuronium in the septic rat diaphragm

## 研究代表者

高橋 和伸(takahshi, kazunobu)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：40530605

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ラット急性重症敗血症モデルを用いて、敗血症のstageが筋弛緩拮抗薬の作用性変化の関係を電気生理学的に検討した。筋弛緩拮抗薬スガマデクスと従来用いられていたネオスチグミンでは、終板電位の回復過程が異なるために、四連反応比と単収縮力の回復過程が変化することが判明した。加えて、スガマデクスによる筋力回復の安全性を多角的に評価するために、ラット重症筋無力症モデルを用いて、重症度が四連反応比と単収縮力の関係性に影響すること、その機序は神経筋接合部の一次シナプス間隙が重症度が高くなるほど大きくなるためであることが判明した。

研究成果の概要(英文)：We investigated interactions between sugammadex and rocuronium during reversal of a neuromuscular blockade in sepsis using a rat model of sepsis induced by cecal ligation and puncture. Sepsis attenuates the effects of rocuronium on twitch tension of the rat diaphragm and attenuates the reversal effect of sugammadex and neostigmine on rocuronium-induced depression of train of four ratio and twitch tension in vitro. Additionally, we investigated whether severity of myasthenia gravis affected the relationship between train of four ratio and twitch tension. Severity of myasthenia gravis affects the relationship between train of four ratio and twitch tension, together with changes in run-down of endplate potentials and those around the neuromuscular junction in rats. Train of four ratio may therefore not be an accurate indicator of recovery from neuromuscular blocking agents in myasthenia gravis patients.

研究分野：麻酔科学

キーワード：筋弛緩薬 敗血症 重症筋無力症

1. 研究開始当初の背景

スガマデクスは非脱分極性筋弛緩薬ロクロニウムに対する特異的拮抗薬である。ロクロニウム分子と 1:1 の複合体を形成し、血液中の遊離ロクロニウム濃度を急速に減少させ、神経筋接合部や末梢コンパートメントから濃度勾配に基づくロクロニウムの急激な拡散を生じさせる。これにより、ロクロニウムが神経終板のニコチン性アセチルコリン受容体から解離し、筋弛緩作用が急速に消失する。スガマデクスおよびその複合体は有害な生理活性をもたないとされ、さらにその機序から深い筋弛緩状態からの拮抗も可能であることから、これまで本邦で使用されていた筋弛緩拮抗薬であるネオスチグミンに取って代われようとしている。しかし、発売から3年が経過し、臨床上的問題も明らかになってきた。

本研究で課題としている問題点は、スガマデクスによる筋力回復後の筋弛緩作用の再発現(再クラーレ化)である。スガマデクスは临床上十分な安全域を加えた推奨投与量が定められているが、再クラーレ化が疑われる筋力の低下による呼吸不全症例が報告されている。

2. 研究の目的

再クラーレ化が起きる原因として、非脱分極性筋弛緩薬や、筋弛緩拮抗薬の作用性変化や、筋力の回復を正しく評価できていない可能性が考えられる。敗血症や重症筋無力症(myasthenia gravis: MG)など、神経筋接合部が変化する病態において、その重症度が非脱分極性筋弛緩薬や筋弛緩拮抗薬の作用性、および四連反応比(Train of four ratio: TOFR)や単収縮力(Twitch Tension: T1)などの筋力回復指標に与える影響やその機序を検討する。

3. 研究の方法

敗血症、MGモデルラットを作製し、左横隔神経-横隔膜標本を用いて、重症度による筋力の変化を測定した。その後、非脱分極性筋弛緩薬ロクロニウム、筋弛緩拮抗薬スガマデクス、ネオスチグミンを投与した。

その課程で、敗血症の重症度が増すと、ロクロニウム、スガマデクスの作用性が減弱すること、MGの重症度が増すとロクロニウム、スガマデクスの作用性が増強することを解明するとともに、重症筋無力症では筋力の回復指標である四連反応比と単収縮力の関係性が変化することが明らかとなったため、その機序を検討した。

4週齢のLewisラットを用いて、抗Ach受容体抗体を投与することにより、重症度の異なるMGモデル2群(中等度MG群,重症MG群)およびsham群を作成し、その臨床症状を6段階の尺度(0:無症状~6:死亡)で評価した。

次に各々の群で、左横隔神経-横隔膜標本

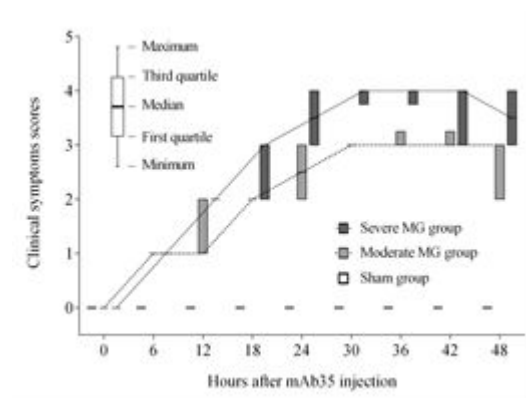
を用いた収縮生理学的実験を行った。ロクロニウムを加算投与しながら筋収縮力を測定し、それぞれの群における用量-収縮力曲線を作成し、T1をX%に減弱させるロクロニウム濃度(IC[X]:X% inhibitory concentration of rocuronium)を求めた。

ROC非存在下および存在下(IC25,50,75)におけるT1とTOFRを測定し、電気生理学的実験によりROC非存在下および存在下(IC50)における微小終板電位(MEPP:miniature endplate potential)と終板電位(EPP:endplate potential)を測定した。最後に神経筋接合部を電子顕微鏡で観察し、形態学的に評価した。

4. 研究成果

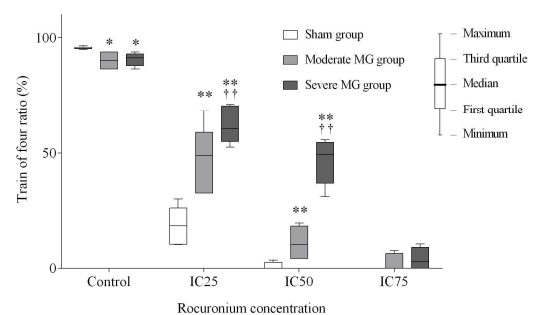
MGラットの重症度評価について

重症MG群では中等度MG群、およびsham群と比較して、有意に高い臨床症状尺度を示した。



TOFRとT1の関係性について

IC50投与下で、T1の減弱率は3群間で差は見られなかったが、TOFRは重症MG群でsham群および中等度MG群より有意に高かった。MGが重症になるほどTOFRはT1の回復を反映しない可能性があることが示唆された。この結果は、MGの重症度がTOFRとT1の関係性に及ぼす影響についての初めての知見である。



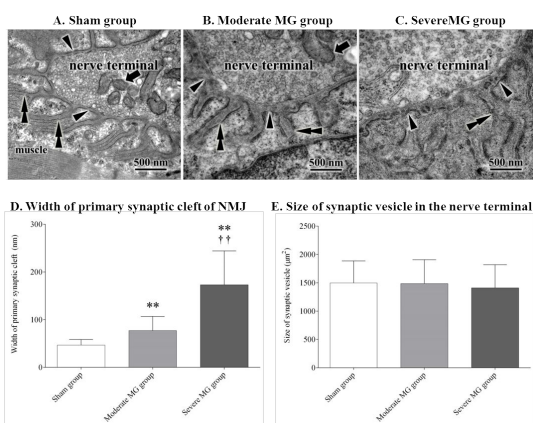
TOFRとT1の関係性変化の機序について

ROC非投与下でMEPPを測定した。重症MG群においてMEPPの振幅は他の2群より有意に低く、頻度は3群間で有意な差は見られな

かった。MEPP の振幅は T1 に強く影響する postsynaptic function を反映し、MEPP の頻度は TOFR に強く影響する presynaptic function を反映する。この結果は MG の重症度が高くなる程、ROC 非投与下では presynaptic function より postsynaptic function が強く障害されることを表している。重症 MG 患者では ROC 非投与下における TOFR の減弱は、より大きな T1 の減弱が存在する可能性が示唆された。

ROC 非投与下および IC50 で EPP を測定した。IC50 での EPP の振幅は ROC 非投与下の EPP の振幅に比べ、全ての群で有意に減弱した。sham 群と中等度 MG 群において、IC50 での EPP の rundown と ACh 放出素量 (QC: quantal content) は、ROC 非投与下のそれらと比べ有意に低かったが、重症 MG 群では有意な差を認めなかった。このことは、IC50 における ROC が EPP の振幅を減弱させる作用性は 3 群で同程度に認めるが、ROC が rundown を強調させる、または QC を減少させる作用性に関しては重症 MG 群で他の 2 群に比べ有意に小さいことを示す。EPP の振幅の減弱は ROC による postsynaptic function の低下作用を示し、EPP の rundown の強調および QC の減少は presynaptic function の低下作用を反映するため、これらの結果は、重症 MG において ROC が presynaptic function より postsynaptic function に強く作用することを示している。これが、ROC 投与下において、重症 MG 群で TOFR の回復が T1 の回復を反映しない現象の一因であると考えられた。

NMJ を電子顕微鏡で形態学的に評価した。中等度 MG 群、および重症 MG 群の NMJ で、シナプス膜の破壊によるシナプス後膜の平板化が観察された。1 次シナプス間隙は重症 MG 群において、sham 群および中等度 MG 群より有意に拡大していた。



シナプスの間隙の拡大は postsynaptic function の低下に強く影響するため、シナプスの間隙の拡大が重症 MG 群で ROC 非投与下において presynaptic function より postsynaptic function が強く障害される現象、および ROC が presynaptic function より postsynaptic function に強く作用する現

象の一因であると考えられた。

## 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 3 件)

1. Takahashi K, Takada Y, Niiya T, Narimatsu E, Yamakage M. Severity of myasthenia gravis influences the relationship between train of four ratio and twitch tension, and run-down of rat endplate potentials. *Anesthesiology*. 2016 ;124(2):369-77 (査読あり)
2. Narimatsu E, Niiya T, Takada Y, Takahashi K, Yamauchi M, Yamakage M : Blockers of adenosine A1, but not muscarinic acetylcholine, receptors improve excessive extracellular glutamate-induced synaptic depression. *Neurosci Res*. 2013 Feb;75(2):103-11. (査読あり)
3. Narimatsu E, Niiya T, Takahashi K, Yamauchi M, Yamakage M : Pralidoxime inhibits paraoxon-induced depression of rocuronium-neuromuscular block in a time-dependent fashion. *Am J Emerg Med*. 2012 Jul;30(6): 901-7. (査読あり)

[学会発表](計 8 件)

1. Takahashi K, Takada Y, Niiya T, Narimatsu E, Yamakage M : Severity of myasthenia gravis influences the relationship between train of four ratio and twitch tension, and run-down of rat endplate potentials. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists : 2015 Oct 24-28 : San Diego, USA (査読あり)
2. Niiya T, Takahashi K, Takada Y, Narimatsu E, Yamakage M : Severity of Myasthenia Gravis Influences the Reversal Effect of Neostigmine on Rocuronium-induced Muscle Relaxation In Vitro. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists : 2014 Oct 11-15 : New Orleans, USA (査読あり)
3. Takahashi K, Niiya T, Narimatsu E, Yamakage M : Train of Four Ratios Cannot Reflect Muscle Strength in Severe Myasthenia Gravis: An In Vitro Study in a Rat Model of Experimental Autoimmune Myasthenia Gravis. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists : 2014 Oct 11-15 : New Orleans, USA (査読あり)
4. Takahashi K, Niiya T, Takada Y ,

- Narimatsu E, Yamakage M : Prospective Analysis of Sugammadex in 9 Patients with Myasthenia Gravis. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists : 2013 Oct 12-16 : San Francisco, USA ( 査読あり )
5. Takahashi K, Yamauchi M, Niiya T, Yamakage M : Minimum Levobupivacaine Concentration Required to Block Axillary Nerves While Preserving Motor Function. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists : 2013 Oct 12-16 : San Francisco, USA ( 査読あり )
6. Takahashi K, Niiya T, Yamauchi M, Narimatsu E, Yamakage M : Comparison of local anesthetic agents for phrenic nerve paralysis: A study in rat phrenic nerve-diaphragm preparation. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists : 2012 Oct 13-17 : Washington, USA ( 査読あり )
7. Takahashi K, Yamauchi M, Kii N, Niiya T, Yamakage M : Minimum lidocaine concentration for axillary nerve block with preservation of motor function. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists : 2012 Oct 13-17 : Washington, USA ( 査読あり )
8. Takahashi K, Niiya T, Narimatsu E, Yamakage M : Interaction between sugammadex and rocuronium in the septic rat diaphragm. The Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists : 2012 Oct 13-17 : Washington, USA ( 査読あり )

〔図書〕(計 1件)

高橋和伸, 新谷知久, 成松英智 : 周術期における筋疾患患者のモニター. 救急集中治療 2015,27: 497-501.

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 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

高橋和伸 (TAKAHASHI KAZUNOBU)

札幌医科大学 医学部 助教

研究者番号 : 40530605

(2)研究分担者

( )

研究者番号 :

(3)連携研究者

新谷知久 (NIIYA TOMOHISA)

札幌医科大学 医学部 講師

研究者番号 : 80510312

成松英智 (NARIMATU EICHI)

札幌医科大学 医学部 教授

研究者番号 : 70295343