

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26850197

研究課題名(和文) 犬におけるアミノ酸を用いた周術期低体温の新規予防法開発に向けた研究

研究課題名(英文) Study on prevention of perioperative hypothermia by amino acid in dogs

研究代表者

柴田 早苗 (SHIBATA, Sanae)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：20588917

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)：麻酔下の犬にアミノ酸輸液すると、インスリン分泌が亢進するとともに、麻酔中の体温低下が軽減した。インスリン分泌を抑制した犬にアミノ酸輸液を実施すると、麻酔中の体温低下軽減効果が減弱したことから、アミノ酸輸液の体温低下軽減効果には、インスリンが関与していると考えられた。また、アミノ酸輸液によって肝臓および骨格筋においてAkt-mTOR経路の活性化が認められ、肝臓ではインスリン介在性に、骨格筋では非介在性にAkt-mTOR経路が活性化されることが示唆された。予定手術症例にアミノ酸輸液を実施したところ、その効果は限定的であり、周術期低体温軽減効果は十分ではなかった。

研究成果の概要(英文)：Amino acid infusion in dogs inhibited insulin secretion reduced the effect which attenuates the decrease in body temperature during anesthesia. Therefore, in healthy dogs, amino acid infusion can attenuates the decrease in body temperature during anesthesia by facilitating insulin secretion. In skeletal muscle and liver derived from dogs infused amino acids, Akt-mTOR pathway was activated. In addition, Akt-mTOR pathway in skeletal muscle can be activated without insulin.

研究分野：獣医麻酔学

キーワード：犬 アミノ酸輸液 周術期低体温

1. 研究開始当初の背景

犬や猫をはじめとする小動物の全身麻酔下での処置・手術は年々増加傾向にあるが、全身麻酔下での処置にはさまざまな合併症が付きまとう。その中でも術後のアウトカムに影響すると言われているのが、術中術後の低体温である。体温の低下により、術後の創部感染の増加、出血量の増加、心臓合併症の増加、覚醒の遅延といった多くの問題が生じる。以上のことから、周術期における体温保持の重要性が認識されているが、犬や猫などの小動物では体重当たりの体表面積が大きいことため麻酔中の体温低下が早く、体温管理は困難である。

1990年代に人やげっ歯類の研究によって、アミノ酸輸液によって周術期の体温低下を予防できることが示された。麻酔下のラットを用いた研究では、アミノ酸投与によりインスリンの分泌が誘導され、インスリンが骨格筋におけるタンパク質合成を促進させることが明らかになった。このことから、アミノ酸はインスリンを介してタンパク質合成を促進させ、熱産生を誘導することによって体温低下を防止すると考えられている。しかしながら犬では、アミノ酸輸液による低体温予防効果について検証された研究は中国の麻酔科医らのグループによって発表された1件のみであり、臨床応用は未だ難しい状況にある。

研究代表者がこれまで実施してきた研究から、犬に対して麻酔前から総合アミノ酸製剤を投与すると、用量依存性に体温低下が抑制されることが明らかになった(図1)。ま

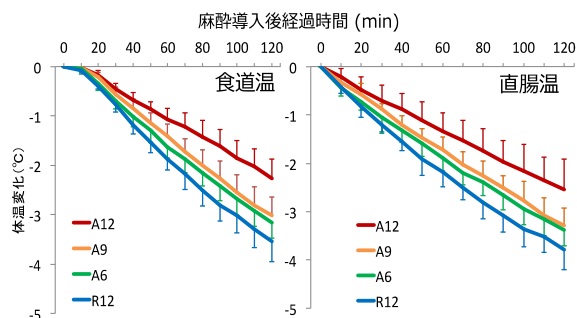
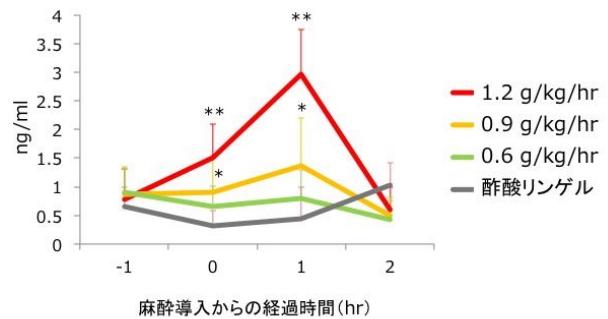


図1. 総合アミノ酸製剤による食道温および直腸温の変化
A12: 1.2 g/kg/hr, A9: 0.9 g/kg/hr, A6: 0.6 g/kg/hr,
R12: 酢酸リンゲル液(コントロール)。コントロール群と比較して、
全群において統計学的有意差が認められた。

た、ラットや人同様、アミノ酸輸液によってインスリン分泌が促進されることも示された(図2)。このことから、犬においても周術期低体温に対する新規予防法としてアミノ酸輸液が有効であること、これにはアミノ酸輸液によって誘導されたインスリンが関与していることが示唆された。



*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (Shirley-Williams検定)

図2. 総合アミノ酸製剤によるインスリン分泌
総合アミノ酸製剤 0.9 g/kg/hr および 1.2 g/kg/hr の
輸液によって、インスリン分泌量が有意に増加した。

2. 研究の目的

研究代表者のこれまでの研究から、犬においても人やげっ歯類と同様に、アミノ酸輸液による周術期低体温の予防効果があると考えられた。しかしながら現状では、犬におけるもっとも有効なアミノ酸輸液条件は明確でなく、臨床応用は難しい。また、一般的な総合アミノ酸製剤には、約18種類のアミノ酸が含まれている。これまでの研究において、健康な犬に対してのアミノ酸製剤の投与に副作用は認められていないが、基礎疾患を有する犬への投与については検証されていない。

また、これまでに人や犬において体温低下抑制作用を有する単独のアミノ酸は見出されていない。総合アミノ酸製剤は浸透圧比が高いため、大量急速投与を行うと静脈炎が生じる可能性があるほか、悪心・嘔吐を誘発し、電解質バランスを崩す可能性がある。どのアミノ酸が体温保持に有効であるのかが明らかになれば、単一アミノ酸製剤の投与によって効果を得ることができ、より安全に低体温を予防できると考えられる。そこで本研究では、イヌに対して最も効果的なアミノ酸輸液の投与条件を確立することを研究目的とした。

3. 研究の方法

ソマトスタチンはインスリンを始めとしてグルカゴンや成長ホルモンの分泌を抑制する。アミノ酸輸液の有効性が認められる輸液条件下で、ソマトスタチンアナログ(オクトレオチド)を投与した犬にアミノ酸輸液を実施し、中枢温、血糖値および血漿中インスリン濃度を測定した。オクトレオチド投与群において体温低下抑制作用が得られるかどうか検証することにより、アミノ酸輸液による体温低下抑制作用とインスリンの関連性を評価した。

臨床的有効性が高いと考えられる条件下でアミノ酸輸液を実施し、犬の大腿四頭筋より得た骨格筋および肝臓を用いてタンパク

抽出を行った。オクトレオチドの投与により、インスリン分泌を抑制し、アミノ酸輸液を実施した犬からも採材した。インスリン受容体下流のシグナル伝達分子である Akt、mTOR、4E-BP1、p70S6K および GSK-3 リン酸化抗体を用いてウエスタンブロッティングを実施し、骨格筋におけるインスリン受容体シグナル伝達分子のリン酸化の程度をコントロール群と比較した。

本学附属動物病院に来院した手術適応症例を対象に、これまでの実験から有効性および安全性が認められたアミノ酸を輸液した。投与による副作用発現の有無を観察するとともに、中枢温を経時的に測定し、有効性を評価した。

4. 研究成果

オクトレオチドによって、犬におけるインスリン分泌は抑制された。インスリン分泌を抑制した犬にアミノ酸輸液を実施したところ、体温低下軽減作用が减弱した(図3)。このことから、アミノ酸輸液の効果発現にはインスリンが関与していることが示唆された。

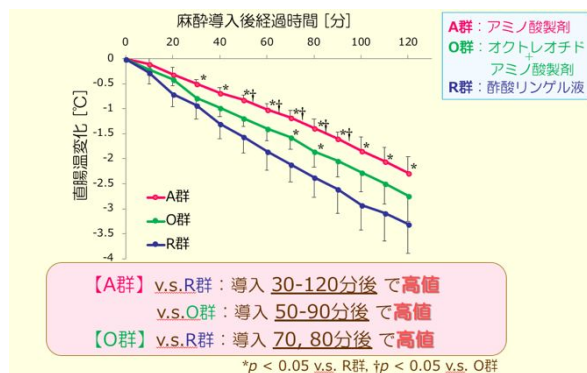


図3. 総合アミノ酸製剤による直腸温の変化

アミノ酸輸液した犬の骨格筋および肝臓では、Akt-mTOR 経路が活性化されていた。インスリン分泌を抑制した場合、骨格筋においてのみ、Akt-mTOR 経路の活性化が認められたが、活性化が確認された分子は 4EBP1 と mTOR のみであった。このことから、アミノ酸輸液によって、骨格筋ではインスリン非介在性に、肝臓ではインスリン介在性に Akt-mTOR 経路が活性化されることが示唆された。

犬の予定手術症例に対してアミノ酸輸液を実施したところ、手術終了直後においてのみ、コントロールと比較して体温が高値となった。このことから、アミノ酸単独では周術期低体温の予防は困難であることが明らかとなった。

以上の結果から、アミノ酸輸液の周術期低体温軽減効果を十分に得るためには、インスリン分泌が必要であることが明らかとなった。その一方、臨床例へのアミノ酸投与を実施する際には、単独では低体温対策には十分でないことが示された。今後は、臨床例に対

して加温装置とアミノ酸輸液を併用し、十分な効果が得られるかどうかを検証していく予定である。

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1件)

1. Takashima, S., Shibata, S., Yamada, K., Ogawa, M., Nishii, N. and Kitagawa, H. Intravenous infusion of amino acids in dogs attenuates hypothermia during anaesthesia and stimulates insulin secretion. *Vet Anaesth Analg.* 43(4): 379-387, 2016.

[学会発表](計3件)

1. 長井里帆、傍島由布子、下岡由佳、高島諭、柴田早苗 小型犬における周術期低体温に対するアミノ酸輸液の有効性 第96回日本獣医麻酔外科学会 2018
2. 傍島由布子、北村真麻、市川哲、下岡由佳、菅井里子、高島諭、西飯直仁、北川均、柴田早苗 麻酔中の犬へのアミノ酸輸液による体温低下軽減に対するインスリンの関与 第159回日本獣医学会 2016
3. 太田宜亨、滝谷真一、高島諭、西飯直仁、北川均、柴田早苗 犬において糖負荷によるインスリン分泌にイソフルランが与える影響 第159回日本獣医学会 2016

[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
特になし

6．研究組織

(1) 研究代表者

柴田早苗 (SHIBATA, Sanae)
岐阜大学・応用生物科学部・准教授
研究者番号：20588917