

学位論文題名

静脈麻酔薬プロポフォールのモルモット心筋細胞における
陰性変力作用の検討

学位論文内容の要旨

静脈麻酔薬として、1990年代後半から国内で広く使用されるようになったプロポフォール(2,6 diisopropylphenol)は、臨床使用時、特に麻酔導入時など急速静脈内投与をした際に、著明な循環抑制を来すことが知られている。主な原因は心筋抑制および血管拡張とされているが、そのうち心筋抑制については、様々な動物種の心筋細胞を用いた基礎実験において、そのメカニズムの解明が進められてきた。本研究ではモルモットの心筋標本を用い、プロポフォールの心筋陰性変力作用の機序について、系統的な検討を行なった。

初めに、1 Hz で電氣的に駆動したモルモット右室乳頭筋標本を用い、プロポフォールを投与して等尺性張力を測定した。プロポフォールを低濃度より累積的に (10^{-6} - 6×10^{-4} M) 投与すると、濃度依存性に陰性変力作用が惹起された。その有意な収縮力抑制作用は $10 \mu\text{M}$ ($1.8 \mu\text{g/mL}$) 以上の濃度で得られ、 IC_{50} 値は $124 \mu\text{M}$ であった。临床上使用されるプロポフォールの血中濃度は、通常 $19\text{-}23 \mu\text{M}$ の範囲とされており、この結果は、プロポフォールは臨床用量で心収縮力抑制を起し得ることを示唆する。しかし、実際プロポフォールはその95%以上が血漿アルブミンと結合しているため、今回のように薬物活性を示す遊離型が $1 \mu\text{g/mL}$ 未満となる場合には、直接的な心筋抑制作用は、あまり影響しないと思われる。比較対照として用いた Ca^{2+} チャネルブロッカーであるニフェジピンも、 10^{-9} - 10^{-6} M の累積的投与で濃度依存性の陰性変力作用を示した。ニフェジピンの IC_{50} 値は 22 nM であり、プロポフォールの効力は、ニフェジピンよりはるかに低かったが、両者の陰性変力作用の特性は非常に類似していた。

同様に摘出乳頭筋標本を用い、プロポフォールの IC_{50} 値に近似した $100 \mu\text{M}$ を前投与して、陽性変力作用薬に対する影響を調べた。 β 受容体アゴニストのイソプロテレノールによる、低濃度でのみ惹起された陽性変力作用は、プロポフォール存在下で有意に減弱した。一方 Ca^{2+} 感受性増強薬の EMD 57033 の陽性変力作用は、有意な影響を受けなかった。また Ca^{2+} チャネルアゴニストの Bay K 8644 の陽性変力作用を示した濃度反応曲線は、有意に右下方に移動し ($P < 0.01$)、プロポフォールによりその作用が減弱した。それぞれの陽性変力作用薬に対して、ニフェジピンの IC_{50} 値に近似した 30 nM を投与した場合も、プロポフォールと同様の結果が得られた。

第2の実験として、モルモット左室肉柱線維を β -escin で化学的に処理したスキンドファイバーを用い、各 Ca^{2+} 濃度における張力との関係について調べた。 pCa - 張力曲線は、コントロールとプロポフォール $100 \mu\text{M}$ 存在下で殆ど差はなく、 pCa_{50} 値は、Hill の式からそれぞれ 5.56、5.57 と求められた。また同様に得られた pCa_{50} 値は、プロポフォール $200 \mu\text{M}$ 存在下では 5.50、

ニフェジピン 30 nM 存在下でも 5.61 であり、いずれも非薬物存在下での pCa_{50} 値と変わらず、 Ca^{2+} 感受性に影響を与えなかった。今回モルモットの標本において、プロポフォールの筋フィラメントの Ca^{2+} 感受性に対する効果がなかったことは、前述の Ca^{2+} 感受性増強薬 EMD 57033 の陽性変力作用に、プロポフォールが有意な影響を与えないことから支持される。

第3の実験は、モルモットの摘出心臓をランゲンドルフ装置で灌流し、コラゲナーゼ処理により単離した、左室心筋細胞を用いて行なった。心筋細胞を Indo-1AM で load し、0.5 Hz で電気的に駆動して測光した細胞内 Ca^{2+} 濃度の一過性上昇 (細胞内 Ca^{2+} トランジェント) と細胞長の短縮に対する、プロポフォールの影響を記録した。プロポフォール 100 μ M 存在下で、細胞内 Ca^{2+} トランジェントと細胞長の短縮率は、それぞれ並行に減少した。またニフェジピン 30 nM 存在下でも同様の減少が見られ、プロポフォール、ニフェジピンとも細胞内 Ca^{2+} 減少と同調して、単離心室筋細胞の収縮力を減弱させた。

第4の実験として、同じく単離した左室心筋細胞を用い、パッチクランプ法の電圧固定モードで膜電位を -40 から +10 mV に 200 msec 脱分極させ、プロポフォールによる L 型カルシウム電流 (I_{CaL}) の変化を測定した。 I_{CaL} は、プロポフォール 10^6 - 10^4 M で濃度依存性に抑制され、Hill の式より計算された IC_{50} 値は 9.8 μ M であった。 I_{CaL} は高濃度ニフェジピン (4 μ M) で完全に消失した。プロポフォールの、 I_{CaL} を減少させる IC_{50} 値 9.8 μ M は、心筋収縮力を抑制する IC_{50} 値である 124 μ M の 1/13 という低い濃度であった。このことから、 I_{CaL} 減少による陰性変力作用に対し、拮抗的に作用するメカニズムの存在が推察された。

そこで今度は単離心筋細胞の遅延整流カリウム電流 (I_K) を、膜電位を -30 から +30 mV に 3000 msec 脱分極させた条件下で測定した。プロポフォール 100 μ M 存在下で、tail 電流のピークに対する効果は約 50 % 抑制された。 I_K 拮抗薬である E-4031 存在下においても、プロポフォール 100 μ M は tail 電流を約 50 % 減少させた。プロポフォールで抑制されなかった I_K は、 I_{Ks} 拮抗薬である 293B の投与により、ほぼ消失した。以上より、プロポフォールは I_{CaL} 抑制とともに I_K を有意に抑制し、それは I_K のうち I_{Ks} を選択的に抑制することが示唆された。

またパッチクランプ法の電流固定モードを用い、0.1 Hz で電気的に駆動して、プロポフォールによる活動電位の波形変化を記録した。活動電位の持続時間 (APD) は、プロポフォール 10^5 - 3×10^4 M の投与により、濃度依存性に短縮された。しかし静止膜電位や活動電位高には、有意な変化は見られなかった。この APD の短縮は、プロポフォールの I_{CaL} 抑制作用によるものであると推察される。先の結果と合わせると、APD を延長させる方向に働く I_{Ks} 抑制作用は、 I_{CaL} 抑制作用に拮抗するものの、高濃度のプロポフォールでは、 I_{CaL} 抑制作用の方が有効であると考えられた。

以上の結果から、モルモットの心筋標本において、静脈麻酔薬プロポフォールは主に I_{CaL} を抑制することで、心筋陰性変力作用を示すことが明らかとなった。しかしプロポフォールは、自身もその作用に拮抗した、APD を延長させる I_{Ks} 抑制作用も有するため、陰性変力作用発現には高い濃度が必要であった。実際の臨床投与量からみると、薬物活性のある遊離型プロポフォールの濃度ははるかに低いことから、プロポフォールによる直接的な心筋抑制作用は、臨床上深刻な影響は与えないと結論される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 森 本 裕 二
副 査 教 授 丸 藤 哲
副 査 教 授 筒 井 裕 之

学 位 論 文 題 名

静脈麻酔薬プロポフォールのモルモット心筋細胞における 陰性変力作用の検討

臨床使用時に著明な循環抑制を来すこともある静脈麻酔薬プロポフォールについて、本研究ではモルモットの心筋標本を用い、プロポフォールの心筋陰性変力作用の機序について、系統的な検討を行なった。

右室乳頭筋標本を用いた等尺性張力の測定では、プロポフォールにより濃度依存性に陰性変力作用が惹起され、その IC_{50} 値は $124 \mu M$ であった。比較対照として用いた Ca^{2+} チャネル拮抗薬であるニフェジピンも、濃度依存性の陰性変力作用を示し (IC_{50} 値は $22 nM$)、その効力はプロポフォールよりはるかに高かったが、両者の陰性変力作用の特性は非常に類似していた。

プロポフォールを前投与して、陽性変力作用薬に対する影響を調べると、 β 受容体アゴニストのイソプロテレノールによる、低濃度でのみ惹起された陽性変力作用は、有意に減弱した。一方 Ca^{2+} 感受性増強薬の EMD 57033 の陽性変力作用は、有意な影響を受けなかった。また Ca^{2+} チャネルアゴニストの Bay K 8644 の陽性変力作用を示した濃度反応曲線は、有意に右下方に移動した。それぞれの陽性変力作用薬に対して、ニフェジピンを投与した場合も、同様の結果が得られ、プロポフォールは Ca^{2+} チャネルの抑制作用があると考えられた。

左室肉柱スキンドファイバーにおいて、 pCa - 張力曲線は、コントロールとプロポフォール存在下で殆ど差はなく、 pCa_{50} 値はそれぞれ 5.56、5.57 と求められた。また、同様に得られた pCa_{50} 値はニフェジピン存在下でも 5.61 であった。また左室心筋細胞において、プロポフォールおよびニフェジピン存在下で、細胞内 Ca^{2+} トランジェントと細胞長の短縮率は、それぞれ並行に減少し、単離心室筋細胞の収縮力を減弱させた。これらを合わせると、プロポフォールは、 Ca^{2+} 感受性に影響を与えないことが示唆された。

左室心筋細胞の L 型カルシウム電流 (I_{CaL}) は、プロポフォールで濃度依存性に抑制され、 IC_{50} 値は $9.8 \mu M$ であった。遅延整流カリウム電流 (I_K) では、プロポフォール存在下で、tail 電流のピークに対する効果が約 50 % 抑制された。 I_K 拮抗薬である E-4031 存在下においても、プロポフォールは tail 電流を約 50 % 減少させた。プロポフォールで抑制されなかった I_K は、 I_{Ks} 拮抗薬である 293B の投与によりほぼ消失したため、 I_K のうち I_{Ks} を選択的に抑制することが示唆された。

活動電位の波形記録では、活動電位の持続時間(APD)は、プロポフォールにより濃度依存性に短縮された。この APD の短縮は、プロポフォールの I_{CaL} 抑制作用によるものと推察される。先の結果と合わせると、APD を延長させる方向に働く I_{Ks} 抑制作用は、 I_{CaL} 抑制作用に拮抗するものの、高濃度のプロポフォールでは、 I_{CaL} 抑制作用の方が有効であると考えられた。

以上の結果から、モルモットの心筋標本において、プロポフォールは主に I_{CaL} を抑制し、心筋陰性変力作用を示すことが明らかとなった。しかしその作用に拮抗した、APD を延長させる I_{Ks} 抑制作用もまた有するため、陰性変力作用発現には高い濃度が必要であった。実際の臨床投与量からみると、薬物活性のある遊離型プロポフォールの濃度ははるかに低いことから、プロポフォールによる直接的な心筋抑制作用は、临床上深刻な影響は与えないと結論された。

学位論文内容の公開発表は、平成 19 年 2 月 5 日午前 10 時 10 分より医学部臨床大講堂において行われた。発表後、副査の筒井裕之教授から、プロポフォールの循環抑制のうち血管拡張作用を示す血中濃度について、 I_{CaL} 抑制と心筋抑制作用の有効濃度差の説明について質問があった。次いで副査の丸藤哲教授から、低濃度でのイソプロテレノールと EMD 57033 におけるプロポフォールによる陽性変力作用の減弱の仕組み、筋小胞体の Ca^{2+} 放出への作用、虚血心への作用について等の質問があった。最後に主査の森本裕二教授から、臨床使用時における、特に老人で見られる徐脈現象との関連、プロポフォールの直接と間接の作用について等の質問があった。いずれの質問に対しても、申請者は過去の報告や参考論文等を引用し、臨床的経験などから推測される結果をもって回答した。

審査員一同はこれらの成果を評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに資格を有するものと判定した。