

平成30年 5月29日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10513

研究課題名(和文) 高血糖が吸入麻酔薬およびGLP-1受容体の心筋保護相互作用に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effects of GLP-1 and/or volatile anesthetics against ischemia-reperfusion injury under hyperglycemia

研究代表者

酒井 陽子 (SAKAI, Yoko)

徳島大学・病院・特任准教授

研究者番号：90711862

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：In Vitro低酸素再灌流実験にて細胞の生存率を割り出した。GLP-1群、吸入麻酔薬イソフルラン刺激を与えたプレコンディショニング群の生存率がコントロール群に比較して高かった。In vivo虚血再灌流実験にて心筋梗塞サイズを測定した。コントロール群に比べGLP-1、イソフルラン刺激群の心筋梗塞サイズが縮小していた。次に、グルコースを静注することで高血糖マウスモデルを作成し、上記の実験を行い心筋梗塞サイズを比較検討すると、GLP-1・APCの刺激を行った群においては心筋保護作用が棄却された。これらのことより、GLP-1やAPCの心筋保護作用は血糖に影響を受けることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R) agonist and volatile anesthetic isoflurane protects the heart from ischemia/reperfusion injury. We tested the hypothesis that hyperglycemia interferes with GLP-1 agonist and/or isoflurane-induced cardiac protection affect using in vitro and in vivo studies. Myocytes were treated with GLP-1 and/or isoflurane. This was then followed by simulated ischemia/reperfusion (SI/R). In addition, cardiac protection in vivo was assessed by measuring infarct size and cardiac troponin levels. GLP-1 and isflurane protected cardiac myocytes from SI/R but this protection was bolished by hyperglycemia. Furthermore, GLP-1 and/or isoflurane induced a reduction in infarct size and cardiac troponin relative to control. However, induced cardiac protection was abolished in hyperglycemia. These results indicate tha blood glucose are important determinants of infarct size during GLP-1 and isoflurane-induced cardiac protection.

研究分野：麻酔科学

キーワード：高血糖 インクレチン 虚血再灌流障害 イソフルラン 心筋保護作用

## 1. 研究開始当初の背景

吸入麻酔薬であるイソフルランには心筋保護効果があることが知られているが、そのメカニズムの全容は明らかではない。近年、小腸のL細胞から分泌されるGlucagon-Like Peptide (GLP-1)が心筋保護に関与する可能性があると報告された(Bose et al. *Diabetes* 54:146-51, 2005)。また、これらの心筋保護作用が、肥満や血糖値によって影響されることも明らかになってきた(Hosseini et al. *Circulation* 127:74-85, 2013)。つまり、GLP-1は高血糖などの体内状態により動態・作用の変化が起こる可能性が示唆される。

## 2. 研究の目的

本研究は、イソフルランによる心筋保護作用にGLP-1受容体が関与することを明らかにし、これらの経路に高血糖がどのように影響するかマウスモデルを用いて検討する。

## 3. 研究の方法

実験(1) マウス *in vitro* 遊離心筋細胞を用い、低酸素モデルにて心筋細胞死亡率がGLP-1により低下することを明らかにする。さらに、同様のモデルを使用しGLP-1を前投与しAPC刺激の相互作用を明らかにする。

実験(2) マウス *in vivo* 虚血再灌流モデルを用いて対照群、APC群、GLP-1群、APC+GLP-1群において心筋梗塞サイズを測定比較する。

実験(3) 実験(1)のモデルを用いて細胞培養液を高血糖にすることで、心筋細胞の死亡率がどのように影響を受けるかを調べる。

実験(4) 高血糖マウスモデルを用いて、対照群、APC群、GLP-1群、APC+GLP-1群の心筋梗塞サイズを比較検討する。

実験(5) 高血糖マウスモデルに対し、血糖を低下させることで、対照群、APC群、GLP-1群、APC+GLP-1群の心筋梗塞サイズがどのように変化するかを調べる。

## 4. 研究成果

マウスの摘出心臓をランゲンドルフ酵素法にて灌流、得られた遊離心室筋細胞をラミニンを用いてディッシュに接着させる。通常培養液(グルコース濃度5.5 mmol/L)を「グルコースなし」のものに置き換え、特殊チャンバーを用い、1時間低酸素状況(95%N<sub>2</sub>, 5%CO<sub>2</sub>)に暴露することで心室筋細胞に虚血状態をつくりだす。その後1時間通常の培養状態に戻すことで再灌流状態とした。細胞をトリパンブルー染色することで死亡細胞と正常細胞を区別し、生存率を割り出した。GLP-1を前投与したGLP-1群、吸入麻酔薬イソフルラン(1.0 minimum alveolar concentration [MAC])にて30分間APC刺激を与えたAPCによるプレコンディショニング群の生存率がコントロー

ル群に比較して高かった。

マウスを人工呼吸下に開胸、血行動態を測定しながら、GLP-1・APC(イソフルラン1.0 MAC30分間)刺激を行う。その後、心臓冠動脈を30分間閉塞し、2時間の再灌流を行った。再び冠動脈を閉塞、Evans Blueを注入し心臓を取り出した。心臓をスライスし、再染色後心筋梗塞サイズを測定すると両群の心筋梗塞サイズが、コントロール群(プレコンディショニング刺激を何も加えていない虚血再灌流のみのマウス)に比べ縮小していた。次に、グルコースを静注することで高血糖マウスモデルを作成し、上記の各群に対して*in vivo*マウス虚血再灌流実験を行い、心筋梗塞サイズを比較検討すると、コントロール群においては心筋梗塞サイズに変化はなかったが、GLP-1・APCのプレコンディショニングを行った群においては心筋保護作用が棄却された。

さらに、高血糖マウスモデルにおいてこれらの心筋保護作用がどのように影響を受けるかについて調査した。グルコースを静注することで高血糖マウスモデルを作成し、各群に対して*in vivo*マウス虚血再灌流実験を行い、心筋梗塞サイズを比較検討した。マウスを人工呼吸下に開胸、血行動態を測定しながら、GLP-1(30 ng/kg iv)・APC(1.0 MAC)刺激を行う。その後、心臓冠動脈を30分間閉塞し、2時間の再灌流を行う。再び冠動脈を閉塞、Evans Blueを注入し心臓を取り出す。心臓をスライスし、再染色後心筋梗塞サイズを測定する。これらを行った結果GLP-1やAPCの心筋保護作用が高血糖マウスにおいては棄却されることが明らかとなった。次に、高血糖マウスモデルに対し、インスリンを用いることで血糖値を下げた後、同様に実験を行うと、新保護作用が再び現れた。これらのことより、GLP-1やAPCの心筋保護作用は血糖に影響を受けることが明らかとなった。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 18 件)

Yoko Sakai, Yasuo M. Tsutsumi, Takuro Oyama, Chiaki Murakami, Nami Kakuta, and Katsuya Tanaka. Noninvasive continuous blood pressure monitoring by the ClearSight system during robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy. 査読有  
*J Med Invest* 65:69-73, 2018.  
[http://medical.med.tokushima-u.ac.jp/jmi/vol65/pdf/v65\\_n1-2\\_p069.pdf](http://medical.med.tokushima-u.ac.jp/jmi/vol65/pdf/v65_n1-2_p069.pdf)  
Takuro Oyama, Nami Kakuta, Naoji Mita, Shinji Kawahito, Katsuya Tanaka, and Yasuo M. Tsutsumi. Jelly-type carbohydrate supplement in healthy subjects suppresses the catabolism of adipose tissue and muscle protein and improves their satisfactions. 査読有

*Clin Nutr Exp* 19:1-11, 2018  
[https://www.clinicalnutritionexperimental.com/article/S2352-9393\(18\)30005-8/pdf](https://www.clinicalnutritionexperimental.com/article/S2352-9393(18)30005-8/pdf)  
Shiho Satomi, Nami Kakuta, Chiaki Murakami, Yoko Sakai, Katsuya Tanaka, Yasuo M. Tsutsumi. The efficacy of programmed intermittent epidural bolus for postoperative analgesia after open gynecological surgery: a randomized double-blind study. 査読有  
*Biomed Res Int* 2018:6297247, 2018  
<https://doi.org/10.1155/2018/6297247>  
Nami Kakuta, Yasuo M. Tsutsumi, Chiaki Murakami, Yoko Sakai, Takuro Oyama, Asuka Kasai, Katsuyoshi Kume, and Katsuya Tanaka. Effectiveness of using non-invasive continuous arterial pressure monitoring with ClearSight in hemodynamic monitoring during living renal transplantation in a recipient: a case report. 査読有  
*J Med Invest* 65:139-141, 2018.  
[http://medical.med.tokushima-u.ac.jp/jmi/vol65/pdf/v65\\_n1-2\\_p139.pdf](http://medical.med.tokushima-u.ac.jp/jmi/vol65/pdf/v65_n1-2_p139.pdf)  
Shiho Satomi, Asuka Kasai, Eisuke Hamaguchi, Yasuo M. Tsutsumi, and Katsuya Tanaka. Normothermic cardiopulmonary bypass in patient with Waldenström's macroglobulinemia and cryoglobulinemia: Case report. 査読有  
*A&A Case Reports* 9:162-163, 2017.  
DOI: 10.1213/XAA.0000000000000555.  
Naoji Mita, Shinji Kawahito, Tomohiro Soga, Kazumi Takaishi, Hiroshi Kitahata, Munehide Matsuhisa, Mitsuo Shimada, Hiroyuki Kinoshita, Yasuo M. Tsutsumi, and Katsuya Tanaka. Strict blood glucose control by an artificial endocrine pancreas during hepatectomy may prevent postoperative acute kidney injury. 査読有  
*J Artif Organs* 20:76-83, 2017.  
DOI: 10.1007/s10047-016-0925-6.  
Yasuo M. Tsutsumi, Takuro Oyama, Nami Kakuta, Yousuke T. Horikawa, Katsuyoshi Kume, Yoko Sakai, Rie Tsutsumi, and Katsuya Tanaka. Effect of oral carbohydrate with amino acid solution on serum oxidative/anti-oxidative status in healthy volunteers. 査読有  
*J Anesth* 31:472-475, 2017.  
DOI: 10.1007/s00540-017-2355-x.  
Chiaki Murakami, Nami Kakuta, Katsuyoshi Kume, Yoko Sakai, Asuka

Kasai, Takuro Oyama, Katsuya Tanaka, and Yasuo M. Tsutsumi. A comparison of fosaprepitant and ondansetron for preventing postoperative nausea and vomiting in moderate to high risk patients: a retrospective database analysis. 査読有  
*Biomed Res Int* 2017:5703528, 2017.  
DOI: 10.1155/2017/5703528.  
Hiroaki Kawano, Naohiro Ohshita, Kimiko Katome, Takako Kadota, Michiko Kinoshita, Yayoi Matsuoka, Yasuo M. Tsutsumi, Shinji Kawahito, Katsuya Tanaka, and Shuzo Oshita. Effects of a novel method of anesthesia combining propofol and volatile anesthesia on the incidence of postoperative nausea and vomiting in patients undergoing laparoscopic gynecological surgery. 査読有  
*Braz J Anesthesiol* 66: 12-18, 2016.  
DOI: 10.1016/j.bjane.2014.07.005.  
Michiko Kinoshita, Yasuo M. Tsutsumi, Kohei Fukuta, Asuka Kasai, and Katsuya Tanaka. Isoflurane-induced postconditioning via mitochondrial calcium-activated potassium channels. 査読有  
*J Med Invest* 63: 80-84, 2016.  
DOI: 10.2152/jmi.63.80.  
Mayu Sebe, Rie Tsutsumi, Sotaro Yamaguchi, Yousuke T. Horikawa, Nagakatsu Harada, Takuro Oyama, Nami Kakuta, Katsuya Tanaka, Yasuo M. Tsutsumi, Yutaka Nakaya, and Hiroshi Sakae. The synergistic effects of omega-3 fatty acids against 5-fluorouracil-induced mucosal impairment in mice. 査読有  
*BMC Nutr* 2:17(1-10), 2016.  
<https://bmcnutr.biomedcentral.com/tack/pdf/10.1186/s40795-016-0057-7>  
Takako Kadota, Nami Kakuta, Yousuke T. Horikawa, Rie Tsutsumi, Takuro Oyama, Katsuya Tanaka, and Yasuo M. Tsutsumi. Plasma substance P concentrations in patients undergoing general anesthesia: an objective marker associated with postoperative nausea and vomiting. 査読有  
*JA Clin Rep* 2:9(1-4), 2016.  
DOI: 10.1186/s40981-016-0034-9.  
Rie Tsutsumi, Nami Kakuta, Takako Kadota, Takuro Oyama, Katsuyoshi Kume, Eisuke Hamaguchi, Noriko Niki, Katsuya Tanaka, and Yasuo M. Tsutsumi. Effects of oral carbohydrate with amino acid solution on the metabolic status of patients in the preoperative period: a randomized, prospective

clinical trial. 査読有  
*J Anesth* 30:842-849, 2016.  
DOI: 10.1007/s00540-016-2217-y  
Eisuke Hamaguchi, Yasuo M. Tsutsumi,  
Katsuyoshi Kume, Yoko Sakai, Nami  
Kakuta, Yuta Uemura, Shinji Kawahito,  
and Katsuya Tanaka. General  
anesthesia of a Japanese infant with  
Barber-Say syndrome: a case report.  
査読有  
*JA Clin Rep* 2:11(1-4), 2016.  
DOI: 10.1186/s40981-016-0033-x  
Eisuke Hamaguchi, Katsuya Tanaka, Rie  
Tsutsumi, Yoko Sakai, Kohei Fukuta,  
Asuka Kasai, and Yasuo M. Tsutsumi.  
Exendin-4, glucagon-like peptide-1  
receptor agonist, enhances  
isoflurane-induced preconditioning  
against myocardial infarction via  
caveolins-3 expression. 査読有  
*Eur Rev Med Pharmacol Sci* 19:  
1285-1290, 2015.  
[https://www.europeanreview.org/wp/w  
p-content/uploads/1285-1290.pdf](https://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/1285-1290.pdf)  
Rie Tsutsumi, Yousuke T. Horikawa,  
Katsuyoshi Kume, Katsuya Tanaka,  
Asuka Kasai, Takako Kadota, and Yasuo  
M. Tsutsumi. Whey-protein based  
formulas with omega-3 fatty acids are  
protective in LPS mediated sepsis. 査  
読有  
*JPEN J Parenter Enteral Nutr* 39:  
552-561, 2015.  
DOI: 10.1177/0148607114520993.  
Tomohiro Soga, Katsuyoshi Kume, Nami  
Kakuta, Eisuke Hamaguchi, Rie  
Tsutsumi, Ryosuke Kawanishi, Kohei  
Fukuta, Katsuya Tanaka, and Yasuo M.  
Tsutsumi. Fosaprepitant versus  
ondansetron for the prevention of  
postoperative nausea and vomiting in  
patients who undergo gynecologic  
abdominal surgery with  
patient-controlled epidural  
analgesia: a prospective, randomized,  
double-blind study. 査読有  
*J Anesth* 29: 696-701, 2015.  
DOI: 10.1007/s00540-015-2006-z.  
Nami Kakuta, Katsuyoshi Kume, Eisuke  
Hamaguchi, Rie Tsutsumi, Naoji Mita,  
Katsuya Tanaka, and Yasuo M. Tsutsumi.  
The effects of intravenous  
fosaprepitant and ondansetron for the  
prevention of postoperative nausea  
and vomiting in patients who undergo  
lower limb surgery. -A prospective,  
randomized, double-blind study- 査  
読有  
*J Anesth* 29: 836-841, 2015.  
DOI: 10.1007/s00540-015-2054-4.

〔学会発表〕(計 10 件)

Asuka Kasai, Kohei Fukuta, Katsuya  
Tanaka, Nami Kakuta, and Yasuo M.  
Tsutsumi. The effect of  
intraoperative glucose load on  
metabolism in patients with diabetes  
mellitus. Abstract A3126. Poster  
presented at the American Society of  
Anesthesiologist Annual Meeting,  
Boston, Massachusetts, USA October 23,  
2017.

Kohei Fukuta, Asuka Kasai, Katsuya  
Tanaka, Yoko Sakai, and Yasuo M.  
Tsutsumi. The influence of glucose  
load on metabolism in elderly patients  
during surgery using  
remifentanyl-induced anesthesia.  
Abstract A3176. Poster presented at  
the American Society of  
Anesthesiologist Annual Meeting,  
Boston, Massachusetts, USA October 23,  
2017.

Takuro Oyama, Nami Kakuta, Asuka Kasai,  
Naoji Mita, Katsuyoshi Kume, Katsuya  
Tanaka, and Yasuo M. Tsutsumi. Effect  
of jelly type carbohydrate on  
metabolism and evaluation of its  
excretion in healthy subjects.  
Abstract A2308. Poster presented at  
the American Society of  
Anesthesiologist Annual Meeting,  
Boston, Massachusetts, USA, October  
22, 2017.

福田浩平、笠井飛鳥、酒井陽子、堤保夫、  
田中克哉 高齢者におけるレミフェン  
タニル麻酔と糖負荷が代謝に与える影  
響 第64回日本麻酔科学会 ポスター、  
P01-06-06 神戸国際会議場(兵庫県・  
神戸市) 6/8/2017

里見志帆、堤保夫、酒井陽子、箕田直治、  
笠井飛鳥、田中克哉 硬膜外間欠投与と  
硬膜外持続投与の開腹手術における術  
後鎮痛効果の比較 第4回日本区域麻酔  
学会 ポスター、P5E-04 ウィンクあい  
ち(愛知県・名古屋市) 4/15/2017

福田浩平、角田奈美、堤保夫、酒井陽子、  
田中克哉 覚醒下開頭術においてホス  
アプレピタントを使用した2症例 第  
36回日本臨床麻酔学会 ポスター、  
P1-PM-2-15、高知かるぼーと(高知県・  
高知市) 11/3/2016

堤保夫、香留希実子、笠井飛鳥、瀧口英  
佑、酒井陽子、田中克哉 侵襲時の代謝  
破綻と糖負荷の影響 第63回日本麻酔  
科学会 口演、Q02-6、福岡国際会議場  
(福岡県・福岡市) 5/26/2016

堤保夫、香留希実子、瀧口英佑、酒井陽  
子、北畑洋、田中克哉 イソフランによ  
る心筋保護作用は Sirt による Opa-1 制

御を介する 第 63 回日本麻酔科学会  
ポスター、P1-02-3、福岡国際会議場(福  
岡県・福岡市) 5/26/2016

瀧口英佑、堤保夫、久米克佳、酒井陽子、  
川人伸次、田中克哉 心室頻拍合併症妊  
娠の帝王切開術の麻酔経験 第 35 回臨  
床麻酔学会 ポスター、P1-11-6、パシ  
フィコ横浜(神奈川県・横浜市)  
10/21/2015

Hiroshi Kitahata, Yasuo Tsutsumi,  
Tomohiro Aoyama, Kazumi Takaishi,  
Shinji Kawahito, and Katsuya Tanaka.  
Role of sirtuins in cardioprotection  
by ischemic and anesthetic  
preconditioning. 7AP9-1, Poster  
presented at Euroanaesthesia 2015,  
Berlin, Germany, June 1, 2015.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

酒井 陽子 (SAKAI, Yoko)  
徳島大学・病院・特任准教授  
研究者番号：9 0 7 1 1 8 6 2

### (2) 研究分担者

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

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