

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：13401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15567

研究課題名(和文)揮発性麻酔薬の液滴張り合わせ法の確立と膜相互作用

研究課題名(英文) Establishment of the droplet lamination method of volatile anesthetic and membrane interaction on ion channel

研究代表者

松木 悠佳 (Matsuki, Yuka)

福井大学・学術研究院医学系部門・助教

研究者番号：10464083

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：脂質二重膜に揮発性麻酔薬を投与する実験方法を確立するには、その前段階として従来の方法に比べてサイズが約10分の1小さい液滴で脂質二重膜を作成することができた。特に、脂溶性分子は膜に溶け込ませることが難しく、この方法で初めて実験が可能となった。そのため脂溶性が高い揮発性麻酔薬はこの方法で実験を行うには最適であった。この二重膜に吹きかけ法によってクロロホルムや揮発性麻酔薬を投与する方法も確立できた。

研究成果の概要(英文)：To establish the method of administering a volatile anesthetic to a lipid bilayer membrane, we started to establish the contact bubble bilayer method (CBB method). Compared to the conventional method, the size of the droplet was decreased to one tenth in CBB method. In particular, lipophilic molecules are difficult to dissolve into membranes. It was the first time of dissolving lipophilic molecules into membranes. It was also possible to establish a method of spraying chloroform or a volatile anesthetic into membranes by CBB method.

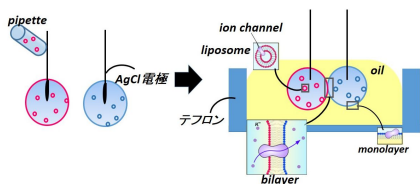
研究分野：医歯薬学

キーワード：CBB 揮発性麻酔薬

1. 研究開始当初の背景

これまで揮発性麻酔薬と膜 - チャネルとの相互作用を測定する方法は確立されておらず、その真偽を確かめることができなかった。オイル内で一重膜の液滴同士を張り合わせ脂質二重膜を作成し電流記録を行うプロトコールが報告され、すでに我々の研究室でも、この方法を用いたKチャネルの電流記録を行っている(図1)。最近になり、この方法を応用し空気中で液滴同士を張り合わせ脂質二重膜を作成し、チャネルの電流記録ができることが報告された。これを応用し、揮発性麻酔薬を直接チャネルに吹きかけ電流記録を行う。これは揮発性麻酔薬のチャネルに対する直接作用を測定する方法であり、これまで誰も試したことがない新しい試みであるためこの方法を確立させたい。

図1.液滴張り合わせ



2. 研究の目的

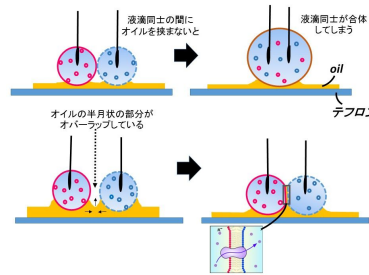
これまでほとんどなされてこなかったイオンチャネルと麻酔薬に対する直接作用を明らかにするために、液滴張り合わせ法という新しい実験系を立ち上げ、揮発性麻酔薬の実験を確立する。

3. 研究の方法

本研究は大きく分けて、(1)液滴張り合わせ法を用いた単一チャネル電流記録と解析、(2)揮発性麻酔薬を用いた液滴張り合わせ法の確立、(3)揮発性麻酔薬を用いた単一チャネル電流記録と解析といった3つを行った。液滴張り合わせ法は完全に精製したチャネル蛋白質を用いるため、他の分子が作用しないチャネル分子そのものの性質やチャネルへの麻酔薬の直接作用を見ることが

ができる。テフロン板の上に、オイル(ヘキサデカン)を垂らし、AgCl電極に3%アガロースを付着させ乾燥させる。そこに表面張力で垂らしたりボソーム溶液の液滴同士を顕微鏡で確認しながら、オイル上に降ろしていく。液滴同士を貼り合わせ脂質二重膜を作製する(図2)。

図2.液滴張り合わせ法



4. 研究成果

(1)液滴張り合わせ法を用いた単一チャネル電流記録と解析

当初、液滴張り合わせ法を試みた。AgCl電極表面をゲルでコーティングして、親水性にした。これに電解質溶液(KCl溶液)を添加し油相(デカンまたはヘキサデカン)に沈めた。しかしこの方法では油相中でうまく液滴ができなかった。そのため別の方法を試みた。油相中で液滴を吹き出し、液滴同士を近づけて張り合わせる方法である。これは、当初考えていた液滴張り合わせ法より液滴のサイズが約10分の1の小さい液滴ができた(図3)。そのため、膜面積を小さくでき、電気的バックグラウンドノイズを減少させることができた。さらに操作性も極めて優れていた。この脂質二重膜にKcsAカリウムチャネルを一個だけ挿入し、チャネル電流記録を測定した。これは何度も記録済みである。

図3.新しい脂質二重膜法の作成方法

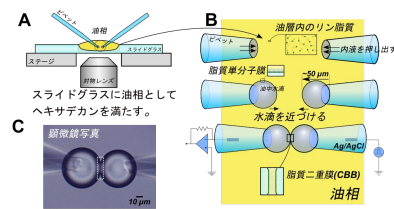


図4.CBB法

- ・ピペットに電解質溶液を満たす。
- ・先端を油相入れ内液を押し出し、バブルを作る。
- ・2つのバブルを接触させると脂質二重膜が作成される。

(2) 揮発性麻酔薬を用いた液滴張り合わせ法の確立

(3) 揮発性麻酔薬を用いた単一チャンネル電流記録と解析

この方法で、揮発性麻酔薬を投与するためには、油相から揮発性麻酔薬を投与する方法が容易であると考えた。まず、クロロホルムを用いて、クロロホルムの濃度を測定し、ヘキサデカンに溶解した。クロロホルム溶解ヘキサデカンを先ほどのバブルを吹き出したピペットより約5分の1から6分の1小さいピペットを作成し、その中にクロロホルム溶解ヘキサデカンを満たす。脂質二重膜を作成し、クロロホルム溶解ヘキサデカンを満たしたピペットを二重膜近傍まで持っていき、吹きかける。クロロホルムの濃度を変化させてチャンネル電流記録を行った。次に、揮発性麻酔薬であるセボフルランも同様に、ヘキサデカンに溶解して吹きかけを試みた。さらに濃度依存的にチャンネル電流記録を測定した。

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8件)

1. Y.Matsuki, M.Iwamoto, S.Oiki “Rectified proton permeation across a single-file water-chain in the channel pore” J.Physiol.Sci. 67 (2017)S85
2. K.Tsugita, Y.Matsuki, T.Murakami, M.Mizogami, K.Shigemi “Verification of the efficacy of alkalized local anesthetics in ultrasound-guided supraclavicular brachial plexus block” Anaesth Pain & Intensive Care 21, 301-305 (2017)
3. K.Mita, K.Tsugita, Y.Yasuda, Y.Matsuki, Y.Obata, Y.Matsuki, S.Kamisawa, K.Shigemi “A successfully treated case of cardiac arrest after caesarean section complicated by pheochromocytoma crisis and amniotic fluid embolism” J Anesth 31, 140-143

(2017)

4. Y.Matsuki, M.Iwamoto, K.Mita, K.Shigemi, S.Matsunaga, S.Oiki “Rectified proton grotthuss conduction across a long water-wire in the test nano-tube of the polytheonamide B channel” J. Am. Chem. Soc. 138, 4168-4177 (2016)
5. Y.Matsuki, K.Takakura, K.Shigemi “A case of successful treatment with vasopressin for severe acute pancreatitis in a melancholic patient administrated antipsychotic agents” Anaesth Pain & Intensive Care 20,71-73 (2016)
6. Y.Matsuki, Y.Matsuki, K.Shigemi “Successful treatment of septic shock with disseminated intravascular coagulation using combined polymyxin-B direct hemoperfusion and recombinant thrombomodulin therapy” Anaesth Pain & Intensive Care20,462-464 (2016)
7. Y.Matsuki, K.Takakura, K.Shigemi “General anesthesia and intraoperative opioids do not affect postoperative delirium in femoral neck surgery” Anaesth Pain & Intensive Care 19,372-375(2015)
8. Y.Matsuki, M.Iwamoto, S.Matsunaga, S.Oiki “Gaitng of the cytotoxic peptide polytheonamide B channel” J.Physiol.Sci. 65 (2015) S119

[学会発表](計19件)

1. Effects of an artificial lipid, dipalmitoyl sulfobetaine, on the function of ion channel, Yuka Matsuki, Masayuki Iwamoto, Tatsuo Aikawa, Shigetoshi Oiki, 第95回日本生理学会大会, 高松, 2018.03
2. 目標 BIS 値が得られるプロポフォル効果部位濃度 esTEC(estimated target-effect-site concentration)に基づくプロポフォル自動調節システムの使用経験, 松本悠佳, 長田 理, 奥野絢子, 神澤聖一, 佐上祐介, 佐藤倫祥, 次田佳代, 関久美子, 重見研司, 第24回日本

- 静脈麻酔学会, 下関, 2017.12
3. Minto モデルを用いたレミフェンタニル体内濃度の予測における理想体重に基づく投与の意義, 奥野絢子, 松木悠佳, 長田 理, 西尾太郎, 鈴木裕紀子, 中西侑子, 早淵光代, 重見研司, 第 24 回日本静脈麻酔学会, 下関, 2017.12
 4. シリンジポンプだけでロクロニウムを投与する際に適した薬液濃度の検討, 松木悠佳, 長田理, 重見研司, 第 35 回日本麻酔・集中治療テクノロジー学会, 札幌, 2017.08
 5. 神経障害痛患者におけるリドカイン軟膏とカプサイシン軟膏併用の効果, 松木悠佳, 溝上真樹, 塩浜恭子, 神澤聖一, 鈴木裕紀子, 西尾太郎, 奥野絢子, 重見研司, 日本ペインクリニック学会第 51 回大会, 岐阜, 2017.07
 6. 薬力学的指標 esTEC によるプロポフォール投与調節と BIS 値を指標とした麻酔科医による投与調節の比較, 松木悠佳, 長田理, 畔柳綾, 重見研司, 日本麻酔科学会第 64 回学術集会, 横浜, 2017.06
 7. 高血圧患者における脈圧変動(PPV)と 1 回拍出量変動(SVV)の関係, 鈴木裕紀子, 松木悠佳, 藤岡沙織, 西尾太郎, 重見研司, 日本麻酔科学会第 64 回学術集会, 横浜, 2017.06
 8. 胸腔鏡視下肺手術時の輸液製剤が血糖値に及ぼす影響, 神澤聖一, 松木悠佳, 佐上佑介, 高倉康, 重見研司, 日本麻酔科学会第 64 回学術集会, 横浜, 2017.06
 9. Rectified proton permeation across a single-file water-chain in the channel pore, Yuka Matsuki, Masayuki Iwamoto, and Shigetoshi Oiki, 第 94 回日本生理学会大会, 浜松, 2017.03
 10. 動脈圧波形による脈圧変動のトレンド表示の有用性, 藤岡沙織, 松木悠佳, 鈴木裕紀子, 西尾太郎, 関久美子, 早淵光代, 重見研司, 日本臨床麻酔学会第 36 回, 高知, 2016.11
 11. 全身麻酔中の人工呼吸による胸郭コンプライアンスのトレンド表示の有用性, 鈴木裕紀子, 松木悠佳, 西尾太郎, 神澤聖一, 次田佳代, 重見研司, 日本臨床麻酔学会第 36 回, 高知, 2016.11
 12. QT 延長症候群患者で発症したプリロカイン誘発性メトヘモグロビン血症の一例, 西尾太郎, 高倉康, 鈴木裕紀子, 藤岡沙織, 松木悠佳, 重見研司, 日本麻酔科学会東海・北陸支部第 14 回学術集会, 津, 2016.09
 13. ロクロニウムによるアナフィラキシーショックの一例, 鈴木裕紀子, 松木悠佳, 西尾太郎, 下弘一, 溝上真樹, 重見研司, 日本麻酔科学会東海・北陸支部第 14 回学術集会, 津, 2016.09
 14. 痔瘻癌術後の排尿時痛に不对神経ブロックとオピオイド減量で疼痛が軽減した一症例, 松木悠佳, 溝上真樹, 塩浜恭子, 重見研司, 日本ペインクリニック学会第 50 回大会, 横浜, 2016.07
 15. 全静脈麻酔中のオピオイド濃度とプロポフォール濃度の相互作用に及ぼす加齢の影響, 松木悠佳, 長田理, 畔柳綾, 神澤聖一, 関久美子, 重見研司, 日本麻酔科学会第 63 回学術集会, 福岡, 2016.06
 16. 妊娠中に特発性肺動脈性肺高血圧症が顕在化し救命できなかった 1 例, 松木悠佳, 佐上祐介, 小畑友里江, 齊藤律子, 藤林哲男, 重見研司, 第 43 回日本集中治療医学会学術集会, 神戸, 2016.02
 17. 重症急性膵炎に対して PMMA-CHDF を施行した 2 症例, 松木悠佳, 佐上祐介, 齊藤律子, 藤林哲男, 重見研司, 第 19 回北陸急性血液浄化療法談話会, 金沢, 2015.12
 18. 初期臨床研修医指導における麻酔支援システムの有用性, 松木悠佳, 長田 理, 神澤聖一, 佐上祐介, 重見研司, 日本臨床麻酔学会第 35 回大会, 横浜, 2015.10
 19. pH-dependent gating of the polytheonamide B channel, 松木悠佳, 岩本真幸, 松永茂樹, 老木成稔, 第 53 回日本生物物理学会年会, 金沢, 2015.9

〔産業財産権〕
出願状況(計 1 件)

名称：麻酔補助プログラム、麻酔補助装置、
麻酔補助システム及び麻酔補助方法
発明者：長田理、重見研司、松木悠佳
権利者：国立大学法人福井大学
種類：特許
番号：特願2017-138971号
取得年月日 2017.07
国内外の別：国内

〔その他〕
ホームページ等

松木悠佳「一次元水分子列を流れる水素イオンの整流性：ナノ試験管としてのイオンチャネル」日本生理学会雑誌 サイエンストピックス 78, 99 (2016)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松木悠佳 (Matsuki Yuka)
福井大学・学術研究院医学系部門・助教
研究者番号：10464083