

令和 元年 5 月 22 日現在

機関番号：16101

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2016～2018

課題番号：15KK0344

研究課題名（和文）吸入麻酔薬の心筋保護作用における細胞膜マイクロドメインとオートファジーの役割（国際共同研究強化）

研究課題名（英文）Isoflurane induces cardioprotection is dependent on caveolae and autophagy (Fostering Joint International Research)

研究代表者

堤 保夫 (TSUTSUMI, Yasuo)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・准教授

研究者番号：90523499

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,200,000円

渡航期間： 8ヶ月

研究成果の概要（和文）：心不全に対する研究は多く行われているが、申請者らは新たな発想のもと早くから細胞膜マイクロドメインの影響に注目し、その影響を明らかにしてきた。この成果を基に、本研究で細胞膜マイクロドメインを介する心肥大に及ぼす影響を明らかにした。特に、マウスの心肥大モデルを作成しカベオリン-3の過剰発言が心筋肥大を抑制することを明らかにした。さらに、その影響がオートファジーにも影響するかを考察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本では、ガンが死亡原因の1位であると言われているが、心血管障害に基づく死亡はガン以上になると推測される。また、我が国では超高齢化社会を迎えて加齢による心血管障害が急速に増加しており、その対策は患者自身のQOLや生命予後のみならず、医療経済面からも極めて重要な課題である。一方、心不全の病態を考えたときに心筋肥大は重要な過程であり、そのメカニズムについては未だ必ずしも明らかになっていない。そこで本国際共同研究は、心筋肥大に対し細胞膜マイクロドメイン及がどのように関与するかを明らかにし、心不全の病態解明に寄与することを研究目的とする。

研究成果の概要（英文）：Sarcolemmal invaginations, microdomains, localize molecules involved in cardiac protection. However, the mechanisms for this protection are poorly understood. In response to chronic stress, the heart undergoes hypertrophy that can progress to adverse remodeling and heart failure. The subcellular organization of signaling components in highly ordered lipid microdomains within the plasma membrane helps provide spatial and temporal regulation of signaling. In the current study, we show that caveolin-3 over-expression attenuates cardiac hypertrophy and would be involved in autophagy expression and signaling.

研究分野：麻酔科学

キーワード：心肥大 オートファジー 細胞膜マイクロドメイン

1. 研究開始当初の背景

日本では、ガンが死亡原因の1位であると言われているが、脳卒中・心筋梗塞・心不全・腎不全など心血管障害に基づく死亡はガン以上になると推測される。すでに欧米各国では心血管死亡が非常に多く、また、我が国では超高齢化社会を迎えて加齢による心血管障害が急速に増加しており、その対策は患者自身のQOLや生命予後のみならず、医療経済面からも極めて重要な課題である。

2. 研究の目的

申請者はカリフォルニア大学サンディエゴ校 (UCSD) 麻酔科学講座の Roth 教授・Patel 教授らと共に虚血再灌流障害に対する心筋保護効果のメカニズムについて研究を行ってきた。そこで、申請者等は新たな発想のもと、早くから細胞膜マイクロドメインの心筋保護作用に及ぼす影響を明らかにしてきた (FASEB J 2007;21: 1565-74, Circulation 2008;118: 1979-88)。これらは、細胞膜マイクロドメインが虚血再灌流障害に対する心筋保護作用の起点となることを、国内外を含めて初めて報告したものであり、彼等の研究室はこの分野におけるトップレベルの海外研究機関のひとつとなっている。

一方、心不全の病態を考えたときに心筋肥大は重要な過程であり、そのメカニズムについては未だ必ずしも明らかになっていない。そこで本国際共同研究は、心筋肥大に対し細胞膜マイクロドメイン及びオートファジーの誘導がどのように関与するかを明らかにし、心不全の病態解明に寄与することを研究目的とする。

3. 研究の方法

マウス in vivo 心肥大モデルを作成し、生存率曲線、心機能評価を行う。カベオリン-3 過剰発現マウス・ノックアウトマウス、オートファジー誘導群・抑制群、各々の組み合わせ群においても同様の実験を行い、心肥大に対するカベオリン・オートファジーの影響を明らかにする。

4. 研究成果

マウスを麻酔下に大動脈弓を結紮狭窄する (TAC: transverse aortic constriction) ことで術後、約 2 週間で心肥大が認められ、4 週間後には重度の心肥大、線維化、肺水腫モデルを作成することができる。マウスの摘出心を組織固定し、電子顕微鏡を使用してその細胞表面を観察、単位表面積あたりのカベオラ数をコントロール群と比較評価した。さらに、カベオリン-3 の活性をイムノプロットング法にて確認した。同様にオートファジーの誘導を単位表面積あたりのオートファゴソームを電子顕微鏡にて観察、アッセイキットにて検出し比較検討した。また、関連タンパクについてイムノプロットング法にて比較検討した (LC3-I/LC3-II, Beclin1 など)。さらに、Kaplan-Meier 曲線による生存率の調査、TAC 施行 4 週間後マウスの心エコー・心臓カテーテルによる心機能評価を行った。コントロール群、カベオリン-3 過剰発現群、カベオリン-3 ノックアウト群、ラパマイシンや 3-メチルアデニンを使ったオートファジー誘導群・抑制群においてにおいて比較検討した。

その結果過剰発現によって心肥大が抑制されることが明らかとなった。また、オートファジーに心肥大が関与している可能性は明らかにはならなかったが、今後の考察が必要と思われた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 14 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. Journal of Medical Investigation 65:69-73, 2018. 査読有
DOI: 10.2152/jmi.65.69.

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. Biomed Research International 2018:6297247, 2018. 査読有
DOI: 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. Journal of Medical Investigation 65:139-141, 2018. 査読有
DOI: 10.2152/jmi.65.139.

里見志帆、堤保夫、心筋保護作用と神経体液性因子、循環制御 39:162-164, 2018. 査読有
<https://doi.org/10.11312/ccm.39.162>

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. *Journal of Artificial Organs* 20:76-83, 2017. 査読有
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. *Journal of Anesthesia* 31:472-475, 2017. 査読有
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. *Biomed Research International* 2017:5703528, 2017. 査読有
DOI: 10.1155/2017/5703528.

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. *A&A Case Reports* 9:162-163, 2017. 査読有
DOI: 10.1213/XAA.0000000000000555.

Michiko Kinoshita, Yasuo M. Tsutsumi, Kohei Fukuta, Asuka Kasai, and Katsuya Tanaka. Isoflurane-induced postconditioning via mitochondrial calcium-activated potassium channels. *Journal of Medical Investigation* 63: 80-84, 2016. 査読有
DOI: 10.2152/jmi.63.80.

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. *Journal of Anesthesia* 30:842-849, 2016. 査読有
DOI:10.1007/s00540-016-2217-y

Naoji Mita, Shinji Kawahito, Tomohiro Soga, Toshiko Katayama, Narutomo Wakamatsu, Tomiya Kawahara, Nami Kakuta, Eisuke Hamaguchi, Yasuo M. Tsutsumi, Katsuya Tanaka, Kazumi Takaishi, and Hiroshi Kitahata. Anesthetic management of a patient with unruptured sinus of Valsalva aneurysm with right ventricular outflow tract obstruction. *Circulation Control* 37:195-198, 2016. 査読有
<https://doi.org/10.11312/ccm.37.195>

田中克哉、堤保夫、糖代謝：侵襲時の代謝と血糖制御、麻酔、65:495-502, 2016 査読有
http://mol.medicalonline.jp/library/journal/download?GoodsID=ad3msuie/2016/006505/009&name=0495-0502j&UserID=150.59.246.248&base=jamas_pdf

堤理恵、大藤純、福永佳容子、筑後桃子、瀬部真由、井内茉莉奈、堤保夫、西村匡司、阪上浩、重症患者における体組成評価の有用性とその限界、日本静脈栄養学会雑誌 31:803-806, 2016 査読有
<https://doi.org/10.11244/jspen.31.803>

川人伸次、曾我朋宏、箕田直治、堤保夫、田中克哉、高石和美、北畑洋、木下浩之 カリウムチャンネルと循環、循環制御、37:181-184, 2016 査読有
<https://doi.org/10.11312/ccm.37.181>

〔学会発表〕(計 15 件)

堤保夫 レニン-アンジオテンシンシステムを介した心筋保護作用 第39回日本循環制御医学会総会、2018

笠井飛鳥、福田浩平、角田奈美、堤保夫、田中克哉 糖尿病患者におけるレミフェ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、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、2017

堤保夫、田中克哉 心筋の虚血再灌流におけるシグナル伝達と細胞機能 第64回日本麻酔科学会、2017

堤保夫、香留希実子、笠井飛鳥、濱口英佑、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、2016

堤保夫、香留希実子、濱口英佑、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、2016

高石和美、川人伸次、青山智祐、尾上真奈美、大塚良、江口覚、富岡重正、箕田直治、曾我朋宏、堤保夫、木下浩之、北畑洋 術前12誘導心電図におけるJ波出現と周術期の経過について 第37回日本循環制御医学会、2016

曾我朋宏、川人伸次、箕田直治、里見志帆、堤保夫、高石和美、北畑洋、木下

浩之、田中克哉 心室頻拍合併妊婦に対する脊髄くも膜下硬膜外併用鎮痛法 (CSEA) による無痛分娩の1症例 第37回日本循環制御医学会、2016

箕田直治、張雄紀、里見志帆、曾我朋宏、片山俊子、堤保夫、川人伸次、木下浩之、田中克哉、高石和美、北畑洋 膝全摘患者における術後1週間の皮下間質液中グルコース濃度変動 第37回日本循環制御医学会、2016

瀧口英佑、福田浩平、久米克佳、堤保夫、田中克哉 腹部の局所混合血酸素飽和度モニタリング下に周術期管理を行った一例 第53回日本麻酔科学会中国・四国支部学術集会、2016

里見志帆、東島祥代、笠井飛鳥、角田奈美、堤保夫、田中克哉 クリオグロブリン血症を合併したマクログロブリン血症患者における開心術の麻酔経験 第53回日本麻酔科学会中国・四国支部学術集会、2016

田中克哉、瀧口英佑、堤保夫 AS患者の非心臓手術の麻酔 第63回日本麻酔科学会、2016

川人伸次、曾我朋宏、箕田直治、堤保夫、田中克哉、高石和美、北畑洋、木下浩之 カリウムチャンネル循環 第37回日本循環制御医学会、2016

Kei Muraoka, Myonri Kan, Ryosuke Kawanishi, Shiho Satomi, Yasuo M. Tsutsumi, and Katsuya Tanaka. Risk factors associated with hoarseness and glottis edema after tracheal intubation. Poster presented at the American Society of Anesthesiologist Annual Meeting, 2016.

Shiho Satomi, Shinji Kawahito, Tomohiro Soga, Naoji Mita, Eisuke Hamaguchi, Kazumi Takaishi, Hiroshi Kitahata, Yasuo M. Tsutsumi, and Katsuya Tanaka. Accuracy and reliability of continuous blood glucose monitoring during pediatric cardiopulmonary bypass. Poster presented at the American Society of Anesthesiologist Annual Meeting, 2016.

〔図書〕(計 3 件)

堤保夫、角田奈美、田中克哉、心臓麻酔 臨床実践ガイド、総合医学社 2018、120-128 および 174-188

堤保夫、田中克哉、文光堂、麻酔偶発症 AtoZ、2017、482-483 および 496

堤保夫、川西良典、田中克哉、ライフメディコム、臨床麻酔実践シリーズ 8: デスフルランの上手な使い方、2016、106-110 および 152-154

〔その他〕

ホームページ等

<http://tokudaimasui.jp/>

6 . 研究組織

研究協力者

〔主たる渡航先の主たる海外共同研究者〕

研究協力者氏名: David M. Roth

ローマ字氏名: David M. Roth

所属研究機関名: カリフォルニア大学サンディエゴ校

部局名: 麻酔科

職名: 教授

〔その他の研究協力者〕

研究協力者氏名: 田中 克哉

ローマ字氏名: (TANAKA, Katsuya)

所属研究機関名: 徳島大学

部局名: 大学院医歯薬学研究部 (医学系)

職名: 教授

研究者番号 (8桁): 30263841

研究協力者氏名: 酒井 陽子

ローマ字氏名: (SAKAI, Yoko)

所属研究機関名: 徳島大学

部局名: 病院

職名: 特任准教授

研究者番号 (8桁): 90711862

研究協力者氏名: 堤 理恵

ローマ字氏名：(TSUTSUMI, Rie)
所属研究機関名：徳島大学
部局名：大学院医歯薬学研究部（医学系）
職名：講師
研究者番号（8桁）：80510172

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。