

令和元年5月22日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10940

研究課題名(和文)細胞膜マイクロドメインを介する心筋保護作用に高血糖が及ぼす影響

研究課題名(英文) Cardiac protection against ischemia-reperfusion injury under hyperglycemia: role of microdomains

研究代表者

堤 保夫 (TSUTSUMI, Yasuo)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・准教授

研究者番号：90523499

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)：虚血性心疾患は、近年の食生活の欧米化へのシフトとともに増加傾向にある。申請者らの研究グループは以前より細胞膜マイクロドメインが心筋保護に重要な役割を演じていることを報告してきた。特に吸入麻酔薬の心筋保護作用について多く報告してきたが、本研究は、さらにこれを発展させることで、高血糖状態において吸入麻酔薬イソフルランの心筋保護作用がどのように細胞膜マイクロドメインと関連するかを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心筋保護効果についての研究は多く報告されているが、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。この成果をもとに、本研究で細胞膜マイクロドメインを介する吸入麻酔薬の心筋保護作用において高血糖が及ぼす影響を明らかにした。また、現在国内で700万人、世界では3億8千万人を超える糖尿病患者が存在しており、今後も増加することが予想されている。糖尿病は生活習慣病、心血管疾患とも関連が深く、今後増加するであろう糖尿病周術期患者においてこのメカニズムを明らかにすることは、臨床的にも極めて重要であると思われる。

研究成果の概要(英文)：Cardiovascular diseases are significantly increased in patients with metabolic syndrome and type 2 diabetes. Sarcolemmal invaginations, microdomains, localize molecules involved in cardiac protection. However, the mechanisms for this protection are poorly understood. We tested the hypothesis that microdomains are essential for volatile anesthetic, isoflurane, induced cardiac protection in the diabetic heart and concluded that microdomains are critical for isoflurane induced protection of the heart from ischemia-reperfusion injury.

研究分野：麻酔科学

キーワード：吸入麻酔薬 虚血再灌流実験 細胞膜マイクロドメイン プレコンディショニング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病患者や高血糖状態は虚血性心疾患に対し悪影響を及ぼすことが知られている。また、吸入麻酔薬であるイソフルランは心筋保護作用を有することが知られており、申請者らの研究グループは以前より細胞膜マイクロドメインが心筋保護作用に重要な役割を演じていることを報告してきた。しかしながら、この作用が高血糖状態においてどのように変化するか、特に細胞膜マイクロドメインの影響については未だ知られていない。

2. 研究の目的

申請者らは、細胞膜マイクロドメインを介する吸入麻酔薬の心筋保護作用に高血糖がどのように作用するかを明らかにするため以下の仮説を立てた。高血糖モデルにおいて吸入麻酔薬の心筋保護作用が抑制される。また、この抑制作用に細胞膜マイクロドメインが関与している。これらの仮説を明らかにすることによって、研究期間内に高血糖時の細胞膜マイクロドメインと吸入麻酔薬の心筋保護作用における関連性を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) マウスの in vivo 虚血再灌流実験モデルを用いて、対照群・吸入麻酔群において心筋梗塞サイズを測定比較する。

(2) (1)と同様の実験を高血糖モデルマウスを用いて行い心筋梗塞サイズを測定する。

(3) 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吸入麻酔薬によりどのように変化するかを明らかにする。

(4) (3)と同様の実験を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。

(5) 各群のマウスの摘出心に対し、細胞膜マイクロドメイン(カベオリン-3)の活性をイムノプロットング法にて確認する。加えて高血糖状態の心筋に対しカベオリン-3の活性を調べる。

4. 研究成果

(1) マウスを人工呼吸下に開胸、血行動態を測定しながら、心臓冠動脈を30分間閉塞し、2時間の再灌流を行った(対照群)。心臓を取り出し、スライスし、再染色後心筋梗塞サイズを測定した。虚血再灌流前に吸入麻酔薬イソフルラン(1.0 MAC)にて30分間吸入麻酔薬イソフルラン刺激を与えた場合、心筋保護作用が認められた(吸入麻酔群)。

(2) マウス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、心筋梗塞サイズを比較検討した(高血糖対照群・高血糖吸入麻酔群)。その結果、高血糖によって吸入麻酔薬の心筋保護作用は消失した。また、(1)および(2)においては、心筋梗塞サイズの評価を梗塞域の測定のみならず、心筋のダメージを定量的に示す血漿トロポニン-I濃度も測定し、梗塞サイズの結果確認をおこない、同様の結果が得られた。

(3) 摘出心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ンを用いてディッシュに接着させた。In vitro 遊離心室筋細胞を用いた低酸素実験は、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%N₂, 5%CO₂)に暴露することで心室筋細胞に虚血状態をつくりだした。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。吸入麻酔群では、イソフルラン 1.0MACにて30分間刺激を与えることで、生存率が対照群に比べ上昇し、吸入麻酔薬の心筋保護作用が明らかになった。

(4) (3)と同様の実験を高グルコース濃度培養液に一日インキュベートした心室筋細胞において行った場合には細胞生存率は改善せず、吸入麻酔薬の心筋保護作用が棄却された。

(5) 各群のマウスの摘出心に対し、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。その結果イソフルランによってカベオリン-3のタンパク活性が上昇することが明らかとなった。加えて、高血糖状態の心筋に対しイムノプロットング法にてカベオリン-3の活性を調べてみると、タンパク活性を確認することができなかった。これらのことより、高血糖状態における吸入麻酔薬の心筋保護作用と細胞膜マイクロドメインとの関係に相互作用がある可能性が示唆された。

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-アンギ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、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、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、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、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、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、片山俊子、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

(1)研究分担者

研究分担者氏名：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

研究分担者氏名：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

研究分担者氏名: 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。