

令和元年5月27日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16735

研究課題名(和文) 吸入麻酔薬の心筋保護作用がミトコンドリアダイナミクスに与える影響

研究課題名(英文) Anesthetic preconditioning against ischemia-reperfusion injury on mitochondrial dynamics

研究代表者

笠井 飛鳥 (KASAI, Asuka)

徳島大学・病院・助教

研究者番号：90756892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ミトコンドリア機能の調節が心筋保護作用に関与していることが明らかになってきた。しかしながら、プレコンディショニング様心筋保護作用メカニズムの全容は明らかではなく、特に、ミトコンドリア機能が吸入麻酔薬のプレコンディショニング様心筋保護作用(APC)に与える影響については未だ分かっていない。

本研究は吸入麻酔薬のプレコンディショニング作用(心筋保護)がミトコンドリアダイナミクスに与える影響について明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、心血管リスクを有する患者の周術期管理において吸入麻酔薬が有効であることが多くのメタアナリシスによって示されつつある。しかしながら、APCによる心筋保護作用とミトコンドリアダイナミクスとを関連付けた報告は、国内外を含め知る限りにおいて存在しない。そのため、ミトコンドリアダイナミクスとAPC心筋保護作用のメカニズムの関係を明らかにすることは、その根本的解明のみならず、心筋保護に対するこの部分をターゲットとした新しい治療法の確立および治療薬の開発において重要な課題であると思われる。

研究成果の概要(英文)：Mitochondrial dynamics in cardiomyocytes are emerging as fundamental biological processes important for controlling not only mitochondrial shape, but also function, which can play a key role in modulating cell survival. However, the full contribution of mitochondrial dynamics to cardiac physiology and function remains poorly understood. In the present study, we examined the cardioprotective efficacy of volatile anesthetic, isoflurane, treatment and improvement of mitochondrial function in the setting of ischemia/reperfusion.

研究分野：麻酔科学

キーワード：吸入麻酔薬 ミトコンドリア 心筋保護作用 プレコンディショニング

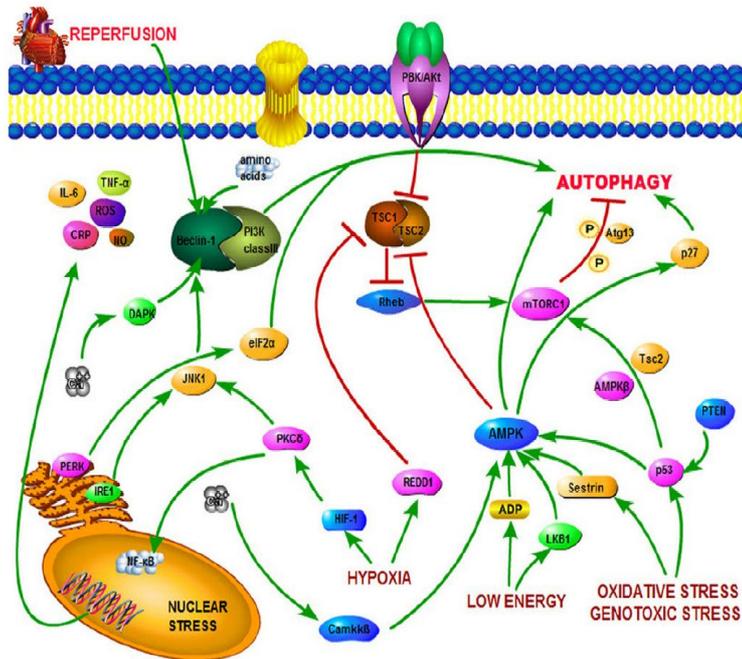
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

虚血性心疾患は欧米において死因の第一位であり、本邦においても食生活の欧米化の影響で年々その発生割合を増加させている。近年、麻酔管理上虚血性心疾患のリスクを有する患者に対しては、周術期新合併症が患者の予後にとって大きな問題となっており、患者のQOLの観点からもその予防と治療は重要である。

1986年、短時間の虚血再灌流がその後の長時間の虚血に対する心筋梗塞サイズを減少させるという報告がなされた(Murry CE et al., Circulation 74: 1124-1136, 1986)。短期虚血によるプレコンディショニング(IPC)と呼ばれ、臨床的に有用性の極めて高い発見であった。しかしながら、IPC作用のメカニズムなど全容は未だ明らかではない。

近年、吸入麻酔薬、オピオイドやアデノシンなどIPC様作用をあらわす様々な薬物が報告されており注目を浴びてきた。これらは、IPCのメカニズムと類似した部分が多く、心筋保護作用に対して共通の経路を有するものと考えられている。申請者も吸入麻酔薬の前投与によるプレコンディショニング(APC)心筋保護作用による心筋保護作用を報告しており、そのメカニズムについても明らかにしてきた(Cardiovasc Diabetol 13: 132[1-10], 2014, Euro Rev Med Pharmacol Sci 19: 1285-1290, 2015)。



### 虚血再灌流に対する心筋保護のメカニズム

Thapalia et al. *Int J Clin Exp Pathol* 7:8322-41, 2014

### 2. 研究の目的

近年、ミトコンドリア機能の調節がIPC心筋保護作用に関与していることが明らかになってきた(Ong SB et al. Circulation 121: 2012-2022, 2010)。しかしながら、プレコンディショニング様心筋保護作用メカニズムの全容は明らかではなく、特に、ミトコンドリア機能がAPC心筋保護作用に与える影響については未だ分かっていない。

そこで本研究は、イソフルランのAPC心筋保護作用に対し、ミトコンドリアダイナミクスが与える影響を明らかにすることで、プレコンディショニング経路の解明に寄与することを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) 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イソフルランにより低下することを明らかにする。

(2) APC作用がミトコンドリアダイナミクスを含むミトコンドリア機能に与える影響について調べる。

ミトコンドリアの酸素消費速度(Oxygen consumption)、膜電位(Membrane potential)、融合タンパク・分裂タンパク、アコニターゼ活性(Aconitase activity)の変化を明らかにする。また、膜透過性遷移孔アッセイ(mitochondrial permeability transition pore assay)を行う。

(3) ミトコンドリア融合に関与するOpa-1の影響を明らかにするため、Opa-1をノックダウンした細胞を用いて上記実験を行う。

### 4. 研究成果

(1) ラットの摘出心灌流、得られた遊離心室筋細胞をディッシュに接着させた。通常培養液を「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する。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。吸入麻酔薬の前投与をおこなったAPC群は吸入麻酔薬イソフルランにて30分間APC刺激を与えることで作成した。生存率をAPC群と対照群とで比較検討することで、APCの心筋保護作用が明らかとなった。

(2) ミトコンドリアの酸素消費速度は細胞外フラックスアナライザーを用いて測定を行った。ミトコンドリア膜電位はJC-1 assayにて蛍光検出し、ミトコンドリア染色色素、光褪色後蛍光回復法を用いて各群のミトコンドリアダイナミクス(ミトコンドリアの分裂と融合)を明らかにし

た。また、ミトコンドリア内でATP合成に関与しているアコニターゼ活性の変化を明らかにした。さらに、膜透過性遷移孔アッセイを行った。これらにより、APCによる心筋保護作用のミトコンドリアに与える影響を明らかにしてきた。

(3)ミトコンドリア融合に関与するOpa-1の影響を明らかにするため、Opa-1 siRNAを電気穿孔法にて細胞に注入、トランスフェクションさせた細胞を用い、APC群の心筋保護作用が棄却するかを調べた。その結果Opa-1をロックダウンさせた細胞においては、心筋保護作用が棄却したことから、吸入麻酔薬の心筋保護作用、プレコンディショニングにおいてOpa-1が重要な役割を演じていることが明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 3 件)

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 Investion* 65:139-141, 2018. 査読有

DOI: 10.2152/jmi.65.139.

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.

### 〔学会発表〕(計 11 件)

坂東悠太郎、曾我朋宏、笠井飛鳥、堤保夫、川人伸次、田中克哉 帝王切開術後に遷延する背部痛の治療に難渋した症例 第28回中国四国ペインクリニック学会、2018

箕田直治、川人伸次、新田一仁、曾我朋宏、笠井飛鳥、片山俊子、高田香、保岡宏彰、堤保夫、田中克哉 肋間神経パルス高周波法が有効であった開胸術後痛の1症例 第28回中国四国ペインクリニック学会、2018

笠井飛鳥、曾我朋宏、保岡宏彰、堤保夫、川人伸次、田中克哉 Burkitt リンパ腫により症候性三叉神経痛をきたした1例 第28回中国四国ペインクリニック学会、2018

里見志保、川人伸次、新田一仁、曾我朋宏、笠井飛鳥、片山俊子、高田香、保岡宏彰、堤保夫、田中克哉 カルバマゼピン継続困難な高齢三叉神経痛患者の治療について 第28回中国四国ペインクリニック学会、2018

村上千晶、曾我朋宏、笠井飛鳥、堤保夫、川人伸次、田中克哉 難治性吃逆を認めた右舌咽神経の1症例 第28回中国四国ペインクリニック学会、2018

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、2017

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

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. Poster presented at the American Society of Anesthesiologist Annual Meeting, 2017.

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. Poster presented at the American Society of Anesthesiologist Annual Meeting, 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 remifentanil-induced anesthesia. Poster presented at the American Society of Anesthesiologist Annual Meeting, 2017.

### 〔図書〕(計 1 件)

笠井飛鳥「第2章 体表手術 セクション2 乳腺全摘出術、セクション3 乳腺部分切除」『術式対応“わがまま”術後鎮痛マニュアル』監修 山影道明、編集 新山幸俊

〔その他〕

ホームページ等

<http://tokudaimasui.jp/>

## 6 . 研究組織

### (1)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 保夫

ローマ字氏名：(TSUTSUMI, Yasuo)

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：准教授

研究者番号（8桁）：90523499

研究協力者氏名：角田 奈美

ローマ字氏名：(KAKUTA, Nami)

所属研究機関名：徳島大学

部局名：病院

職名：講師

研究者番号（8桁）：00622606

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。