

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08814

研究課題名(和文) 吸入麻酔薬のTRPCチャンネル抑制効果を基軸にした心筋保護機構の解明

研究課題名(英文) Effects of TRPC channel suppressed by inhaled anesthetics on myocardial protection

研究代表者

北川 裕利 (Hirotohi, Kitagawa)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：50252391

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：麻酔下ラット冠動脈閉塞開放による虚血再灌流傷害は吸入麻酔薬により抑制された。この保護作用のメカニズムとして我々の今までのin vitroでの実験結果をもとにTRPCチャンネルが関与していると仮定し、そのブロッカーを前処置して同様の実験を行い、その抑制効果を観察した。また、この効果はTAC手術による肥大大心筋ラットにおいても、吸入麻酔薬とTRPC channel ブロッカーのいずれも抑制効果が認められた。また、心筋残存バイアビリティも吸入麻酔薬で温存されたことから、TRPCチャンネルを介した心筋残存バイアビリティの保持効果を併せ持つ可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

吸入麻酔薬が心筋虚血による細胞傷害の抑制効果を有すること、その機序としてTRPCチャンネル(カルシウムチャンネルの一種)が関与していることをラット心臓において検証した。この結果は全身麻酔時に使用する吸入麻酔薬が狭心症などの虚血性疾患を有する患者においてより安全な麻酔医療を提供できる可能性を示唆する。さらに、その機序を詳細に探索することで心保護効果をさらに増強する麻酔法が開発できる。

研究成果の概要(英文)： We monitored dialysate myoglobin in the ischemic region of anesthetized rat during ischemia, using cardiac microdialysis technique. In the vehicle, dialysate myoglobin levels increased during ischemia, which were suppressed by Sevoflurane and TRPC channel blocker (2-APB, SKF96365). In hypertrophied heart rats produced by transverse aortic constriction, the dialysate myoglobin levels also increased during ischemia. Sevoflurane and TRPC channel blocker also reduced these increases in dialysate myoglobin levels during ischemia. The results suggested that TRPC channels plays a significant role in cardiac protection during ischemia. Furthermore, in two hours after ischemia, the dialysate myoglobin elevation evoked by the desipramine (cell injury-induced drug), as an index of cardiac viability, were decreased with sevoflurane. It might preserved in vivo myocardial viability against ischemia. Further study is required to define the relationship between variability and TRPC channels.

研究分野：周術期医学

キーワード：マイクロダイアリシス TRPC ミオグロビン カルシウムチャンネル バイアビリティ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々はマウス心室筋単離細胞において Ca^{2+} パラドックス (Ca^{2+} フリーにして再び Ca^{2+} を加える処置により細胞内 Ca^{2+} が上昇し、細胞膜が破壊される)現象に transient receptor potential canonical (TRPC) チャンネルが関与していることを報告した (Brit J Pharma, 2010)。また、その TRPC チャンネルはセボフルランで制御されることも証明した (Anesthesiology, 2011)。一方、in vivo 心筋においても TRPC チャンネルブロッカー前処置により虚血再灌流傷害が抑制された。こうした結果は吸入麻酔薬による TRPC チャンネル抑制を介した心保護効果である可能性期待できる。加えて既知の細胞内 Ca^{2+} 濃度調節に係るチャンネル・ポンプ・担体の修飾による虚血再灌流傷害抑制効果との関係を in vivo ラットで探索し、臨床へのトランスレーショナルリサーチの足がかりとしたい。

2. 研究の目的

本研究では In vivo ラットにおける吸入麻酔薬による虚血再灌流傷害抑制効果に TRPC チャンネルが関わっているか。また、虚血再灌流時に細胞内 Ca^{2+} 上昇を引き起こす Ca^{2+} チャンネル、イオンポンプ、担体の関わりはあるか？について明らかにする。

また、in vivo における細胞傷害の指標として、従前の心筋逸脱タンパク濃度応答に加えて、残存心筋バイアビリティやアポトーシス傷害の指標 (チトクローム C 等) についても計測し、比較検証をおこなう。最終的には吸入麻酔薬による Ca チャンネルを介した心保護効果戦略を in vivo ラットで展開したい。

3. 研究の方法

心臓マイクロダイアリス法を用いて検討した。ネブタール麻酔下ラットの左室心筋にマイクロダイアリスファイバーを植え込み、一方よりリンゲル液で灌流し、他方より透析液を回収して各種マーカー濃度を測定し、心筋間質濃度応答の指標とする。

ミオグロビンの測定

モノクローナル抗体による抗原抗体反応 (サンドイッチ法) と毛細管現象を利用した免疫クロマトグラフィー法を併用使用したロッシュ社製ミオグロビン測定キット (カルディアックリーダー®、ロッシュ・ダイアグノスティック社製、スイス) にて測定。

心肥大 (transverse aortic constriction : TAC) ラットの作成

大動脈弓を結紮することで大動脈における左室内を高圧にする。重度な心肥大が認められた術4週以後のラットを選択して、実験を行う。

残存心筋バイアビリティの測定

心筋内に植え込んだマイクロダイアリスファイバーより細胞傷害を誘発する薬剤 (高濃度デシピラミン) を投与した際の心筋透析液ミオグロビン濃度を測定し、残存心筋バイアビリティの指標とする。

以下、実験プロトコールを示す。

1. in vivo ラット心筋における冠動脈閉塞解放における心筋透析液中のミオグロビン濃度応答を測定する。その結果を vehicle 群として以下の薬剤を前処置した群と比較する。

a. 吸入麻酔薬 (セボフルラン) b. TRPC チャンネルブロッカー、c. 吸入麻酔薬 + TRPC チャンネルブロッカー

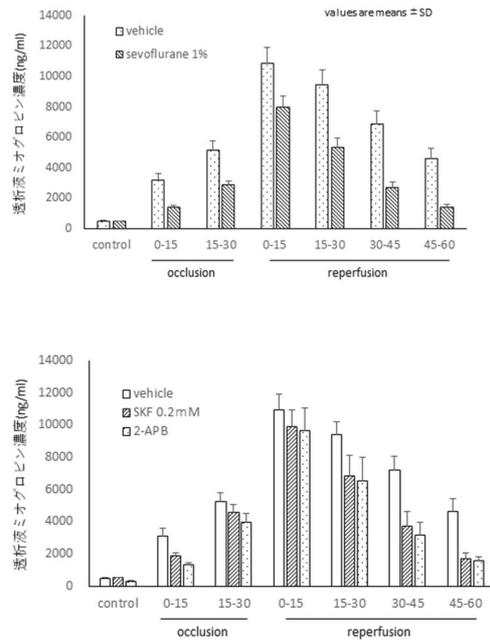
2. 心肥大ラット心筋に対して冠動脈閉塞解放における心筋透析液ミオグロビン濃度応答を測定し、吸入麻酔薬投与時の応答と比較する。

3. ラット心筋において冠動脈閉塞解放後の心筋残存バイアビリティを測定し、吸入麻酔薬の有無で比較する。

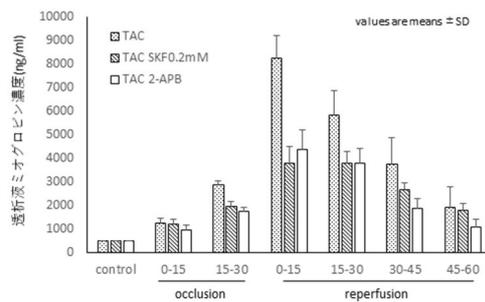
4. 研究成果

1. ラット心筋での心臓マイクロダイアリス法において冠動脈閉塞時に心筋透析液ミオグロビン濃度は上昇した。また、再灌流によりさらに急峻に上昇した。

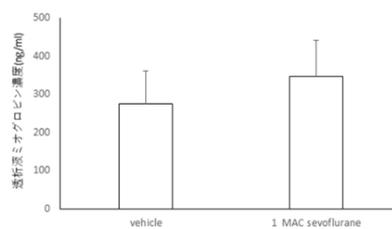
この濃度上昇は、吸入麻酔薬（セボフルラン）を投与することで vehicle 群に比して抑制された。また TRPC channel blocker (2-APB, SKF96365)の前処置により、いずれも抑制された。（下図）



2 TAC手術後の心不全ラットにおいても吸入麻酔薬(セボフルラン)を投与することで vehicle 群に比して抑制された。また TRPC channel blocker (2-APB, SKF96365)の前処置により、いずれも抑制された。（下図）



3 .ラット心筋において冠動脈閉塞解放を行った後に、マイクロダイアリスファイバーを介して細胞傷害を引き起こす薬剤(デシピラミン)を投与した際の心筋透析液ミオグロビン濃度応答を測定した。吸入麻酔薬を投与した際の濃度応答は非投与群に比して上昇した。（下図）



従前の単離心筋マウスの虚血再灌流傷害モデル実験において、その傷害が吸入麻酔薬により抑制され、吸入麻酔薬が保護的に働くことを示唆することを報告した。この保護作用のメカニズムとして TRPC チャンネルが関与していると仮定し、そのブロッカーを前処置して同様の実験を *in vivo* にて行った。その結果、抑制効果を観察でき、さらにこの効果は TRPC チャンネルを活性化したラットにおいても、吸入麻酔薬と TRPC channel ブロッカー前処置で抑制効果が認められた。よって *in vivo* においても吸入麻酔薬に TRPC channel を介した虚血再灌流傷害抑制が関与していることが強く示唆され、さらに虚血後の心筋残存バイアピリティにおいて吸入麻酔薬で温存された。これはセボフルランにより虚血による細胞傷害が減少した証拠であり、今後はその効果が TRPC チャンネルブロッカーでも認められるかどうかを調べ、セボフルランと TRPC チャンネルとの関係について検討をすすめる予定である。また、他の Ca ハンドリング様式による違いやアポトーシスへの関与の有無などは次課題として残った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ishikawa Y, Kitagawa H, Sawada T, Seto T, Takahashi K, Yamazaki T	4. 巻 53(6)
2. 論文標題 Deuterium Oxide Protects Against Myocardial Injury Induced by Ischemia and Reperfusion in Rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scand Cardiovasc J.	6. 最初と最後の頁 329-336
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14017431.2019.1657939	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 小嶋 亜希子、福島 豊、今宿 康彦、北川裕利、松浦 博	4. 巻 68(12)
2. 論文標題 麻酔薬の心臓洞房結節自動能に対する制御機構	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 麻酔	6. 最初と最後の頁 1280-1288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 宮崎成美、水野隆芳、石川ゆうこ、今宿康彦、高橋完、北川裕利	4. 巻 43
2. 論文標題 術中低血圧に対して 受容体作動薬で対処した褐色細胞腫摘出術の麻酔経験	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床麻酔	6. 最初と最後の頁 1006-1008
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fukushima Y, Kojima A, Xinya Mi, Wei-Guang Ding, Kitagawa H, Matsuura H	4. 巻 177
2. 論文標題 Open-channel blocking action of volatile anesthetics desflurane and sevoflurane on human voltage-gated Kv1.5 channel	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 3811-3827
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bph.15105	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto E, Kojima A, Kitagawa H, Matsuura H.	4. 巻 34
2. 論文標題 Anesthetic Management of a Patient With Type 1 Long QT Syndrome Using Combined Epidural-Spinal Anesthesia for Caesarean Section: Perioperative Approach Based on Ion Channel Function.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Cardiothorac Vasc Anesth.	6. 最初と最後の頁 485-469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.jvca.2019.07.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 清水盛浩、小嶋亜希子、高橋完、北川裕利
2. 発表標題 麻酔導入時の低血圧は術後の長期予後に影響する - 血液透析患者およびpairmatchした非透析患者における後ろ向き研究 -
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水盛浩、小嶋亜希子、石原真理子、福島豊、高橋完、北川裕利
2. 発表標題 プロポフォルによるHCN4チャネルの抑制作用は交感神経緊張時に減弱する。
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小嶋亜希子、伊藤有紀、福島豊、今宿康彦、高橋完、北川裕利
2. 発表標題 IKsチャネルのサブユニットをコードするKCNE1遺伝子の一塩基多型D85Nはプロポフォル感受性を増強し、プロポフォル投与中のQT延長の危険因子となりうる。
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福島豊、小嶋亜希子、清水盛浩、石原真理子、高橋完、北川裕利
2. 発表標題 揮発性麻酔薬は膜電位依存性ヒトKv1.5(hKv1.5)チャネルに対してそのポア領域のアミノ酸に直接作用して抑制作用を発揮する。
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 湯浅真由美、小嶋亜希子、石川ゆうこ、石原真理子、高橋完、北川裕利
2. 発表標題 房室結節自動性における急速活性型および緩徐活性型遅延整流性カリウムチャネルの機能的役割。
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石原真理子、小嶋亜希子、湯浅真由美、清水盛浩、福島豊、北川裕利
2. 発表標題 デクスメトミジンは心臓洞房結節細胞のイミダゾリン受容体に直接作用して徐脈作用を引き起こす。
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小嶋亜希子、伊藤有紀、福島豊、今宿康彦、北川裕利
2. 発表標題 セボフルランのIKsチャネル抑制作用は、サブユニットをコードするKCNE1遺伝子の一塩基多型D85Nにより増強し、セボフルランによるQT延長作用を増強する。
3. 学会等名 日本麻酔科学会第67回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福島豊、小嶋亜希子、石原真理子、清水盛浩、湯浅真由美、北川裕利
2. 発表標題 デスフルランはヒト心筋の膜電位依存性カリウムチャンネルに対して異なった抑制作用を発揮する.
3. 学会等名 日本麻酔科学会第67回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 清水盛浩、小嶋亜希子、石原真理子、福島豊、北川裕利
2. 発表標題 プロポフォルによるHCN2チャンネルおよびHCN4チャンネルの抑制作用は交感神経緊張時に減弱する.
3. 学会等名 日本麻酔科学会第67回学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	山崎 登自 (Yamazaki Toji)		
研究協力者	澤田 規 (Sawada Tadashi)		
研究協力者	小嶋 亜希子 (Kojima Akiko) (50447877)	滋賀医科大学・医学部・講師 (14202)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	松浦 博 (Matsuura Hiroshi) (60238962)	滋賀医科大学・医学部・教授 (14202)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関