

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16483

研究課題名（和文）吸入麻酔薬の心筋保護作用 サーチュインとミトコンドリア機能調節の役割

研究課題名（英文）Cardiac protection by volatile anesthetic -Role of sirtuine and mitochondrial regulation-

研究代表者

角田 奈美（KAKUTA, Nami）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・講師

研究者番号：00622606

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：研究代表者の研究グループは、早くから吸入麻酔薬の心筋保護作用に注目し、その経路を明らかにしてきた。しかしながら、そのメカニズムの全容は明らかではない。近年、ミトコンドリア機能の調節が心筋保護作用に関与し、ミトコンドリアに分布しているサーチュインが心筋保護に関与する可能性があることが報告された。

本研究によって、虚血再灌流障害に対する心筋保護作用経路におけるサーチュインの果たす役割、特にミトコンドリアにおけるMitochondrial Permeability Transition Poreの開口抑制に与える影響が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サーチュインと吸入麻酔薬の相互作用をミトコンドリアダイナミクスと関連付けた報告は、国内外を含め知る限りにおいて存在しない。これらを明らかにすることは、極めて重要であると思われる。サーチュインによるMitochondrial Permeability Transition Pore開口の抑制の詳細な機序について検討していくことで心筋虚血再灌流障害などによる細胞死に対するサーチュインの生体内の役割が明らかになるとと思われる。さらに、サーチュインを標的とした新たな心筋梗塞・心筋障害の治療開発へとつながるものと思われる。

研究成果の概要（英文）：Our research group has focused on the myocardial protective effects of volatile anesthetics. However, the entire mechanisms are poorly understood, although several mechanisms have been suggested. Recently, it was reported that regulation of mitochondrial function is involved in myocardial protection, and mitochondrial sirtuine may be involved in myocardial protection.

This study clarified the role of sirtuine in the myocardial protective against ischemia-reperfusion injury, especially the effect of inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening.

研究分野：麻酔科学

キーワード：サーチュイン イソフルラン 吸入麻酔薬 心筋保護 虚血再灌流障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

短時間の虚血再灌流によって、その後の虚血再灌流障害が減少する現象を Ischemic preconditioning による心筋保護作用という。近年、吸入麻酔薬やオピオイドにもこの作用があるという報告がある。特に、吸入麻酔薬を前投与することによる心筋保護作用は Anesthetic preconditioning (APC)と呼ばれている。そのメカニズムを明らかにすることは、心筋梗塞患者の救命につながるため、その後長年にわたり作用における分子経路の解明がなされてきたが、その全容は未だ明らかではない。

Sirt 遺伝子はサーチュイン sirtuin 遺伝子とも呼ばれ、クラス III ヒストン脱アセチル化酵素であり、遺伝子の転写制御において重要な役割をはたしていることで知られている。さらに Sirt は心血管系に作用することが報告され、近年の研究によると心機能の制御や虚血に対する心筋耐性をコントロールする作用についても報告されている。

2. 研究の目的

研究代表者の研究グループは、早くから吸入麻酔薬の心筋保護作用 APC に注目し、その経路を明らかにしてきた。しかしながら、現在までに、プレコンディショニング作用がある様々な薬剤が研究されているものの未だに臨床応用に至っている薬剤は少ない。また、Sirt 遺伝子は長寿遺伝子とも言われ近年注目を浴びている。Sirt と吸入麻酔薬の相互作用を調べたものは、国内外を含め知る限りにおいて存在しない。さらに言えば、ミトコンドリアダイナミクスと関連付けた報告は調べた限りにおいては存在しない。このことより、Sirt による mPTP 抑制の詳細な機序について検討していくことで心筋虚血再灌流障害などによる細胞死に対する Sirt の生体内の役割が明らかになるとと思われる。

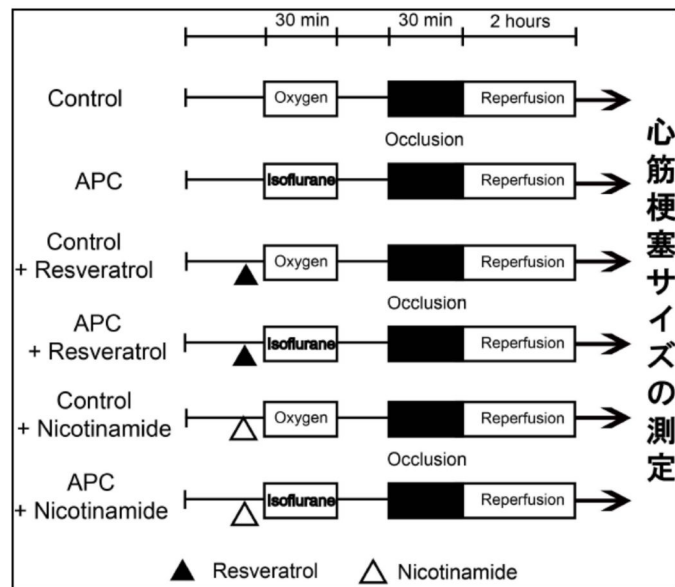
3. 研究の方法

実験 1. APC 刺激後の Sirt 発現を RT-PCR 法およびイムノブロットング法にて確認する。

マウスに吸入麻酔薬イソフルランを 1.0MAC 吸入させた後 (APC 刺激) 心臓を取り出しホモジナイズし RT-PCR、イムノブロットを用い RNA 及びタンパクレベルにおいて Sirt の発現が増加していることを明らかにする。

実験 2. マウス in vivo 虚血再灌流モデルを用いて対照群、APC 群において心筋梗塞サイズを測定比較する。同様に、Sirt の誘導剤、阻害剤を前投与し Sirt の APC 作用における関与を明らかにする。マウスを人工呼吸下に APC 刺激を 30 分行い、その後、心臓冠動脈を 30 分間閉塞し、2 時間の再灌流を行う。その後心筋梗塞サイズを測定する。Sirt の誘導剤である resveratrol、Sirt の阻害剤である nicotinamide を APC 刺激前に投与し、同様の虚血再灌流実験を行う。

実験 3. APC 刺激後の Sirt 活性がミトコンドリアに及ぼす影響を明らかにすることで、Sirt が心保護作用に重要な役割を担うことを明らかにする。各群の心臓を取りだし、ホモジナイズし、密度勾配遠心法にてミトコンドリア分画を得た後、ミトコンドリア膨化アッセイにより吸光度の変化によって Ca^{2+} 依存性ミトコンドリア膨化が APC 刺激による Sirt を介した心筋保護効果にどのように影響するかを調べる。さらにこの影響を可視化するため、calsein-AM 試薬を用いて細胞を蛍光ラベルし、mPTP 開閉を観察する。



4. 研究成果

マウスを人工呼吸下に吸入麻酔薬イソフルランを 1.0MAC 吸入させた後、心臓冠動脈を 30 分間閉塞し、2 時間の再灌流を行った。心臓を取り出しホモジナイズした。RT-PCR を用いて、Sirt が発現していることを確かめた。また、イムノブロットを用いタンパクレベルにおいて Sirt の発現が増加していることも確かめた。

上記図の各群に対して、マウスの心臓冠動脈を 30 分間閉塞し、2 時間の再灌流を行う。その後、再び冠動脈を閉塞、Evans Blue を注入し心臓を取り出す。心臓をスライスし、TTC にて再染色を行い心筋梗塞サイズを測定した。APC 刺激によって心筋梗塞サイズが減少した。また、Sirt の誘導剤である Resveratrol によっても同様の心筋保護作用を確認することができた。さらに、Sirt の阻害剤である nicotinamide を前投与し、同様の虚血再灌流実験を行なった結果、心筋保護作用が棄

却されたことから、SirtがAPC作用に重要な役割を演じていることが明らかとなった。

また、同様に各群において心臓を取りだし、ホモジナイズし、密度勾配遠心法にてミトコンドリア分画を得た後、ミトコンドリア膨化アッセイにより吸光度の変化によってCa²⁺依存性ミトコンドリア膨化を調べた。その結果、APCおよびResveratorolによってミトコンドリアの開口が制限されることが明らかとなった。また、この作用はSirtの阻害剤によって抑制された。これにより、ミトコンドリアを介してAPC刺激の心筋保護作用がSirtを介して発現することが明らかとなった。また、APC作用、Sirt作用は相互的に作用する可能性が示唆された。

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 5件）

1. 著者名 Yoko Sakai, Yasuo M. Tsutsumi, Takuro Oyama, Chiaki Murakami, Nami Kakuta, and Katsuya Tanaka.	4. 巻 65
2. 論文標題 Noninvasive continuous blood pressure monitoring by the ClearSight system during robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Medical Investigation	6. 最初と最後の頁 69-73
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2152/jmi.65.69.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Takuro Oyama, Nami Kakuta, Naoji Mita, Shinji Kawahito, Katsuya Tanaka, and Yasuo M. Tsutsumi	4. 巻 19
2. 論文標題 Jelly-type carbohydrate supplement in healthy subjects suppresses the catabolism of adipose tissue and muscle protein and improves their satisfactions	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Nutrition Experimental	6. 最初と最後の頁 1-11
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Shiho Satomi, Nami Kakuta, Chiaki Murakami, Yoko Sakai, Katsuya Tanaka, Yasuo M. Tsutsumi	4. 巻 -
2. 論文標題 The efficacy of programmed intermittent epidural bolus for postoperative analgesia after open gynecological surgery: a randomized double-blind study.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biomed Research International	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2018/6297247	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yuta Uemura, Yoko Sakai, Yasuo M. Tsutsumi, Nami Kakuta, Chiaki Murakami, Shiho Satomi, Takuro Oyama, Naohiro Ohshita, Tomoya Takasago, Daisuke Hamada, Koichi Sairyō, and Katsuya Tanaka.	4. 巻 66
2. 論文標題 Postoperative nausea and vomiting following lower limb surgery: a comparison between single-injection intraarticular anesthesia and continuous epidural anesthesia.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Medical Investigation	6. 最初と最後の頁 303-307
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2152/jmi.66.303	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Mayu Sebe, Rie Tsutsumi, Takuro Oyama, Yousuke T. Horikawa, Yuta Uemura, Nami Kakuta, Yoko Sakai, Atsushi Morio, Hirotsugu Miyoshi, Takashi Kondo, Tomoaki Urabe, Yuko Noda, Satoshi Kamiya, Noboru Saeki, Masashi Kuroda, Katsuya Tanaka, Yasuo M. Tsutsumi, and Hiroshi Sakaue.	4. 巻 67
2. 論文標題 Assessment of postoperative nutritional status and physical function between open surgical aortic valve replacement and transcatheter aortic valve implantation in elderly patients.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Medical Investigation	6. 最初と最後の頁 139-144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2152/jmi.67.139	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 大山拓朗、角田奈美、川西良典、石川雄樹、堤保夫、田中克哉
2. 発表標題 最重症大動脈弁狭窄症(AS)に対し緊急TAVIを施行し救命し得た一例
3. 学会等名 第39回日本循環制御医学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内藤茂之、川西良典、角田奈美、堤保夫、田中克哉
2. 発表標題 マスク換気時に胃内への空気流入が起こる最小の吸気圧の検討
3. 学会等名 第55回日本麻酔科学会中国・四国支部学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上村勇太、堤保夫、角田奈美、田中克哉
2. 発表標題 メチルマロン酸血症患者に対する連続携行式腹膜灌流用カテーテル腹腔内留置術の麻酔経験
3. 学会等名 第38回日本臨床麻酔学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村上千晶、角田奈美、堤保夫、里見志帆、大山拓朗、田中克哉
2. 発表標題 術後嘔気・嘔吐に対するNeurokinin-1受容体拮抗薬と5-hydroxytryptamine type 3受容体拮抗薬の効果：システマティックレビューとメタ解析
3. 学会等名 第66回日本麻酔科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 角田奈美、堤保夫、川人伸次、田中克哉
2. 発表標題 術中使用の経食道心エコーで舌潰瘍を生じ術後出血、緊急止血術を施行した一例
3. 学会等名 第25回日本小児麻酔学会
4. 発表年 2019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	堤 保夫 (TSUTSUMI Yasuo)		
研究協力者	酒井 陽子 (SAKAI Yoko)		