

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 21 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20791090

研究課題名 (和文) スタチン急性投与における内皮機能改善効果に及ぼす麻酔薬の影響

研究課題名 (英文) The effect of sevoflurane on simvastatin-induced eNOS expression in cultured endothelial cells.

研究代表者 丹下 和晃 (TANGE KAZUAKI)

和歌山県立医科大学 医学部 助教

研究者番号：70405471

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 麻酔・蘇生学

キーワード：スタチン、一酸化窒素、吸入麻酔薬、一酸化窒素合成酵素

1. 研究計画の概要

HMG-CoA 還元酵素阻害薬であるスタチンは、血清コレステロールの低下作用のほか、内皮機能改善作用、抗炎症作用など多面的作用を合わせ持つ。内皮機能改善作用には一酸化窒素合成酵素 eNOS の発現と活性上昇が関与していると考えられている。本研究は、培養内皮細胞を用い、スタチン急性投与の NO 産生量に対する効果と、その効果に対するセボフルランの影響とその機序について解明することを目的とした。

2. 研究の進捗状況

5~6 継代のウシ大動脈内皮細胞を用いた。スタチン急性投与培養内皮細胞モデル系を用い、セボフルランの存在下、非存在下において以下の実験を行った。

(1) NO 測定用蛍光試薬である DAF-FM DA (Diaminofluorescein-FM diacetyl) 10-5M で培養細胞を負荷した後、リン酸緩衝液 (コントロール群) あるいは 10-6M シンバスタチンを溶解したリン酸緩衝液 (シンバスタチン群) を適用した。

リン酸緩衝液あるいはスタチン溶解液適用直後の輝度 (F0) に対する適用 5 分後の蛍光色素の輝度 (F) を、セボフルラン 3.4% 曝露下、非曝露下でそれぞれ比較検討した。(2) 培養細胞をコントロール群、シンバスタチン 10-6M を 15 分間適用した群、シンバスタチンの適用に加えセボフルラン 3.4% に 15 分間曝露した群の 3 群に分け、各細胞から細胞抽出液を得た。これらの細胞抽出液を試料として、抗 eNOS 抗体を用い Western blotting により eNOS 発現レベルを測定した。

(3) 前述の 3 群の各細胞から、High Pure RNA Isolation kit (Roche applied Science) を用いて mRNA を抽出した。得られた mRNA より Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit (Roche applied Science) を用いて cDNA を逆転写し、LightCycler@480 SYBR Green Master を用いて、real time PCR により eNOS mRNA を定量した。

今回の結果では、ウシ大動脈内皮細胞において、急性シンバスタチン適用は eNOS 発現を促進したが、その効果はセボフルランにより抑制された。しかし、mRNA 量では各群に有意差がなかった。スタチンの eNOS 発現増加には転写後制御レベルでの効果が影響しており、セボフルランはこの過程を抑制している可能性が示唆された。

3. 現在までの達成度

②概ね順調に進展している。

(理由)

実験自体は順調に進んでおり、毎年アメリカで行われるアメリカ麻酔学会でその要旨を発表できている。

4. 今後の研究の推進方策

今後は論文に投稿することを目標とし、英文化する。また必要があれば追実験を行う予定である。

5. 代表的な研究成果
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計2件)

① 丹下 和晃 The effect of sevoflurane on simvastatin-induced eNOS expression in cultured endothelial cells. 2010 annual meeting of American Society of Anesthesiologist 2010/10/19 サンディエゴ

② 丹下 和晃 Sevoflurane inhibits the increase in statin-induced endothelial nitric oxide synthase expression. 2009 annual meeting of American Society of Anesthesiologist 2009/10/17 ニューオリンズ