

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：13401  
研究種目：挑戦的萌芽研究  
研究期間：2011～2012  
課題番号：23659738  
研究課題名（和文） 冬眠の低体温療法への応用をめざして  
研究課題名（英文） The application of hibernation to hypothermia  
研究代表者  
信川 泰成 (NOBUKAWA YASUNARI)  
福井大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：70377464

## 研究成果の概要（和文）：

ラットの脳室内に シマリス由来の hibernation protein complex (HP complex) を投与することで、低体温療法を安全に施行することを考えた。しかし、HP complex の入手が非常に困難になってしまったため、HP complex の相補的 DNA (cDNA) から、無細胞タンパク合成により人工的に HP complex を合成しようと試みた。

## 研究成果の概要（英文）：

We tried to apply hibernation to hypothermia by intracerebroventricular injection of hibernation protein complex (HP complex) in the rat. However, it is difficult to obtain HP complex at present. So we examined HP complex synthesis from cDNA by cell-free protein synthesis system.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,300,000	690,000	2,990,000

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：冬眠、低体温療法、hibernation protein complex (HP complex)

## 1. 研究開始当初の背景

軽度低体温療法は、心肺蘇生後の神経学的予後を改善することが報告されている。しかし低体温は、血圧低下、徐脈、電解質異常、凝固機能低下、免疫機能低下などの様々な合併症を

引き起こす。ところが冬眠状態の動物では、4～5℃という低体温の状態でも、電解質異常、凝固機能低下、免疫機能低下を引き起こすことなく、温かくなれば元の活動状態に戻ることができる。そこで、冬眠のシステムを低体温療法に応用で

きないかという発想を得た。1992年に近藤らは、冬眠の原因物質の一つと考えられている hibernation-specific protein complex (HP complex) をシマリスから発見した。この HP complex に注目し、本来は冬眠しないラットの脳室内に HP complex を投与することにより、ラットを冬眠させることができれば、軽度低体温療法に応用できるのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

まず脳室内に HP complex を投与し、ラットの活動レベル、脳波、血圧、心拍数、体温、血液生化学データ、動脈血ガス分析などを測定し、これらがどのような変化をするのかを解析する。

ラットを冬眠状態にすることができた場合は、HP complex あるいは生理食塩水を脳室内投与群を作成し、両側の内頸動脈を短時間結紮して脳虚血モデルを作成する。両群の脳スライス標本を作成して、壊死細胞数あるいはアポトーシス細胞数の比較を行ったり、運動機能の評価を行ったりして、低酸素性脳障害の程度に差が生じるかどうか検討する。また、HP complex 投与による神経予後改善効果が、用量依存性であるかどうかについても検討する。

## 3. 研究の方法

当初は HP Complex を脳室内に投与することにより、ラットを冬眠状態にすることができるのかどうか調べたり、脳波、血圧、心拍数、体温、血液生化学データなどがどのように変化するかを調べたりする予定であった。しかし HP complex の発見者である近藤博士に問い合わせたところ、研究所閉鎖のために HP complex の入手が非常に困難になってしまったとのことで、当初予定していた研究ができなくなってしまった。

そこで、HP Complex を形成している HP-20、HP-25、HP-27、HP-55 の 4 種類のタ

ンパク質のうち、活性があると考えられている HP-20、HP-25、HP-27 の 3 種類についてはその相補的 DNA (cDNA) の配列が 1993 年に Takamatsu らによって明らかにされているので、この cDNA をもとに無細胞タンパク合成という方法を用いて、HP-20、HP-25、HP-27 の 3 種類のタンパク質を合成しようと考えた。具体的には Biocomber 社の再構成無細胞タンパク合成キット PURESYSTEM<sup>®</sup> を用いて、HP-20、HP-25、HP-27 の cDNA から PCR によってそれぞれのテンプレート DNA を作成し、そのテンプレート DNA を用いてタンパク質合成・精製を試みた。

## 4. 研究成果

上記の再構成無細胞タンパク合成キットを用いて、3 種類のタンパク質のテンプレート DNA を作成するところまでは成功したが、肝心のタンパク質の合成・精製は実験期間内に成功させることができなかった。このため HP complex を合成するには至らず、当初予定していた研究を行うことはできなかった。今後は、一刻も早く HP complex の合成・精製に成功し、本来予定していた実験を開始できるよう努力していく予定である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

1. Successful treatment of severe Legionella pneumonia and acute kidney injury with polymyxin B-immobilized fiber column direct hemoperfusion. Yasunari Matsuki, Yuka matuski, Yoshikazu Yasuda, Maki Mizogami, Ko Takakura, kenji Shigemi. *Anesthesia, Pain and IntensiveCare*, 17 (1),

- pp88-90, 2013, 査読有
2. Anesthesia with propofol induces insulin resistance systemically in skeletal and cardiac muscles and liver of rats. Yoshikazu Yasuda, Yuji Fukushima, Masao Kaneki, J.A.Jeevendra Martyn. *Biochem Biophys Res Commun*, 431 (1), pp81-5, 2013, 査読有
  3. 水中毒患者のカテコラミン不応性ショックにバソプレッシンが著効した一症例, 松木 悠佳, 信川 泰成, 安田 善一, 村上 剛, 高倉 康, 重見 研司, *日集中医誌*, 20 (1), pp97-8, 2013, 査読有
  4. Suspected respiratory depression associated with use of a transdermal fentanyl patch. Yuka Matsuki, Maki Mizogami, Mari Tabata, Yasunari Matsuki, Yoshikazu Yasuda, Kenji Shigemi, *Pain Physician*, 15 (4), ppE536-7, 2012, 査読有
  5. Muscle rigidity associated with pregabalin. Yuka Matsuki, Mari Tabata, Yasunari Matsuki, Mikako Sakai, Yoshikazu Yasuda, Maki Mizogami, Kenji Shigemi, *Pain Physician*, 15 (3), ppE349-51, 2012, 査読有
  6. Inducible nitric oxide synthase deficiency ameliorates skeletal muscle insulin resistance but does not alter unexpected lower blood glucose levels after burn injury in C57BL/6 mice. Michiko Sugita, Hiroki Sugita, Minhye Kim, Ji Mao, Yoshikazu Yasuda, Mayu Habiro, Shohei Shinozaki, Shingo Yasuhara, Nobuyuki Shimizu, J.A.Jeevendra Martyn, Masao Kaneki, *Metabolism*, 61 (1), pp127-36, 2012, 査読有
  7. 座位での後頭蓋窩手術において経食道心エコーで早期に空気塞栓を検出した 1 症例, 松木 悠佳, 次田 佳代, 信川 泰成, 田畑 麻里, 村上 剛, 重見 研司, *日臨麻会誌*, 31 (7), pp996-8, 2011, 査読有
  8. **Becker** 型筋ジストロフィ患者に対するロクロニウムの使用経験, 関 久美子, 川上 浩文, 古川 ひろみ, 佐藤 倫祥, 信川 泰成, 田畑 麻里, 廣瀬 宗孝, 重見 研司, *麻酔*, 60 (4), pp461-4, 2011, 査読有
- [学会発表] (計 16 件)
1. プレガバリン内服によると思われる心不全を来した 1 症例, 松木 悠佳, 溝上 真樹, 松木 泰成, 上田 雅史, 安田 善一, 村上 剛, 重見 研司, 東海・北陸ペインクリニック学会第 20 回北陸地方会, 2013.3.10, 石川
  2. 全身麻酔中に高血圧症を合併せず可逆性後頭葉白質脳症 posterior reversible encephalopathy syndrome を発症したと考えられる 1 症例, 神澤 聖一, 上田 雅史, 小畑 友里江, 松木 泰成, 安田 善一, 重見 研司, 日本麻酔科学会東海・北陸支部第 10 回学術集会, 2012.9.1, 愛知
  3. 術中血圧管理とカリウム値補正に難渋した脳出血患者の一症例, 西川 雄大, 松木 泰成, 松木 悠佳, 上田 雅史,

- 高倉 康, 重見 研司, 日本麻酔科学会  
東海・北陸支部第 10 回学術集会,  
2012.9.1, 愛知
4. 神経障害性疼痛患者に対するプレガバリンの副作用は腎機能低下症例に多い, 松木 悠佳, 田畑 麻里, 坂井 美賀子, 松木 泰成, 上田 雅史, 木下 義和, 安田 善一, 溝上 真樹, 村上 剛, 重見 研司, 日本ペインクリニック学会第 46 回大会, 2012.7.6, 島根
  5. 全身麻酔中に不測の心室細動を起こした 1 症例, 松木 泰成, 安田 善一, 松木 悠佳, 村上 剛, 高倉 康, 重見 研司, 第 20 回日本集中治療医学会東海・北陸地方会, 2012.6.23, 富山
  6. フェンタニル貼布剤による呼吸抑制が疑われた症例, 松木 悠佳, 田畑 麻里, 坂井 美賀子, 溝上 真樹, 信川 泰成, 上田 雅史, 安田 善一, 村上 剛, 重見 研司, 第 19 回日本ペインクリニック学会北陸地方会, 2012.3.11, 福井
  7. 劇症型心筋炎に対しポリメチルペンテン膜の人工肺を用いた PCPS が有効であった一症例, 松木 悠佳, 信川 泰成, 安田 善一, 久保 由香, 村上 究, 荒川 健一郎, 林 昌浩, 村上 剛, 重見 研司, 第 39 回日本集中治療医学会学術集会, 2012.3.1, 千葉
  8. 突然の換気不能で発症したラテックスによるアナフィラキシーショックの 1 例, 安田 善一, 佐藤 倫祥, 次田 佳代, 佐上 祐介, 松木 悠佳, 信川 泰成, 村上 剛, 重見 研司, 日本臨床麻酔学会第 31 回大会, 2011.11.5, 沖縄
  9. 術中の声門下分泌物ドレナージ機能付き気管チューブの使用が副鼻腔根本術における術後合併症に及ぼす影響, 松木 悠佳, 廣瀬 宗孝, 田畑 麻里, 信川 泰成, 下 弘一, 安田 善一, 村上 剛, 重見 研司, 日本臨床麻酔学会第 31 回大会, 2011.11.3, 沖縄
  10. チューブエクステンジャーを介して経口から経鼻にチューブ交換した小下顎症の一症例, 次田 佳代, 佐上 祐介, 松木 悠佳, 信川 泰成, 田畑 麻里, 安田 善一, 村上 剛, 重見 研司, 日本小児麻酔学会第 17 回大会, 2011.9.23, 大阪
  11. 脊髄くも膜下硬膜外併用麻酔 (CSEA) にて低位前方切除術を施行した多発性再発軟骨炎の一症例, 次田 佳代, 村上 剛, 小畑 友里江, 松木 泰成, 川上 浩文, 重見 研司, 日本麻酔科学会東海・北陸支部第 9 回学術集会, 2011.9.10, 愛知
  12. 気道刺激により容易に肺水腫を来し抜管に難渋した小児の一症例, 佐上 祐介, 安田 善一, 次田 佳代, 松木 悠佳, 松木 泰成, 重見 研司, 日本麻酔科学会東海・北陸支部第 9 回学術集会, 2011.9.10, 愛知
  13. インフルエンザ重症肺炎に対し PMX-DHP・CHDF が著効した一症例, 信川 泰成, 次田 佳代, 松木 悠佳, 安田 善一, 村上 剛, 重見 研司, 第 19 回日本集中治療医学会東海北陸地方会,

2011.6.18, 愛知

14. カテコラミン不応性の敗血症性ショックにバソプレッシン持続投与が有効であった1症例, 松木 悠佳, 次田 佳代, 片岡 誠, 松木 泰成, 石本 雅幸, 安田 善一, 村上 剛, 重見 研司, 第19回日本集中治療医学会東海北陸地方会, 2011.6.18, 愛知
15. 耳鼻科領域での声門下分泌物の量の比較, 松木 悠佳, 次田 佳代, 信川 泰成, 田畑 麻里, 廣瀬 宗孝, 重見 研司, 日本麻酔科学会第58回学術集会, 2011.5.19, 兵庫
16. Decreasing the dose of propofol by 25% to maintain a specific BIS value at the time of Pringle operation during hepatectomy. Tomoyoshi Sato, Munetaka Hirose, Ken-ichiro Mita, Kayo Tsugita, Yuka Matsuki, Kumiko Seki, Yoshikazu Yasuda, Tsuyoshi Murakami, Hirofumi Kawakami, Kenji Shigemi, 3rd World Congress of Total Intravenous Anesthesia & Target Controlled Infusion, 2011.4.1, Singapore

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

信川 泰成 (NOBUKAWA YASUNARI)

福井大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70377464

### (2)連携研究者

安田 善一 (YASUDA YOSHIKAZU)

福井大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50252002