

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592280

研究課題名(和文) 心筋虚血再灌流障害に対して高用量インスリン投与は有効か

研究課題名(英文) Insulin preconditioning elevates p-Akt and cardiac contractility after reperfusion in the isolated ischemic rat heart

研究代表者

佐藤 宏明 (SATO, Hiroaki)

山梨大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20402026

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：インスリンの心筋保護作用は以前より報告があるが、投与のタイミングと保護効果については、不明である。本研究では、高用量インスリンを心筋虚血前に先行投与した方が、再灌流時から投与するより、心筋保護効果を発揮するという仮説を立て、ラット摘出心臓の虚血再灌流モデルを用い検証した。結果は、高用量インスリンは、虚血後投与より虚血前先行投与の方が、再灌流時の心機能を改善させ、また心筋保護効果も示した。本研究から実際の冠動脈カテーテル治療や心臓手術における心筋保護法として応用出来る可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The optimal timing of insulin institution related to cardiac ischemia was unclear. We tested the hypothesis that insulin administered prior to ischemia provides better cardioprotection than insulin administration after ischemia.

Hearts isolated from male rats were prepared using Langendorff method and divided into three groups. In this study, we concluded insulin administration prior to ischemia provides better cardioprotection than insulin administration only at reperfusion in the isolated ischemic rat heart.

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：インスリン 虚血再灌流障害 心筋保護

1. 研究開始当初の背景

(1)インスリンの心筋保護作用は以前より報告があるが、虚血後の早期投与が梗塞サイズ縮小に有効であるという報告 (Cardiovasc Drugs Ther. 2000;14:615-23) がある一方、虚血前投与が虚血後の心機能回復に有効 (J Clin Endocrin Metab 2011; 96: 1469-1477) といった報告もあり、インスリン投与のタイミングと保護効果については、一定の見解が得られていない。

(2)インスリンは

PI3K(phosphatidylinositol 3-kinase)/Akt (protein kinase B) を介したシグナル経路を活性化するとされている。心筋虚血に対するプレコンディショニングの心筋保護作用には PI3K /Akt を介したシグナル経路の活性化が機序の一つであるとされている。

2. 研究の目的

(1)本研究では、「高用量インスリンを心筋虚血前に先行投与した方が、再灌流時より投与するよりも、心筋保護効果を発揮する」という仮説を立てて、ラット摘出心臓の虚血再灌流モデルを用いて検証することを目的とした。

(2)虚血再灌流後の心機能が改善するかどうかに加えて、PI3K /Akt シグナル経路の関与についても検討に加えた。

3. 研究の方法

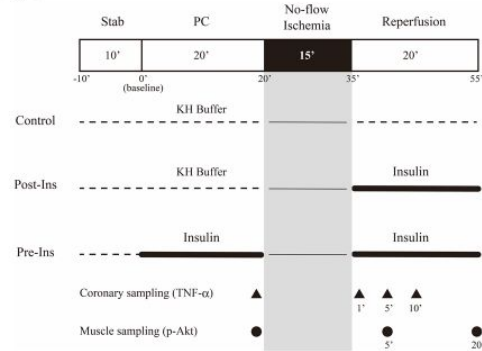
(1)ラットから心臓を摘出して Langendorff 法により灌流を行い、以下の3群間で比較検討した(Control群:インスリンなし、Pre-Ins群:虚血前からインスリン投与、Post-Ins群:虚血後からインスリン投与)。Pre-Ins群では、インスリン(0.5 U/L)を加えた灌流液で20分間灌流後に、虚血を15分間かけて、同じ灌流液で20分間再灌流を行った。Post-Ins群では、通常の灌流液で20分間灌流後に、虚血を15分間かけて、インスリン(0.5 U/L)を加えた灌流液で20分間再灌流を行った (Fig.1)

(2)測定項目として心拍数、冠流量、左室圧 dP/dt max、を比較した。

(3)冠流液を採取して ELISA キットを用いて TNF- α 濃度を測定した。また虚血直前、直後、再灌流終了時に心臓を瞬間冷却し、心筋内 p-Akt 量を ELISA キットを用いて測定した。

(4)統計は、t 検定、又は二要因の分散分析を用い、p<0.05 を統計学的有意差有りとした。

Fig. 1



4. 研究成果

(1)ベースライン値は3群間での差はなかった(Table 1)。

(2)心拍数、冠流量は3群とも再灌流後漸増したものの、群間での差はなかった (Fig.2,3)。

(3)再灌流後の左室圧 dP/dt max は、Post-Ins群に比較してPre-Ins群でどの測定ポイントにおいても有意に高く、再灌流20分では最も高い値であり、虚血前の値に最も近くなった(Fig.4)。

(4)虚血再灌流時の冠流液中 TNF- α 濃度は、Control群で最も高く、Post-Ins群も減少しているが、特に再灌流5分後においてPre-Ins群でTNF- α は最も有意に抑制された(Fig.5)。

(5)心筋内 p-Akt は、虚血前においてPre-Ins群で既に上昇しており、再灌流中においても、他の2群と比べ最も高い値を示した(Fig.6)。

Table 1. Baseline Measurements

	Control	Post-Ins	Pre-Ins
Number (n)	12	12	12
Rat weight (g)	303 ± 5	301 ± 3	303 ± 5
Dry heart weight (g)	0.24 ± 0.05	0.23 ± 0.02	0.23 ± 0.04
Heart rate (bpm)	248 ± 29	236 ± 35	242 ± 32
dP/dt max (mm Hg/sec)	3197 ± 648	3141 ± 453	3215 ± 653
Coronary flow (ml/min)	12.8 ± 1.8	13.1 ± 2.0	12.8 ± 1.9

Fig. 2

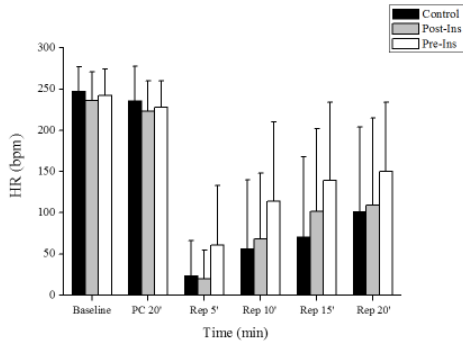


Fig. 3

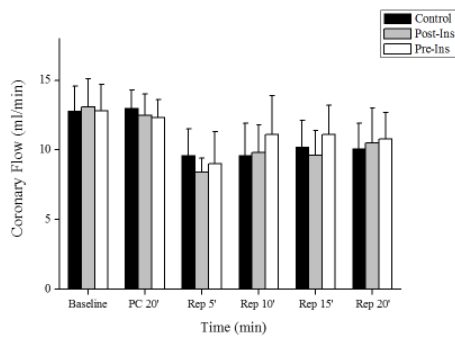
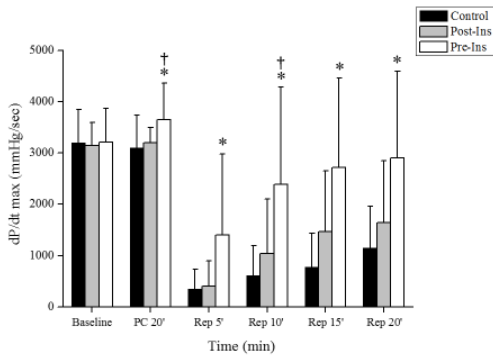
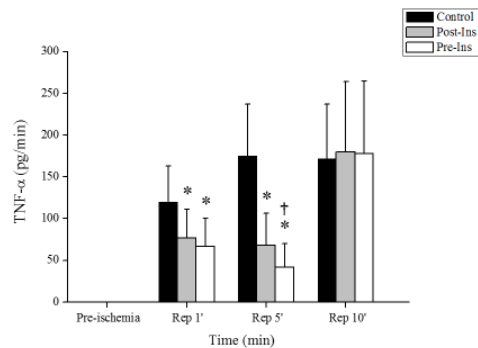


Fig. 4



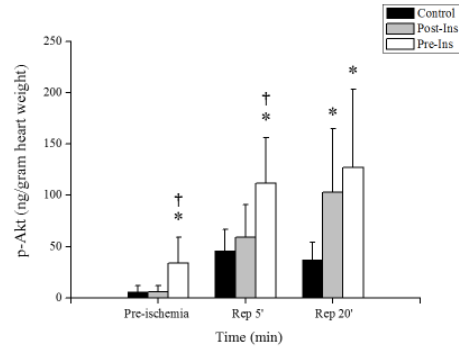
(*; vs Control, †; vs Post-Ins)

Fig. 5



(*; vs Control, †; vs Post-Ins)

Fig. 6



(*; vs Control, †; vs Post-Ins)

(6) 今回の結果では、高用量インスリンは、虚血後投与より虚血前先行投与の方が、再灌流時の心機能改善を示した。

(7) インスリン先行投与は、心筋内 p-Akt を有意に増加させ、虚血再灌流により増加する TNF- α 産生を有意に抑制した。

(8) 以上から本研究では、「高用量インスリン先行投与は虚血再灌流障害に対する心筋保護的効果を有する」ことが示唆された。またこの機序に関しては、PI3K /Akt シグナル経路の関与が示唆された。

(9) 本研究から将来、経皮的冠動脈カテーテル治療や人工心肺を使用する心臓手術における心筋保護法として、虚血前インスリン先行投与方法が応用出来る可能性があり、今後の臨床研究を行う場合のエビデンスとなる結果を示すことが出来た。

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)

[学会発表](計3件)

福島久史、他.

心臓虚血再灌流モデルにおける高用量インスリン先行投与の心筋保護効果.

第60回日本麻酔科学会 (2013.5.23 札幌)

福島久史、他.

Preconditioning Effect of High Dose Insulin in Isolated Rat Heart.

American Society of Anesthesiologists (ASA) 2012 Annual Meeting

(2012.10.16, Washington, DC)

佐藤環、他.

Effect of Hyperinsulinemic Normoglycemic Clamp on Isolated Rat Heart.

American Society of Anesthesiologists (ASA) 2011 Annual Meeting

(2011.10.18, Chicago, Illinois)

〔その他〕

ホームページ等

山梨大学医学部麻酔科学講座心筋代謝実験
グループ

<http://y-anesth.jp/research/shinkin/>

6．研究組織

(1)研究代表者

佐藤 宏明 (SATO, Hiroaki)

山梨大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20402026

(2)研究分担者

小口 健史 (OGUCHI, Takeshi)

山梨大学・医学工学総合研究部・准教授

研究者番号：60201399

松川 隆 (MATSUKAWA, Takashi)

山梨大学・医学工学総合研究部・教授

研究者番号：80209519