

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：20101  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2017～2020  
課題番号：17K11090  
研究課題名(和文) 吸入麻酔薬による心筋保護作用に対してナチュラルキラー細胞及び免疫応答が及ぼす影響

研究課題名(英文) Effects of Natural killer cell and immune responses on volatile anesthetic-induced cardioprotection

研究代表者  
平田 直之(Hirata, Naoyuki)  
札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：00438045  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：吸入麻酔薬は心筋虚血再灌流傷害を抑制する一方、ナチュラルキラー細胞(NK細胞)による免疫応答を抑制することが知られている。心筋保護作用の分子機序とNK細胞および免疫応答との関連についてはよくわかっていない。本研究では、NK細胞の活性抑制が心筋虚血再灌流障害へ及ぼす影響を調べた。さらに免疫応答の評価として炎症性サイトカインの活性化の程度について調べた。NK細胞活性抑制は、吸入麻酔薬による心保護作用と同等に虚血再灌流傷害を軽減した。また、心保護作用だけでなく炎症性サイトカインの上昇が抑制された。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

吸入麻酔薬は、長年、虚血再灌流障害を薬理的に軽減できる薬剤として注目されてきたが、最近、がん患者では不利であるとする報告がなされた。これまで、相反する吸入麻酔薬の効果について十分な研究がなされていなかった。本研究でNK細胞による免疫応答はその抑制により心保護作用が示されること、吸入麻酔薬の心保護作用には影響しなかったことから、ミトコンドリアを標的器官とした吸入麻酔薬による心保護作用とは機序としてNK細胞および免疫応答が関連する可能性が考えられた。吸入麻酔薬による心保護作用の新たな機序の提言に加え、臨床状況に応じた麻酔薬の選択法を提言できると考える。

研究成果の概要(英文)：While volatile anesthetics have cardioprotective effects against myocardial ischemia-reperfusion injury, they can attenuate the activity of natural killer cell and immune response. There has been little research regarding the interaction between volatile anesthetic-induced cardioprotection and modification of NK cell and immune responses. We investigated the effects of attenuated NK cell activities on myocardial ischemia-reperfusion injury, cardioprotective effects of volatile anesthetics and inflammatory responses. Our study revealed that attenuated NK cell activity might contribute to cardioprotective effects against myocardial ischemia-reperfusion injury via attenuated inflammatory responses.

研究分野：麻酔科学

キーワード：周術期管理 臓器保護 虚血再灌流傷害

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

吸入麻酔薬は心筋虚血再灌流傷害を抑制する一方<sup>1)</sup>, ナチュラルキラー細胞(NK細胞)による免疫応答を抑制し, がん患者では予後を悪化させる可能性がある<sup>2)</sup>. 心筋保護作用の分子機序として, 心筋ミトコンドリア由来の活性酸素種が中心的役割を担っている. 虚血再灌流ストレスは炎症反応を惹起し, NK細胞を含めた免疫応答が発現することで, ミトコンドリア機能及び活性酸素種制御に影響を与えられ考えられるが, 心保護作用と免疫応答の相互関係についてはほとんど分かっていない. 本研究では, 吸入麻酔薬による心保護作用に対するNK細胞の影響を解明する.

### 2. 研究の目的

本研究の目的は, 吸入麻酔薬による心保護作用に対するNK細胞の影響を明らかにすることである. また, 吸入麻酔薬の心保護作用において中心的役割を担っているミトコンドリア機能および活性酸素種制御との相互作用を明らかにすることである. 下記について明らかにする.

- (1) NK細胞活性が虚血再灌流傷害へ及ぼす影響
- (2) NK細胞活性が吸入麻酔薬による心保護作用に対して及ぼす影響
- (3) NK細胞活性が心筋ミトコンドリアへ及ぼす影響
- (4) NK細胞活性制御下における心筋虚血再灌流傷害時の炎症性サイトカインの動態

### 3. 研究の方法

- (1) NK細胞活性が虚血再灌流傷害へ及ぼす影響

NK細胞制御薬である抗アシアロGM1(AAGM1)により心筋虚血再灌流傷害がどのように影響を受けるか調査した. Wistarラット( , 200-250g)をAAGM1投与した群(AAGM群, n=8)と非投与群(Control群, n=8)に分けた. 投与群は, 心筋虚血再灌流実験24時間前に麻酔下にAAGM 50 $\mu$ Lを静脈内投与し, 非投与群は同量の生理食塩水を投与した. AAGMまたは生理食塩水投与24時間後に麻酔下(三種混合麻酔)に冠動脈左前下行枝を結紮と解除し, 虚血30分再灌流120分暴露により虚血再灌流傷害を誘導した. 虚血再灌流傷害は, Infarct size(IS)/Area at risk(AAR)およびトロポニンで評価した(1, 2).

- (2) NK細胞活性が吸入麻酔薬による心保護作用に及ぼす影響

吸入麻酔薬による心保護作用に対して, NK細胞活性が及ぼす影響を明らかにする目的で, (1)の処置の後, 2%セボフルランによるプレコンディショニング後に虚血再灌流傷害を誘導した(Sevo+AAGM群, n=8).

- (3) NK細胞活性が心筋ミトコンドリアへ及ぼす影響

AAGM1投与によるNK細胞活性制御が心筋ミトコンドリア酸化的リン酸化へ及ぼす影響を調べた. 新たなAAGM群(n=4), Control群(n=4)を用いて, AAGMまたは生理食塩水24時間後に麻酔下ラットから心筋ミトコンドリアを単離し, 酸化的リン酸化活性を評価した.

- (4) NK細胞活性制御下における心筋虚血再灌流傷害時の炎症性サイトカインの動態

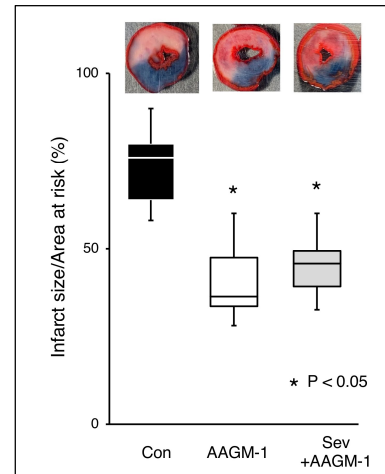
AAGM群, Control群, Sevofurane+AAGM群それぞれの虚血再灌流前後に炎症性サイトカイン(TNF- $\alpha$ , IL-1 beta, IL-6)を測定した.

#### 4. 研究成果

- (1) NK 細胞活性が虚血再灌流傷害へ及ぼす影響, および NK 細胞活性が吸入麻酔薬による心保護作用へ及ぼす影響

AAGM-1 群および Sevo+AAGM 群では Control 群と比較して, IS/AAR (%) が有意に減少した (median and interquartile range [IQR] (%) in the AAGM-1 (36.5 [39-49] %,  $p < 0.01$ ) and Sevo+AAGM (45.8 [39.3-49.4] %,  $p < 0.01$ ) vs Control (76.0 [63.7-80] %) (Figure 1) .

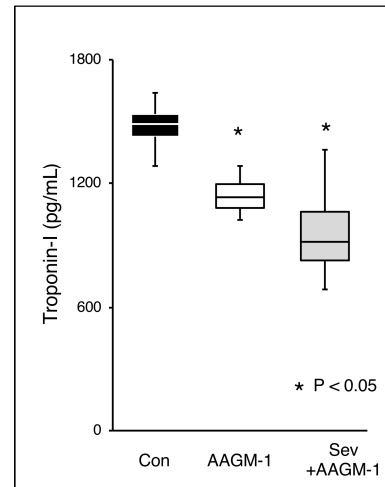
**Figure 1. Infarct size/area at risk in the three groups.** Representative TTC staining of heart slices after ischemia/reperfusion injury were presented in all groups.



- (2) 虚血再灌流後のトロポニン値

AAGM-1 群および Sevo+AAGM 群では Control 群と比較して, 虚血再灌流後のトロポニン値が有意に減少した (median and interquartile range [IQR] (%) in the AAGM-1 (917 [826-1062] pg/mL,  $p < 0.05$ ) and Sevo+AAGM (1132 [1080-1195] %,  $p < 0.05$ ) vs Control (1490 [1428-1538] %) (Figure 2).

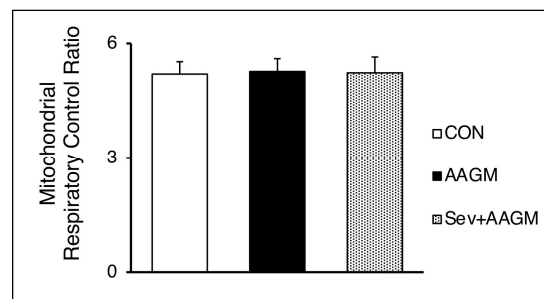
**Figure 2. Plasma concentrations of troponin I in the three groups.** Blood samples in each group were collected after 30 min of ischemia and 60 min of reperfusion.



- (3) NK 細胞活性制御による心筋ミトコンドリア酸化的リン酸化への影響

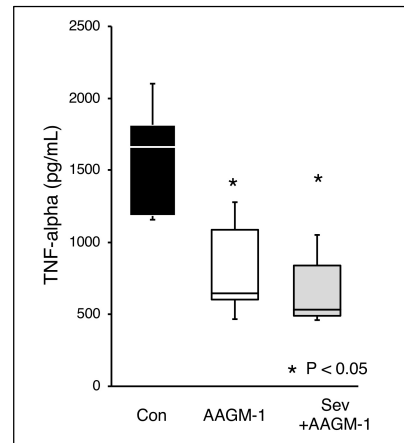
生理食塩水, AAGM-1 投与後, 24 時間時点でラット心筋ミトコンドリアの酸化的リン酸化を評価した. 心筋ミトコンドリアを単離し, Pyruvate/malate を基質として酸素消費を惹起し (State1), ADP 添加による酸素消費の加速 (State2), ADP 消費後の酸素消費 (State3) を観察し, State2/State3 ratio(=Respiratory control ratio)を評価した. 3 群間では差が見られなかった (Figure 3).

**Figure 3. Mitochondrial Respiratory Control Ratio in the three groups.** Mitochondria were isolated after 15 min with or without sevoflurane preconditioning.



- (4) 虚血再灌流 10 分後の炎症性サイトカイン値  
AAGM1 群および Sevo+AAGM1 群では虚血再灌流 10 分後の TNF-alpha および IL-6 値が有意に低かった (Figure 4).

**Figure 4. Plasma concentrations of TNF-alpha in the three groups.** Blood samples in each group were collected after 30 min of ischemia and 10 min of reperfusion.



< 引用文献 >

- (1) Uhlig C, et al. Effects of volatile anesthetic on mortality and postoperative pulmonary and other complications in patients undergoing surgery. A systematic review and Meta-analysis. *Anesthesiology* 2016; 124: 1230-45
- (2) Wigmore TJ, et al. Long-term survival for patients undergoing volatile versus IV anesthesia for cancer surgery. *Anesthesiology* 2016; 124: 69-79

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sawashita Yasuaki, Hirata Naoyuki, Yoshikawa Yusuke, Terada Hirofumi, Tokinaga Yasuyuki, Yamakage Michiaki	4. 巻 115
2. 論文標題 Remote ischemic preconditioning reduces myocardial ischemia/reperfusion injury through unacylated ghrelin-induced activation of the JAK/STAT pathway	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Basic Research in Cardiology	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00395-020-0809-z	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 Terada Hirofumi, Hirata Naoyuki, Sawashita Yasuaki, Ohno Sho, Yoshikawa Yusuke, Yamakage Michiaki	4. 巻 2021
2. 論文標題 Acute Hypobaric and Hypoxic Preconditioning Reduces Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cardiology Research and Practice	6. 最初と最後の頁 1~7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2021/6617374	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2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Naoyuki Hirata
2. 発表標題 Cardioprotection of Nitrite
3. 学会等名 17th International Congress of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Terada H, Hirata N, Sawashita Y, Yoshikawa Y, Yamakage
2. 発表標題 Acute hypobaric hypoxia attenuates myocardial ischemia reperfusion injury in rats
3. 学会等名 Euroanaesthesia 2019（国際学会）
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	川口 亮一  (KAWAGUCHI Ryoichi)		
研究協力者	澤下 泰明  (SAWASHITA Yasuaki)		

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
---------	---------