

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19591804
 研究課題名（和文）気道平滑筋の収縮・弛緩機構の解明： β 遮断薬と Rho キナーゼ経路の関係
 研究課題名（英文）Mechanisms of contraction/relaxation of airway smooth muscle: relationship between β -antagonist and Rho-kinase pathway
 研究代表者
 柴田 治 (SHIBATA OSAMU)
 長崎大学・病院・准教授
 研究者番号：80136671

研究成果の概要（和文）： β 遮断薬のランジオロールは高濃度で濃度依存性にラット気管平滑筋を収縮させた。ランジオロールによる気道平滑筋の収縮には、ムスカリン様 M3 受容体、セロトニン受容体、または L 型カルシウムチャンネルを介したイノシトールリン脂質代謝の関与ではなく、Rho キナーゼ経路の関与が示唆される。

研究成果の概要（英文）：The results suggest that high concentrations of landiolol could cause airway smooth muscle contraction through the Rho-kinase pathway, but not through the PI response coupled with muscarinic M3 receptors, 5-HT receptors or the activation of L-type Ca(2+) channels.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	700,000	210,000	910,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
2009 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：麻酔・蘇生学

科研費の分科・細目：麻酔学

キーワード：ラット、気道平滑筋、 β 遮断薬、Rho キナーゼ

1. 研究開始当初の背景

ラット気管平滑筋を用いた収縮実験では、ゆっくりとした収縮を起こす薬剤は Ca^{++} 濃度に依存しない Rho キナーゼ経路を介して収縮をおこすことが示唆された (Shibata O et al. AnesthAnalg 2006;102:1121-1126) が、

選択的 β_1 遮断薬であるランジオロールは濃度を高めて行くとゆっくりとした強い収縮をおこし、20 分以上かけてプラトーに達し、収縮は 90 分以上持続することを発見した。

2. 研究の目的

ラット気管平滑筋を用いた収縮実験では、ゆっくりとした収縮を起こす薬剤は Ca^{++} 濃度に依存しないRhoキナーゼ経路を介して収縮をおこすことが示唆された (Shibata O et al. *AnesthAnalg* 2006;102:1121-1126) が、選択的 β_1 遮断薬であるランジオロールは濃度を高めて行くとゆっくりとした強い収縮をおこし、20分以上かけてプラトーに達し、収縮は90分以上持続することを発見した。

ランジオロールは、頻脈性不整脈、高血圧、急性の心筋虚血などの治療に用いられている有用な薬剤であるが、ランジオロールによる気道平滑筋の収縮の細胞内メカニズムは解明されてはいない。今回、ラット気管を用い、選択的 β_1 遮断薬のランジオロールの気道平滑筋に対する作用メカニズムについて調べた。

3. 研究の方法

正常ラットにおける選択的 β_1 ブロッカーのRhoキナーゼ経路に対する作用を調べる。

雄性ウイスターラット(250-350g)を用い、ネンブタール麻酔後気管をとりだす。

(1) β 遮断薬それ自身が気道平滑筋の収縮を起こすがどうか調べるために、気管を幅3 mmのリングに切断し、酸素95%二酸化炭素5%で通気したKrebs-Henseleit (K-H)液中で1 gの静止張力を与え定常状態をえたのち、 β 遮断薬を0.1 μ Mから1000 μ Mまで段階的に投与し、張力を調べる。このとき薬剤投与から収縮し始め、プラトーに達するまで20分かかる β 遮断薬もあるので、十分余裕をもって次の濃度の β 遮断薬を加える。

(2) もし収縮させるものがあれば、収縮の機序は何を介しているのか知るために、ED₈₀の β 遮断薬を投与して気管を収縮させ、20分後にRhoキナーゼ阻害薬を始め、カルシウム拮抗薬、K_{ATP}チャンネル開口薬、抗コリン薬、 β_2 刺激薬等を段階的に投与し、気管平滑筋の張力を測定する。Rhoキナーゼ阻害薬としてはY-27632やファスジルを用いる。

(3) β 遮断薬による収縮がイノシトールリン脂質代謝を介しているかどうか知るために、気管を縦切開後、幅1 mmに切断し、10mM LiClと³Hミオイノシトールを含むK-H液にED₈₀の β 遮断薬と各種濃度のファスジルを投与し、60分間インキュベートする。反応停止液を加え、イノシトールリン脂質 (PI) 代謝の代謝産物の³Hイノシトール1リン酸 (³HIP₁)をカラムクロマトグラフィーで分離し、それを液体シンチレーションカウンターで測定する。

4. 研究成果

ラット気管リングのランジオロール誘発性収縮の記録を図 2A に示す。

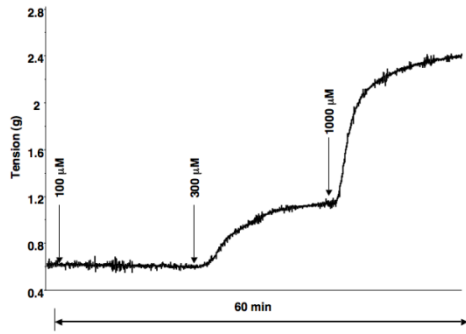


Figure 2A

図 3A はランジオロール誘発性収縮に対する 4-DAMP、ケタンセリン、ファスジル、ニカルジピンの影響を示す。ランジオロール誘発性収縮は 4-DAMP、ケタンセリン、ニカルジピンによって抑制されなかったが、ファスジルによって 30 μ M 完全に抑制された。

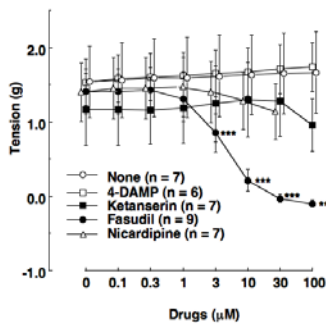


Figure 3A

図 4 はランジオロール誘発性収縮に対するイソプロテレノール、サルブタモール、アミノフィリンおよびドブタミンの影響を示す。ランジオロール誘発性収縮はイソプロテレノールによって完全に抑制されたが、サルブタモールでは 86%、アミノフィリンでは 79%であった。一方、ドブタミンでは抑制されなかった。

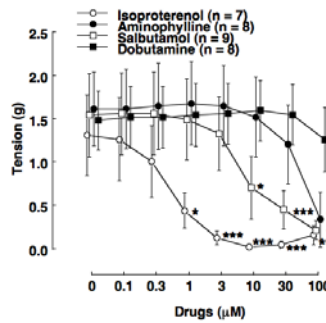


Figure 4

ランジオロール誘発性収縮と同程度の収縮を起こすアセチルコリン誘発性収縮に対するイソプロテレノールの影響を図 5 に示す。アセチルコリン誘発性収縮はイソプロテレノールによって 29%しか抑制されなかったのに対して、ランジオロール誘発性収縮はイソプロテレノールによって完全に抑制された (図 4)。

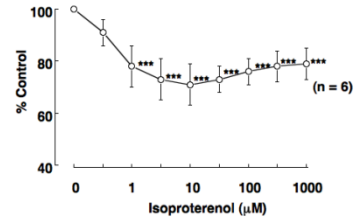


Figure 5

イノシトール 1 リン酸産生に対するランジオロールおよびカルバコールの影響を図 6 に示す。

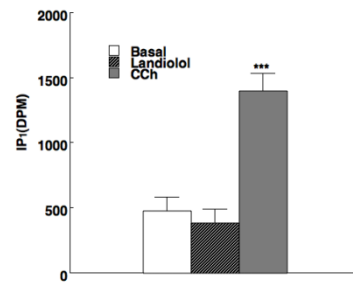


Figure 6

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 3 件)

1. Matsunaga S, Shibata O, Nishioka K, Tsuda A, Makita T, Sumikawa K. Effects of amitriptyline, a tricyclic antidepressant, on smooth muscle reactivity in isolated rat trachea. J Anesth. 2009;23(3):385-91.

2. Shibata O, Nishioka K, Yamaguchi M, Makita T, Sumikawa K. High concentrations of landiolol, a beta(1)-adrenoceptor antagonist, stimulate smooth muscle contraction of the rat trachea through the Rho-kinase pathway. J Anesth. 2008;22(1):21-6.

3. Saito M, Shibata O, Tsuda A, Makita T, Sumikawa K. Hyperosmolarity attenuates the contraction of rat trachea through the inhibition of phosphatidylinositol response. Acta Medica Nagasakiensia 2008; 52:107-110.

[学会発表] (計 3 件)

1. O. Shibata, S. Matsunaga, A. Tsuda, T. Makita, K. Sumikawa. Fasudil, a Rho-kinase inhibitor, potentiates the relaxant effect of sevoflurane on continuous electrical field stimulation-induced smooth muscle contraction of rat trachea. Eur J Anaesthesiol 2009; 26 (Suppl 45): 9AP5-3

2. 柴田治、松永祥志、津田敦、榎田徹次、澄川耕二
ラット気管平滑筋における連続性フィールド電気刺激誘発性収縮に対するセボフルレンおよびRhoキナーゼ阻害薬ファスジルの影響 日本麻酔科学会56、2009、神戸

3. 柴田治、松永祥志、津田敦、榎田徹次、澄

川耕二

ラット気管平滑筋における Electrical field stimulation 誘発性収縮に対する Rho キナーゼ阻害薬ファスジルの影響

日本麻酔科学会 55、2008、横浜

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柴田 治 (SHIBATA OSAMU)

長崎大学病院 准教授

研究者番号：80136671

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：