

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09328

研究課題名(和文) 肥大心に対する心筋保護戦略 ROCKの役割解明と制御

研究課題名(英文) Myocardial protection strategies for hypertrophic heart -Role of ROCK-

研究代表者

前川 拓治 (Maekawa, Takuji)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員

研究者番号：10336167

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：今回、病的な心筋肥大の形成に重要な役割を果たすとされるRho-A/Rho-kinase経路(ROCK)に着目し、肥大心における薬理的コンディショニング効果減弱のメカニズム解明とその対処法について検討した。セボフルランが正常心において薬理的コンディショニング効果を発揮することはよく知られている。今回、ラットの心肥大モデルを用いて、セボフルランの心コンディショニング効果が正常心と比較して減弱することを示した。この減弱機序について、ROCKの関与を証明すべく現在追加実験を行っているところである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々麻酔科医にとって、病的な肥大心を有する患者は比較的遭遇頻度が高く、特に心臓手術や近年増加している経カテーテル大動脈弁置換術(TAVI)の麻酔管理など心筋虚血再灌流保護を期待する場面も多いと考えられる。心筋保護の失敗は予後の悪化を招く。周術期において心コンディショニング法の臨床応用が進展しない理由として、肥大心を含む病的な心における保護法が確立していないことが挙げられる。病的な心に対する確実な保護法の確立は、今後の課題であり、臨床応用の拡大に大いに寄与する。したがって、本研究の成果から、肥大心に対する有効な保護法を確立することは、高齢者の心臓手術やTAVIの周術期管理に大きく貢献する。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on the Rho-A/Rho-kinase pathway (ROCK), which is thought to play an important role in the formation of pathological myocardial hypertrophy, to elucidate the mechanism of the weakened pharmacological conditioning effect in the hypertrophic heart and how to deal with it. It is well known that sevoflurane exerts pharmacological conditioning effects in the normal heart. In the present study, using a rat model of cardiac hypertrophy, we demonstrated that the cardiac conditioning effect of sevoflurane is attenuated compared to that of the normal heart. We are currently conducting additional experiments to prove the involvement of ROCK in this weakening mechanism.

研究分野：循環薬理学

キーワード：心筋虚血再灌流 肥大心 セボフルラン ROCK

1. 研究開始当初の背景

高血圧や糖尿病などの生活習慣病、虚血性心疾患や大動脈弁狭窄症など様々な急性および慢性の心疾患から心筋肥大が惹起される。これらの病的な心筋肥大の形成過程には、様々な機序が報告されており、その詳細な解明や予防法の確立は循環器領域におけるトピックである。

ROCK は多くの動物実験の結果から心筋肥大の進展に関わることが知られている。活性酸素の産生とアンギオテンシン に起因する心筋肥大を促進することがそのメカニズムとして考えられている。

心筋虚血再灌流保護の観点からも Rho-A/Rho-kinase 経路 (ROCK) の関与を示唆する報告が多くみられる。これらの報告の中で、Rho-kinase 阻害薬の保護機序については、活性酸素の産生抑制を重要視する報告がある。

一方で、心筋虚血再灌流保護の研究領域では、糖尿病や加齢は保護効果を阻害する因子であることが明らかになっており、臨床において心筋保護効果を十分に得るためにはこれらの病的な心における保護効果の阻害機序の解明や対策法の確立が重要とされる。肥大心に対する虚血再灌流保護効果の減弱について、いくつかの報告があるが、保護効果の減弱を生じるとする一方で正常心と同等であるとする報告もある。様々な減弱機序について検討されているが、確立した概念とは言えない。麻酔薬の肥大心に対する虚血再灌流保護について論じた報告も散見される。セボフルランのコンディショニング効果は、肥大心において減弱しない (Larsen JR. Acta Anaesthesiol Scand 2009;53:496-504) あるいは減弱する (Ma LL. Shock 2013;40:217-21) との相反する報告が見られる。前者ではブタに 1.5 MAC 程度のセボフルランを実験開始から終了まで吸入させているのに対し、後者ではラットに虚血前の 1 MAC の吸入のみであり、種や投与方法、吸入濃度の差が相反する結果につながっていることが考えられるが、減弱機序については言及していない。イソフルランのプレコンディショニング効果が正常ラットと比較して肥大心ラットにおいて減弱する (Chen CH. J Cardiothorac Vasc Anesth 2016;30:1317-23) とする報告があるが、効果減弱の機序として、活性酸素の産生抑制の程度に差があることを挙げている。

吸入麻酔薬の ROCK に対する影響として、ブタの冠動脈を用いた研究では、Sphingosylphosphorylcholine で誘発した冠動脈攣縮に対し、セボフルランは濃度依存性に攣縮を抑制し、プロポフォールは抑制しなかった。この機序として、セボフルランの Rho-kinase 抑制によるものと結論付けている (Kinoshita H. Anesth Analg 2007;105:325-9)。セボフルランの虚血再灌流保護効果が減弱する場面では、吸入濃度を上げることで補填できることが糖尿病など他の病的な心において示されている。あるいは減弱する機序を他の薬剤を併用することで補填することも利用可能な手法である。

2. 研究の目的

動物実験において、肥大心に対する虚血あるいは薬理的コンディショニング効果の減弱が報告されているが、その機序については十分に解明されていない。今回、病的な心筋肥大の形成に重要な役割を果たすとされる Rho-A/Rho-kinase 経路 (ROCK) に着目し、肥大心における薬理的コンディショニング効果減弱のメカニズム解明とその対処法について検討する。具体的には、圧負荷によって心筋肥大を惹起させたラットの心筋虚血再灌流モデルを用いて、薬理的コンディショニングにおける ROCK のかわりについて検討する。これまでの研究において、セボフ

ルランの肥大心における虚血再灌流効果については解明されていない。本研究では、セボフルランと対照薬としての Rho-kinase 阻害薬ファスジルの肥大心におけるコンディショニング効果についての検討と保護メカニズムとしての ROCK の関与について解明する。保護効果の検討においては、心筋梗塞サイズの検討に加え、圧 用量曲線の解析を用いた左室ダイナミクスについても評価する。

3 . 研究の方法

圧負荷による肥大心ラットおよび正常ラットの心筋虚血再灌流モデルを用いて以下の検討を行う。

(1) 圧負荷による肥大心ラットモデル (POH ラット) の作成

Wistar ラットをペントバルビタール麻酔下に開腹し、左腎動脈上・上腸間膜動脈下のレベルで大動脈縮窄手技 (65% 狭窄) を行う。6 週間通常管理下で飼育し、実験に用いる (POH ラット群)。また、同週齢の Wistar ラットで開腹後に大動脈露出のみを行い狭窄手技を行わないものを同様に 6 週間飼育し、対照群として使用する (正常ラット群)。

(2) 虚血再灌流 : 左冠動脈前下行枝 (LAD) 40 分間の虚血後、120 分間の再灌流を行う。

(3) プロトコール

正常ラット群 (Control)、POH ラット群 (POH) を併せて以下の計 8 群に分ける。

心筋虚血前に溶媒あるいは 1MAC、2MAC のセボフルランあるいは Fasudil の投与を行う。

Control+溶媒、Control+1MAC セボフルラン、Control+2MAC セボフルラン、Control+Fasudil、POH+溶媒、POH+1MAC セボフルラン、POH+2MAC セボフルラン、POH+Fasudil

(4) 検討項目

心筋梗塞サイズ測定 : Triphenyltetrazolium chloride を用いて、虚血領域 (Area at risk: AAR) を梗塞部位 (Infarct Area: IA、不染) と非梗塞部位 (赤染) に区別し、心筋梗塞サイズを IA/AAR として算出する。

Rho-kinase 活性の評価 : ウェスタンブロッティング法により Rho-kinase の特異的基質である myosin phosphatase target subunit (MYPT-1) のリン酸化を評価する。

左室圧 用量曲線による左室ダイナミクスの解析

ADVantage™ 技術を用いて、安定期、心筋虚血前、再灌流 120 分後の各ポイントにおいて左室の収縮能および拡張能を含めた左室ダイナミクスの評価を行う。

4 . 研究成果

(1) 正常心 (非 POH ラット) において、セボフルラン 1MAC、2 MAC はいずれも心筋梗塞サイズ減少させ、濃度依存性の効果を認めた。左室ダイナミクスの評価においても同様の結果を得た。これは今までの他の研究者の報告と矛盾しない。

(2) 正常心 (非 POH ラット) において、ファスジル 0.5 mg/kg の投与は、心筋梗塞サイズを減少させた。これは、当施設の以前の研究と同様の結果である。

(3) POH ラットにおいて、セボフルラン 1MAC はコントロール群と比較して心筋梗塞サイズを減少させなかった、2 MAC では、コントロールおよび 1 MAC 群と比較して有意な梗塞サイズ減少効果を認めしたが、正常心に対する効果と比較すると軽微であった。

(4) POH ラットにおいて、ファスジル 0.5 mg/kg の投与はコントロール群と比較して心筋梗塞サイズをやや減少させたが、有意差はなかった。

(5) 現在、POH ラットの心筋虚血再灌流において Rho-kinase 活性の評価を行っている所であり、

POH ラットにおけるセボフルランの心筋保護効果の減弱に関する機序が明らかになる可能性がある。この結果を得て、今後 POH ラットに対するファスジル増量（1 mg/kg）による効果、セボフルラン + ファスジルの併用効果について検討する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ichinomiya Taiga, Murata Hiroaki, Sekino Motohiro, Sato Shuntaro, Higashijima Ushio, Matsumoto Shuhei, Ishizaki Hironori, Yoshitomi Osamu, Maekawa Takuji, Eguchi Susumu, Hara Tetsuya	4. 巻 5
2. 論文標題 Postoperative coagulation profiles of patients undergoing adult-to-adult living donor liver transplantation—A single-center experience	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transplantation Reports	6. 最初と最後の頁 100037 ~ 100037
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.tpr.2019.100037	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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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