

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月28日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591989

研究課題名（和文）麻酔薬ポストコンディショニングにおける心筋ミトコンドリア保護効果に関する研究

研究課題名（英文）Protective effect on cardiac mitochondria in anesthetic postconditioning

研究代表者

三尾 寧（MIO YASUSHI）

東京慈恵会医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00266686

研究成果の概要（和文）：

麻酔薬ポストコンディショニングにおいては、その作用発現に細胞質成分を必要とせず、ミトコンドリアの保護効果を有することが確認された。また周術期に頻用される狭心症治療薬ニコランジルにおいても、同薬剤が一酸化窒素ドナーとなることによって細胞内シグナリング機構を必要としない直接的な保護作用を持つことが確認された。このような細胞質に依存しない保護作用は、作用発現が迅速である薬理的ポストコンディショニングに適応できることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Volatile anesthetic directly protects mitochondrial function independently from cytosolic signaling pathways in anesthetic postconditioning. Nicorandil, coronary vasodilatation agent used in the management of angina during perioperative period, also directly protects isolated mitochondrial bioenergetics through nitric oxide, independent of its effects on the cytosolic signal transduction cascade. These results indicate that immediate protective benefits on mitochondrial function independently from the cytosolic environment may contribute to the cardioprotective effects provided by pharmacological postconditioning.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：ミトコンドリア・心筋・臓器保護

1. 研究開始当初の背景

長時間の心筋虚血後の再灌流早期に麻酔薬を投与することによって、引き続いて発生する虚血・再灌流障害が軽減されることは麻酔薬ポストコンディショニングとして広く知られている。虚血発生以前に麻酔薬を投与することによりその後の長時間の虚血による再灌流障害を軽減させる麻酔薬プレコンディショニングも概念が提唱されてから10年が経過し臨床への応用もされているが、虚血の発生が前提にあるため対象は心臓手術に限られている。これに反して麻酔薬ポストコンディショニングは虚血発生後に麻酔薬を投与することによって引き起こされるため、心臓手術は言うまでもなく非心臓手術においても予期せぬ心イベントが発症した際に適応が可能となり、プレコンディショニングと異なりより広い実際の臨床の場においての応用が期待されている。

麻酔薬ポストコンディショニングのメカニズムとしてはいくつかの機序が提唱されている。再灌流初期の麻酔薬投与によって細胞死を防ぐ方向性を持った細胞内シグナリングが活性化される事により保護効果が誘導されるといった結果等が報告されている。しかしながらポストコンディショニングの効果はプレコンディショニングと異なり再灌流後速やかに発現するものであり、細胞内シグナリングの変化のみではポストコンディショニングのメカニズムとしては不十分であると考へられる。

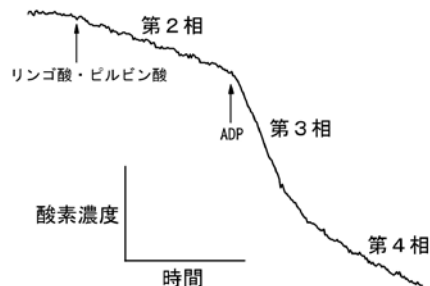
2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、迅速な作用発現を有するポストコンディショニングのメカニズムとして、細胞内のシグナリングには依存しない直接的なミトコンドリア保護効果に関与しているか否かを検証することにある。コンディショニング効果に重要な役割を果たしているミトコンドリアの呼吸能とATP産生能に着目し、ラット単離心筋ミトコンドリアにポストコンディショニングを適応させることによりそのメカニズムを明らかにする。

(2) 近年、麻酔薬以外のコンディショニング効果も注目されている。周術期に用いることの多い狭心症治療薬であるニコランジルについて、ミトコンドリア単独に対する保護効果を有するかを検討し、周術期使用薬のポストコンディショニングへの適応が可能か否かを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) ラット左心室筋よりミトコンドリアを過去の報告と同様な方法により分離する。緩衝液にてミトコンドリアを希釈した後に酸素電極を用いてミトコンドリア溶液の酸素濃度の変化を測定する。ピルビン酸とリンゴ酸をミトコンドリア溶液中に加えることにより電子伝達系が賦活化され、酸素濃度は徐々に低下するが、この期間を第2相呼吸という。次にADPを加えるとそれらがATPに変換され酸素濃度は急激に低下する(第3相)。その後投与したADPが全てATPに変換されると酸素濃度の低下は再び緩徐となる(第4相)。この第3相と第4相の酸素濃度低下速度の比をrespiratory control ratio(RCR)と言い、一般に値が大きいほどミトコンドリアの機能が保持されているとされる。



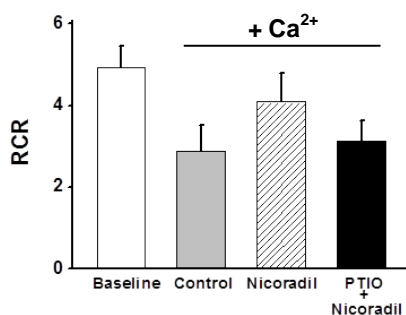
(2) 麻酔薬によるポストコンディショニングプロトコールを分離ミトコンドリアに適応する。酸素電極の測定チャンバーを密封することにより得られる低酸素暴露の前と、再度チャンバーを開放することにより得られる再酸素化の後に、上記RCRを測定する。低酸素前に麻酔薬を投与することでプレコンディショニングを、再酸素化早期に麻酔薬を投与することでポストコンディショニングを適応する。細胞質の散在しない状況下でRCRの変化がプレ・ポスト両コンディショニングによってどのような影響を受けるかを観察する。同時に同プロトコールにおいてATP産生速度も測定する。

(3) 虚血再灌流時における細胞障害の要因のひとつにカルシウム負荷があげられる。周術期使用薬であるニコランジルの投与が、カルシウム過負荷によって低下する上記RCRにどのような影響を及ぼすか、分離ミトコンドリアを用いて検討する。

4. 研究成果

(1) 分離ミトコンドリアにプレコンディショニングを適応した群では RCR、ATP 産生速度とも低下したが、ポストコンディショニング群においては、RCR、ATP 産生速度ともその値が保持された。In vivo で麻酔薬プレコンディショニングを適応した後分離したミトコンドリアでは再酸素化後 RCR や ATP 産生速度の保持が認められていることより、麻酔薬プレコンディショニングの発現は細胞質成分が必要であるが、ポストコンディショニングにおいてはミトコンドリア単独で作用が発現することが確認された。ミトコンドリアはコンディショニング作用において中心的な役割を担っており、心筋ミトコンドリアの保護は心筋の保護作用に直結する。細胞質の有無に依存しない保護効果は作用発現が迅速である麻酔薬用ポストコンディショニングの作用機所の一つであると考えられた。

(2) カルシウム過負荷で RCR は低下したが、ニコランジル存在下では RCR の低下は軽度であった。また、この保護効果は一酸化窒素スカベンジャーの投与により消失した。ニコランジルのミトコンドリア保護効果は、細胞質成分を必要とせず、ニコランジルが一酸化窒素ドナーとなることによって直接的に発現すると考えられ、ニコランジルの保護効果の発現は迅速であると推測することができた。周術期使用薬の心筋保護効果は主にプレコンディショニングモデルで検討されているが、ニコランジルは細胞質に依存しない保護効果を持つことより、麻酔薬ポストコンディショニングのように虚血発生直後に投与を行っても心筋保護効果を期待できると考えられた。



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)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① 三尾寧、麻酔薬を用いた心筋保護におけるミトコンドリアの役割、日本臨床麻酔学会誌、査読無、32 巻、2012、145-150
- ② 三尾寧、心筋虚血再灌流を防ぐ - ポストコンディショニング - 、麻酔、査読無、59 巻、2010、S16-S24

[学会発表] (計 4 件)

- ① 三尾寧、Mitochondria and pharmacological cardioprotection、2011 International Symposium for Academic Exchange between Anesthesiologists and Basic Scientists、2011 年 9 月 11 日、千葉
- ② 三尾寧、周術期の心筋保護 - 基礎系 - 、日本麻酔科学会第 58 回学術集会、2011 年 5 月 19 日、神戸
- ③ 三尾寧、麻酔薬による心筋保護におけるミトコンドリアの役割、日本臨床麻酔学会第 30 回大会、2010 年 11 月 4 日、徳島
- ④ 三尾寧、心筋虚血再灌流を防ぐ、日本麻酔科学会第 57 回学術集会、2010 年 6 月 3 日、福岡

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

三尾 寧 (MIO YASUSHI)

東京慈恵会医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00266686

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：