

令和 6 年 4 月 29 日現在

機関番号：32666
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2021～2023
課題番号：21K08934
研究課題名(和文) microRNAを介した全身麻酔作用機序の検討

研究課題名(英文) The effect of Anesthetics via microRNA

研究代表者

石川 真士 (Ishikawa, Masashi)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30714745

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：「敗血症における腎機能障害に対する麻酔薬の保護作用の検討」において敗血症ラットに対し、デクスメトミジンは腎障害を増悪、ミダゾラムは腎保護効果を示した。デクスメトミジン群はNF- κ Bの発現増加を、ミダゾラム群でNF- κ B発現低下が見られた。敗血症性腎障害において、ミダゾラムがNF- κ B経路を介して腎保護効果を示す可能性が示唆された。「癌細胞に対する循環作動薬の抗腫瘍、腫瘍促進作用の検討」では、ノルアドレナリンによるHRAS、VEGFA、TGFBR2発現変化を遮断薬投与によりキャンセルすることができ、術中遮断薬の投与がNAD反応の阻害を介して肺癌の術後予後を改善する可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全身麻酔の作用は不明な点が多く、我々は麻酔薬は敗血症における腎機能障害や癌細胞に影響するのではないかと考え検討した。敗血症においてはデクスメトミジンの腎障害増悪、ミダゾラムの腎保護作用とそれぞれの機序を、肺癌細胞においては遮断薬による腫瘍細胞抑制効果とその機序を示すことができた。本研究の結果は、周術期管理の安全だけでなく長期予後の改善につながり、未だ詳細が不明な麻酔薬の機序を明らかにする一助になる。

研究成果の概要(英文)：[The effect of anesthetics for septic acute kidney injury (AKI)]
Dexmedetomidine exacerbated renal dysfunction in septic rats, while midazolam had a renal protective effect via NF- κ B pathway. It was suggested that midazolam may have a renal protective effect via NF- κ B pathway in septic AKI.

[The pro- or anti-cancer effect of sympathomimetic drugs] It was shown that norepinephrine-induced changes in HRAS, VEGFA, and TGFBR2 expression could be canceled by administration of α -blocker. Intraoperative administration of α -blocker may improve the postoperative prognosis of lung cancer through inhibition of the NAD reaction.

研究分野：Anesthesiology

キーワード：Anesthetics

1. 研究開始当初の背景

全身麻酔はその使用経験、臨床研究の結果に基づき使用されているが、その機序は不明な点が多い。麻酔薬による疾患への影響、つまり、敗血症における腎機能障害や癌細胞への影響を検討することは、周術期管理の安全だけではなく長期予後の改善につながり、未だ詳細が不明な麻酔薬の機序を明らかにする一助になると考えた。

申請者らは肝臓、肺および脳において吸入麻酔薬セボフルランや静脈麻酔薬プロポフォールによる microRNA (miRNA) 発現変化に関して検討した (Anesthesiology 2012; 117(6): 1245-52, Biomed Res 2012; 33(5): 255-63., Mol Med Rep 2014; 5(5): 1715-22.)。すべての臓器において、麻酔薬により 50~80%の miRNA に発現変化を認めた。さらに、敗血症における肺障害 (Biomed Rep. 2015 May;3(3):408-412.)、肝 (PLoS One. 2015 May 14;10(5):e0125866.) や腎 (Int J Mol Med. 2020;45(4):1141-1149.) における虚血再灌流障害に対する miRNA を介した麻酔薬の保護作用を明らかにした。これら結果より、他の疾患においても麻酔薬は何らかの作用を有するのではないかということが新たな課題となり、敗血症における腎障害、癌を対象とした。

2. 研究の目的

「敗血症における腎機能障害に対する麻酔薬の保護作用の検討」、「癌細胞に対する麻酔薬の抗腫瘍、腫瘍促進作用の検討」、「癌細胞に対する循環作動薬の抗腫瘍、腫瘍促進作用の検討」と各疾患に対する周術期薬剤の作用解明を目的とする。本研究の結果は、周術期管理の安全だけではなく長期予後の改善につながり、未だ詳細が不明な麻酔薬の機序を明らかにする一助になると考えた。

3. 研究の方法

敗血症における腎機能障害に対する麻酔薬の保護作用の検討

48 匹の雄 Wistar ラットに、腹腔内投与でリポ多糖 (LPS、8.3 mg kg⁻¹) を投与した敗血症モデル (コントロール: 生理食塩水投与) を用いた。

投与した。24 時間後、ラットを特定の麻酔グループ (各 n=6) に割り当て、次のように 6 時間曝露した。C、コントロール (麻酔なし)、D、デクスメトミジン (5 μg kg⁻¹ h⁻¹)、M、ミダゾラム (0.6 mg kg⁻¹ h⁻¹)、または P、プロポフォール (10 mg kg⁻¹ h⁻¹)。麻酔終了時に血清クレアチニン (Cr) とシスタチン C (CysC) を測定した。腎臓サンプルの免疫蛍光法にて機序を検討した。

癌細胞に対する麻酔薬の抗腫瘍、腫瘍促進作用の検討

ヒト肺癌細胞 (A549 細胞) を用いて、対象群、プロポフォール群、デクスメトミジン群の 3 群で比較検討する。薬剤曝露は 2 時間とする。癌細胞の活動性は、麻酔前、麻酔 24 時間後、48 時間後において細胞周期 (蛍光免疫染色法: Ki67 染色)、増殖能 (CCK8 assay)、遊走能評価 (創傷治癒アッセイ) を行う。6 時間後に癌進展に関わる miRNA、mRNA を qRT-PCR で測定する。さらに下流 pathway は、qRT-PCR にて有意差のあった miRNA の mimic/inhibitor を投与し、その発現を増幅あるいは抑制し、麻酔 24 時間後に Western blot 法、免疫蛍光法にてタンパク質の発現変化を解析する。

癌細胞に対する循環作動薬の抗腫瘍、腫瘍促進作用の検討

ノルアドレナリン (NAD) で処理したヒト肺腺癌細胞 (A549) に対する遮断薬 (プロプラノロール (P) およびランジオロール (L)) の作用を検討した。A549 を、各薬剤または併用薬剤に 2 時間曝露した。コントロール群 (C) には培地のみ、NAD 群は 10 μmol/L、P 群は 10nmol/L、L 群は 1000nmol/L であった。細胞増殖は、CCK8 assay および Ki67 の免疫蛍光染色にて評価した。HRAS、TGFB2、VEGFA を主要なターゲットとして rt-PCR array を実施した。

4. 研究成果

敗血症における腎機能障害に対する麻酔薬の保護作用の検討

LPS 投与群のうち、D 群では腎機能障害が悪化した (L-C vs L-D: Cr P=0.002、CysC P=0.004) —

方、M群では腎機能が改善した(L-C vs L-M: Cr P=0.009)。腎尿細管の免疫蛍光分析では、D群ではNF- κ Bの発現増加(L-C vs L-D: NF- κ B P=0.002、リン酸化NF- κ B P=0.018)、および、IKK α の軽鎖ポリペプチド遺伝子エンハンサーの阻害(L-C vs L-D: IKK α P=0.002、リン酸化IKK α / β P=0.004)が見られたが、M群ではNF- κ Bの発現減少が見られた(L-C vs L-M: NF- κ B P=0.003、リン酸化NF- κ B P=0.013)。デクスメトミジン投与は敗血症性AKIを悪化させる可能性があるが、ミダゾラムはNF- κ B経路を介して腎機能を維持する可能性がある。[J Nippon Med Sch. 2023;90(5):387-397.]

癌細胞に対する麻酔薬の抗腫瘍、腫瘍促進作用の検討
現在、薬剤負荷による細胞活動の評価を行っている段階である。

癌細胞に対する循環作動薬の抗腫瘍、腫瘍促進作用の検討
NAD群ではコントロール(C)群と比較して細胞増殖が促進され(NAD vs C: 1.15 ± 0.04 vs 1.00 ± 0.07 p=0.035)、免疫染色ではKi67の発現が高かった(NAD vs C: 2.16 ± 0.27 vs 1.00 ± 0.29 , p<0.001)。一方で、P、L投与によりNADによる細胞増殖効果はキャンセルされた(Ki67+: NAD 2.16 ± 0.27 vs NP 1.11 ± 0.34 vs NL 1.22 ± 0.19 , NAD vs NP: p<0.001, NAD vs NL: p<0.001, NP vs NL: p>0.001)。NAD群でHRASとVEGFAは高く、TGFBR2の発現が低かったのに対し、NP群とNL群では有意な変化は見られなかった。つまり、NADによるHRAS、VEGFA、TGFBR2発現変化はP、Lによりキャンセルされており、術中遮断薬の投与がNAD反応の阻害を介して肺癌の術後予後を改善する可能性があることを示唆している。

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 0件）

1. 著者名 Hata Akiko, Yamamoto Makiko, Iwasaki Masae, Morita Tomonori, Ishikawa Masashi, Sakamoto Atsuhiro	4. 巻 90
2. 論文標題 Dexmedetomidine Might Exacerbate Acute Kidney Injury, While Midazolam Might Have a Postconditioning Effect: A Rat Model of Lipopolysaccharide-Induced Acute Kidney Injury	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Nippon Medical School	6. 最初と最後の頁 387 ~ 397
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1272/jnms.JNMS.2023_90-406	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 富張雅宏
2. 発表標題 ヒト肺癌細胞において、ノルエピネフリン投与は増殖能と 遊走能を亢進し、プロプラノロール投与はこれを抑制する。
3. 学会等名 日本麻酔科学会 第69回学術集会
4. 発表年 2022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
研究分担者	岩崎 雅江 (Iwasaki Masae) (20744428)	日本医科大学・医学部・講師 (32666)	
研究分担者	坂本 篤裕 (Atsuhiko Sakamoto) (30196084)	日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授 (32666)	
研究分担者	間瀬 大司 (Mase Hiroshi) (60614831)	日本医科大学・医学部・講師 (32666)	

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