

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：15401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20952

研究課題名（和文）ダントロレンのミトコンドリア機能を介した心肥大抑制効果の解明

研究課題名（英文）Mitochondrial function mediated inhibition of cardiac hypertrophy by dantrolene.

研究代表者

里見 志帆 (Satomi, Shiho)

広島大学・医系科学研究科（医）・助教

研究者番号：60778299

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000 円

研究成果の概要（和文）：ダントロレンは、リアノジン受容体を介し小胞体からのカルシウム放出を抑制する。全身麻酔薬による悪性高熱症の治療薬として知られる薬剤であるが、近年、ダントロレンが示す心筋肥大抑制効果が注目されている。そこで今回、ダントロレンによるリアノジン受容体を介したカルシウム制御機能とミトコンドリア機能との関係性を検討することで、心筋細胞内のカルシウムダイナミクスがミトコンドリア機能に与える影響を調べた。その結果、ダントロレンがリアノジン受容体を介し細胞内カルシウムの放出を抑制すること、さらにミトコンドリア融合にも作用する可能性が示唆された。これらのことよりダントロレンが心筋肥大に有効に働く可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心筋肥大に対する治療、予防薬剤は研究されているが、その患者数は超高齢化社会の影響で増え続け、今後も増加することが予想されている。ダントロレンは全身麻酔時に発症する悪性高熱症の治療薬として用いられているが、カルシウムの放出抑制に大きく関わっているため、他にもいろいろな作用が報告されており、ドラッグ・リポジショニングの観点からも注目されている。今回の研究成果によってダントロレンの心筋肥大に対する生体内の役割が明らかになることで、心筋肥大抑制の機序解明につながる可能性がある。また、心筋肥大・心疾患患者の予後改善につながれば、社会的意義が非常に高いと思われる。

研究成果の概要（英文）：Dantrolene inhibits calcium release from the endoplasmic reticulum via ryanodine receptors. Although dantrolene is known as a drug for the treatment of malignant hyperthermia caused by general anesthesia, its effect of inhibiting myocardial hypertrophy has recently been attracting attention. In the present study, we investigated the relationship between calcium regulation via ryanodine receptors and mitochondrial function by dantrolene, and the effect of calcium dynamics in cardiac myocytes on mitochondrial function. The results suggest that dantrolene inhibits intracellular calcium release via ryanodine receptors and may also act on mitochondrial fusion. These findings suggest that dantrolene may be effective in myocardial hypertrophy.

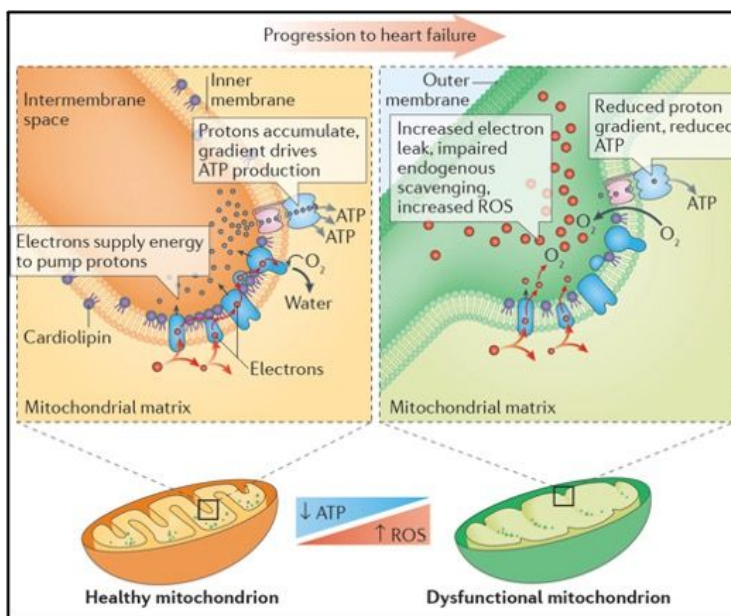
研究分野：麻酔科学

キーワード：心不全 心肥大 ミトコンドリア ダントロレン

1. 研究開始当初の背景

心不全の患者数は、超高齢化社会の影響を受け毎年 10,000 人ずつ増加している。しかし、その根本的な治療薬は未だ発見されておらず、さらなる研究が早急に必要分野の一つである。

今回、申請者らの研究グループは、悪性高熱症の治療薬として以前から用いられているダントロレンに着目した。悪性高熱症は、遺伝的素因を持つ患者が全身麻酔で使用される薬(吸入麻酔薬、筋弛緩薬)の投与をきっかけに、骨格筋細胞内の異常な代謝亢進をきたす疾患で、全身麻酔の合併症の一つである。ダントロレンは、骨格筋細胞の筋小胞体に存在するリアノジン受容体に結合し、筋小胞体から細胞質内へのカルシウム漏出を防ぐ作用を持つ。さらに、動物実験において、骨格筋と同様に心臓でも細胞内でのカルシウム放出を抑制するという報告があるが、その詳細なメカニズムは不明である。これまで、申請者らは心筋虚血時にミトコンドリアが果たす役割についての研究を行う中で、ミトコンドリア機能の虚血性心疾患に対する重要性を示してきた。(Satomi S et al. Life Sci 245:117368, 2020) 心不全においても、ミトコンドリア機能がその病態生理に深く関与していることが示唆されているが、ダントロレンがミトコンドリア機能にどのような影響を与えるか、また細胞内のカルシウムダイナミクスとミトコンドリア機能の関連については未知である。



心不全とミトコンドリア機能 (Nat Rev Cardiol 14: 238-250, 2017)

2. 研究の目的

近年、すでにヒトでの安全性が証明されている既存薬の新たな薬効を見つけたし、別の疾患の治療薬としての可能性を探る「ドラッグ・リポジショニング」という研究手法が注目されている。ダントロレンのミトコンドリア機能に与える影響を知るとは、細胞内でミトコンドリアの果たす役割の大きさを考え合わせると、虚血性心疾患など他の心疾患の治療薬への応用の可能性もある。また、心保護作用が明らかになれば、周術期の使用も検討され、新しい治療法の確立、研究において、ドラッグ・リポジショニングの観点も併せて、非常に有意義なものとなり得る。

心肥大抑制作用のある薬剤の報告は散見されるが、実臨床の場で用いられている薬剤は少ない。麻酔科領域では悪性高熱症の治療薬として確立されたダントロレンだが、その機序や働きに関して明らかになっていない部分も多い。そこで本研究では、以下の仮説を検討することを目的とする。

- ・ダントロレンは心不全モデルマウスで心肥大を抑制する
- ・ダントロレンの心肥大抑制作用には、カルシウムダイナミクスを介したミトコンドリア機能の改善が関与する

3. 研究の方法

本研究では、以下の三つの実験により、上記の仮説を検証する。

実験 1. マウスに麻酔、人工呼吸下に大動脈を露出し、大動脈結紮 (TAC) を行う。結紮部位には 24G 針を挟み、結紮後に針を抜くことで狭窄を作り出す。その後、4 週間飼育することにより心肥大モデルマウスを作成する。その他に、Sham モデル、ダントロレン投与モデルを用意し、それぞれ TAC 前後に心エコー検査を行い、心機能を比較する。最終的に、取り出した心筋の重量、形態を比較し、組織学的に調査する。

実験 2. 各モデルマウスの心臓から心筋細胞を抽出し、ダントロレンによるリアノジン受容体を介した細胞内カルシウム濃度の調節機能について、細胞内のカルシウムシグナル強度を蛍光顕微鏡で経時的に測定する。他の細胞内カルシウム流入経路に対する阻害薬 [2-アミノエトキシジフェニルホウ酸塩 (2-APB) など] を使用し、リアノジン受容体が関係するカルシウム制御機能のみを観察する。

実験3. 各モデルマウスの心臓から心筋細胞を抽出し、細胞内のミトコンドリアを試薬 (MitoTracker, Thermo Fisher Scientific 社) で染色し、形態学的な観察を行う。これらの解析結果をもとに、関連すると考えられるタンパク質発現 (mitofusin, Drp1 など) をウエスタンブロッティングで評価する。さらに、細胞内での活性酸素種や ATP の産生量の変化についても、各種検査キットを用いて評価する。

4. 研究成果

実験1. Sham モデルマウス、ダントロレン投与マウス、大動脈結紮 (TAC) を行い心肥大モデルを作成し 4 週間飼育したのちの心肥大マウス、心肥大ダントロレン投与マウスの 4 群を比較した。心エコー検査、心筋の重量は、Sham モデルマウスとダントロレン投与マウスでは有意差がなかった。この 2 群と比較して心肥大モデルは、心機能が低下、心筋の重量が有意に増加していた。心肥大マウス、心肥大ダントロレン投与マウスの 2 群を比較した場合、ダントロレン投与マウスで心機能が改善、心筋重量が減少していた (心室重量/体重 7.2 mg/g vs 5.0 mg/g)。

実験2. 細胞内のカルシウムシグナル強度を蛍光顕微鏡で経時的に測定した。他の細胞内カルシウム流入経路に対する阻害薬 [2-アミノエトキシジフェニルホウ酸塩 (2-APB) など] を使用し、リアノジン受容体に関係するカルシウム制御機能を観察した結果、ダントロレンによってカルシウムの制御が起こっていることがわかった。

実験3. Shamモデル、心肥大モデルマウス、ダントロレン投与モデルそれぞれの心臓から細胞を取り出した。これを利用しミトコンドリア膜電位をJC-1 assay にて蛍光検出し、ミトコンドリア染色色素 (MitoTracker)、光褪色後蛍光回復法 (FRAP assay) を用いて各群のミトコンドリアダイナミクス (ミトコンドリアの分裂と融合) を明らかにした。分裂・融合タンパクについてイムノブロット・real-time PCRを用いて調べることで、ミトコンドリアの融合タンパクであるOpa-1 がダントロレン投与モデルで有意に増加することを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Morio A, Tsutsumi R, Kondo T, Miyoshi H, Kato T, Narasaki S, Satomi S, Nakaya E, Kuroda M, Sakaue H, Kitamura T, Tsutsumi YM	4. 巻 31
2. 論文標題 Leucine induces cardioprotection in vitro by promoting mitochondrial function via mTOR and Opa-1 signaling.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nutr Metab Cardiovasc Dis	6. 最初と最後の頁 2979-2986
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.numecd.2021.06.025.	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 -

1. 著者名 Morio A, Tsutsumi R, Satomi S, Kondo T, Miyoshi H, Kato T, Kuroda M, Kitamura T, Hara K, Saeki N, Sakaue H, and Tsutsumi YM	4. 巻 13
2. 論文標題 Leucine imparts cardioprotective effects by enhancing mTOR activity and mitochondrial fusion in a myocardial ischemia/reperfusion injury murine model.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diabetol Metab Syndr	6. 最初と最後の頁 39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13098-021-00755-z.	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 -

1. 著者名 Hari Y, Satomi S, Murakami C, Narasaki S, Morio A, Kato T, Tsutsumi YM, Kakuta N, and Tanaka K.	4. 巻 36
2. 論文標題 Remimazolam decreased the incidence of early postoperative nausea and vomiting compared to desflurane after laparoscopic gynecological surgery.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Anesth	6. 最初と最後の頁 265-269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-022-03041-y.	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 -

1. 著者名 Sumii A, Miyoshi H, Kato T, Otsuki S, Horikawa YT, Satomi S, Saeki N, Tsutsumi YM.	4. 巻 24
2. 論文標題 Perioperative management of recurrent hemophagocytic syndrome in a pregnant woman: a case report.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Am J Case Rep	6. 最初と最後の頁 e939369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12659/AJCR.939369.	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6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 里見志帆、荒田久美子、近藤隆志、加藤貴大、堤保夫
2. 発表標題 成人心臓手術の術後管理に高流量鼻カニュラによる一酸化窒素吸入療法が有用であった2症例
3. 学会等名 日本麻酔科学会 中国・四国支部第58回学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 里見志帆、佐々木陽子、加藤貴大、神谷諭史、釋舎和子、堤保夫
2. 発表標題 低侵襲僧帽弁形成術後の早期抜管困難症例の検討
3. 学会等名 第49回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤貴大、三好寛二、里見志帆、神谷諭史、釋舎和子、横見央、堤保夫
2. 発表標題 外筒目盛付き静脈留置針の有用性の検討 続報
3. 学会等名 第49回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 横見央、加藤貴大、城戸健士郎、石井友美、正林大希、豊田有加里、神谷諭史、里見志帆、堤保夫
2. 発表標題 外筒目盛付き静脈留置針20Gの有用性の検討・続報
3. 学会等名 第50回日本集中治療医学回学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石井友美、加藤貴大、里見志帆、横見央、正林大希、城戸健士郎、豊田有加里、榑崎壮志、三好寛二、堤保夫
2. 発表標題 経カテーテル大動脈弁留置術中のレミマゾラム使用は、プロポフォルと比べてせん妄発症を増やさない
3. 学会等名 第50回日本集中治療医学回学术集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石井友美、三好寛二、加藤貴大、城戸健士郎、正林大希、榑崎壮志、横見央、神谷諭史、里見志帆、堤保夫
2. 発表標題 debranch TEVARにおける左総頸動脈クランプが局所脳酸素飽和度低下に及ぼす因子の検討
3. 学会等名 第50回日本集中治療医学回学术集会
4. 発表年 2023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

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