

平成 30 年 5 月 29 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462336

研究課題名(和文) 吸入麻酔薬の心筋保護効果に基づいた新規心筋保護法の開発

研究課題名(英文) Development of a new therapeutic strategy for preventing the cardiac ischemia/reperfusion injury based on the mechanisms underlying cardioprotective effects of volatile anesthetics

研究代表者

小嶋 亜希子 (KOJIMA, Akiko)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：50447877

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：虚血心筋の再灌流時に発生する心筋虚血再灌流傷害は、細胞内Ca²⁺過負荷がその主な原因の一つと考えられている。吸入麻酔薬は心筋リアノジン受容体(RyR2)やstore-operated Ca²⁺ entry (SOCE)チャネルなどのCa²⁺輸送タンパク質を標的とし細胞傷害を抑制する。マウス摘出心臓における虚血再灌流実験において、RyR2阻害薬およびSOCEチャネル阻害薬は虚血再灌流後の心機能障害を有意に改善させた。このことから、これらのCa²⁺輸送タンパク質を抑制することで虚血再灌流傷害から心臓を保護する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Intracellular Ca²⁺ overload during ischemia/reperfusion in myocardium is responsible for cellular injury leading to cardiac dysfunction, namely ischemia/reperfusion injury. Because various Ca²⁺ transport proteins, such as type 2 ryanodine receptor (RyR2) and store-operated Ca²⁺ entry (SOCE) channel, are involved in Ca²⁺ overload-induced cellular injury, we investigated whether blocking these channels is effective in reducing the cardiac ischemia/reperfusion injury. In mouse hearts subjected to ischemia/reperfusion, contractile functions of left ventricle were significantly reduced compared with these baseline value. In contrast, administration of RyR2 blocker or SOCE channel blockers ameliorated the contractile dysfunction after ischemia/reperfusion. These results indicate that RyR2 and SOCE channel are involved in the development of cardiac ischemia/reperfusion injury and can provide the potential therapeutic targets to prevent the heart from ischemia/reperfusion injury.

研究分野：麻酔学

キーワード：心筋保護効果 心筋虚血再灌流傷害 Ca²⁺輸送タンパク質 TRPCチャネル 心筋リアノジン受容体

1. 研究開始当初の背景

虚血心筋の再灌流時に発生する虚血再灌流傷害（不整脈や心筋細胞死など）は、細胞内 Ca^{2+} 過負荷を主な原因とする心筋傷害である。再灌流時には過酸化水素 (H_2O_2) などの活性酸素種が爆発的に産生され、また虚血再灌流時には心筋細胞内の Ca^{2+} ストアが枯渇することが知られているが、これらは細胞内への異常な Ca^{2+} 流入を引き起こし (Ca^{2+} ホメオスタシスの破綻)、細胞内 Ca^{2+} 過負荷による心筋傷害の原因となる。

我々はこれまでに、吸入麻酔薬のもつ心筋保護作用の分子基盤を明らかにする目的で、心筋虚血再灌流傷害の実験モデルであるオキシゲンパドックス（活性酸素種による心筋傷害）や Ca^{2+} パドックス (Ca^{2+} ストアの枯渇を誘因とする Ca^{2+} 流入 (store-operated Ca^{2+} entry, SOCE) による心筋傷害) に対する吸入麻酔薬の作用を、リアノジン受容体 (type 2 ryanodine receptor, RyR2) や SOCE チャネルなどの Ca^{2+} 輸送タンパク質に着目して、マウス心室筋細胞を用いて検討を行ってきた。その結果、これらの細胞傷害モデルにおいては、RyR2 や SOCE チャネルをはじめとする種々の Ca^{2+} 輸送タンパク質の機能異常により、 Ca^{2+} ホメオスタシスの破綻し細胞内 Ca^{2+} 過負荷が発生すること、吸入麻酔薬セボフルランはこれらの Ca^{2+} 輸送タンパク質を抑制して、 Ca^{2+} ホメオスタシスの破綻を正常化することにより、これらの傷害モデルにおいて心筋細胞を保護することを見いだした。

この我々の研究成果は、RyR2 や SOCE チャネルを標的とすることで虚血再灌流傷害を軽減できる可能性を強く示唆する。近年 Ic 群の抗不整脈薬であるフレカイニドが RyR2 阻害作用を有することで注目されており、このフレカイニドの RyR2 阻害作用が心臓虚血再灌流傷害の抑制に利用できれば、臨床に使用できる新しい虚血再灌流傷害に対する治療戦略になりうる。

2. 研究の目的

本研究課題では、マウス摘出心臓を用いて、虚血再灌流傷害における RyR2 や SOCE チャネルなどの Ca^{2+} 輸送タンパク質の関与を検討する。得られた知見により、吸入麻酔薬の心筋保護作用に基づいた新しい心筋保護法の確立を目指す。

3. 研究の方法

正常マウスより摘出した心臓をランゲンドルフ式灌流装置を用いて、定圧 (80 mmHg) で灌流する。左心室内にバルーンカテーテルを挿入し、左室拡張末期圧 (LVEDP)、左室 developed pressure (LVDP) およびその一次微分 (+dP/dt、-dP/dt) 心拍数を計測し、これらを心機能の指標とする。

約 30 分の灌流により心臓拍動を安定させた後、30 分間の全虚血および 60 分間の再灌流を施行する (37)。虚血中および再灌流中の上記の心機能を測定する。

SOCE チャネル阻害薬 (2-APB、 La^{3+})、RyR2 阻害作用をもつフレカイニドを、虚血前あるいは再灌流時に投与して、心機能に及ぼす影響を調べる。また、これらの阻害薬が最も有効となる投与方法を確立する。

4. 研究成果

虚血再灌流後のマウス摘出心臓における心機能は、虚血前の値と比較して、心拍数に有意な変化はなかったが、LVDP の有意な上昇、LVDP の有意な低下、+dP/dt、-dP/dt の有意な減少が認められた (コントロール群)。これらの心機能の変化は、虚血再灌流による心機能障害と考えられる。

再灌流直後の 5 分間に SOCE チャネル阻害薬である 2-APB (5 μ M)、 La^{3+} (10 μ M) をそれぞれ灌流液に加えて投与すると、再灌流後の心機能は、コントロール群と比較して、いずれも有意に改善した (図)。

また、全虚血前後の各 5 分間に RyR2 阻害作用をもつフレカイニド (1 μ M) を灌流液に加えて投与すると、再灌流後の心機能は、コントロール群と比較して、いずれも有意に改善した (図)。

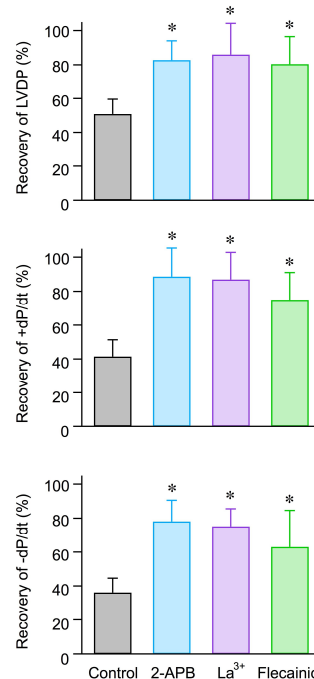


図 SOCE チャネル阻害薬 (2-APB、 La^{3+}) および RyR2 阻害薬 (フレカイニド) による虚血再灌流後の心機能の改善

上記結果より、マウス心臓虚血再灌流傷害においては、SOCE チャネルや RyR2 が関与していることが明らかとなった。

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 15 件)

1. Kojima A, Ito Y, Kitagawa H, Matsuura H, Nosaka S (2014). Direct negative chronotropic action of desflurane on sinoatrial node pacemaker activity in the guinea pig heart. *Anesthesiology* 120:1400-1413. 査読有。
doi: 10.1097/ALN.000000000000165
2. Kojima A, Ito Y, Kitagawa H, Matsuura H (2015). Ionic mechanisms underlying the negative chronotropic action of propofol on sinoatrial node automaticity in guinea pig heart. *Br J Pharmacol* 172:799-814. 査読有。
doi: 10.1111/bph.12936
3. Imashuku Y, Kojima A, Takahashi K, Kitagawa H (2015). The importance of usage guidance from anesthesiologists when disseminating video laryngoscopes throughout emergency departments and intensive care units. *J Clin Anesth* 27:273. 査読有。
doi: 10.1016/j.jclinane.2014.12.001
4. Imashuku Y, Kojima A, Takahashi K, Kitagawa H (2015). Washing out potassium absorption filters with normal saline after use. *Clin Exp Nephrol* 19:984. 査読有。
doi: 10.1007/s10157-015-1093-3
5. Kojima A, Ito Y, Ding WG, Kitagawa H, Matsuura H (2015). Interaction of propofol with voltage-gated human Kv1.5 channel through specific amino acids within the pore region. *Eur J Pharmacol* 764:622-632. 査読有。
doi: 10.1016/j.ejphar.2015.08.007
6. Bai JY, Ding WG, Kojima A, Seto T, Matsuura H (2015). Putative binding sites for arachidonic acid on the human cardiac Kv 1.5 channel. *Br J Pharmacol* 172:5281-5292. 査読有。
doi: 10.1111/bph.13314
7. Kojima A, Bai JY, Ito Y, Ding WG, Kitagawa H, Matsuura H (2016). Serum albumin attenuates the open-channel blocking effects of propofol on the human Kv1.5 channel. *Eur J Pharmacol* 783:117-126. 査読有。
doi: 10.1016/j.ejphar.2016.04.058
8. Imashuku Y, Kojima A, Takahashi K, Kitagawa H (2016). Endotracheal intubation training for clinical trainees in Japan-is the anesthesiology training not necessary? *J Clin Anesth* 31:34. 査読有。
doi: 10.1016/j.jclinane.2015.12.032
9. Imashuku Y, Ishihara M, Kojima A, Takahashi K, Kitagawa H (2016). Emergency surgery for RhD-negative patients in the Asia region. *J Clin Anesth* 34:375. 査読有。
doi: 10.1016/j.jclinane.2016.05.035
10. 小嶋亜希子 (2016). 麻酔薬の心筋イオンチャネルの制御機構に関わる分子基盤の解明. *麻酔* 65 : S143-S154. 査読無。
11. Imashuku Y, Kojima A, Takahashi K, Kitagawa H (2017). Problematic use of a Pentax AWS-S200 in emergency and disaster medicine. *Anaesthesia* 72:1045. 査読有。
doi: 10.1111/anae.13944
12. Kojima A, Matsuura H (2017). Ionic mechanisms of the action of anaesthetics on sinoatrial node automaticity. *Eur J Pharmacol* 814:63-72. 査読有。
doi: 10.1016/j.ejphar.2017.08.006
13. Kojima A, Fukushima Y, Ito Y, Ding WG, Ueda R, Seto T, Kitagawa H, Matsuura H (2018). Interactions of propofol with human voltage-gated Kv1.5 channel determined by docking simulation and mutagenesis analyses. *J Cardiovasc Pharmacol* 71:10-18. 査読有。
doi: 10.1097/FJC.0000000000000538
14. Kojima A, Fukushima Y, Ito Y, Ding WG, Kitagawa H, Matsuura H (2018). Transient receptor potential canonical channel blockers improve ventricular contractile functions after ischemia/reperfusion in a Langendorff-perfused mouse heart model. *J Cardiovasc Pharmacol* 71:248-255. 査読有。
doi: 10.1097/FJC.0000000000000566
15. 小嶋亜希子, 今宿康彦, 北川裕利, 松浦博 (2018). 心臓洞房結節自動能のイオン

機序と麻酔薬によるその修飾。
Cardiovascular Anesthesia (in press).
査読有。

〔学会発表〕(計 29 件)

1. 小嶋 亜希子、伊藤 有紀、北川 裕利、野坂 修一。レミフェンタニルの心臓ペースメーカー細胞におよぼす影響。日本麻酔科学会第 61 回学術集会。2014 年 5 月 15 日～17 日。パシフィコ横浜。
2. 小嶋 亜希子、伊藤 有紀、北川 裕利、野坂 修一。プロポフォールによるヒト Kv1.5 チャネルの抑制作用。日本麻酔科学会第 61 回学術集会。2014 年 5 月 15 日～17 日。パシフィコ横浜。
3. 小嶋 亜希子、伊藤 有紀、北川 裕利、野坂 修一。プロポフォールは I_f 電流の活性化を抑制することで心臓ペースメーカー細胞に徐脈作用をおよぼす。日本麻酔科学会第 61 回学術集会。2014 年 5 月 15 日～17 日。パシフィコ横浜。
4. 小嶋 亜希子、湯浅 真由美、石川 ゆうこ、伊藤 有紀、高橋 完、北川 裕利。プロポフォールによる直接陰性変時作用のイオンメカニズム(最優秀演題)。日本麻酔科学会第 62 回学術集会。2015 年 5 月 28 日～30 日。神戸ポートピアホテル、神戸国際展示場。
5. 小嶋 亜希子、湯浅 真由美、石川 ゆうこ、伊藤 有紀、高橋 完、北川 裕利。マウス肥大心筋細胞における酸化ストレスによる細胞傷害の発生とセボフルランによる保護効果。日本麻酔科学会第 62 回学術集会。2015 年 5 月 28 日～30 日。神戸ポートピアホテル、神戸国際展示場。
6. 湯浅 真由美、小嶋 亜希子、石川 ゆうこ、今宿 康彦、高橋 完、北川 裕利。急速活性型および緩徐活性型遅延整流性カリウム電流は房室結節細胞の自動性に寄与する。日本麻酔科学会第 62 回学術集会。2015 年 5 月 28 日～30 日。神戸ポートピアホテル、神戸国際展示場。
7. 福島 豊、黒田 瑞江、小嶋 亜希子、高橋 完、桑原 一志、北川 裕利。脊椎手術における通常流量と低流量麻酔での体温の比較。日本麻酔科学会第 62 回学術集会。2015 年 5 月 28 日～30 日。神戸ポートピアホテル、神戸国際展示場。
8. 小嶋 亜希子、今宿 康彦、北川 裕利。デスフルランの直接陰性変時作用と交感神経刺激を介するその修飾。第 20 回日本心臓血管麻酔学会学術大会。2015 年 10 月 9 日～11 日。アクロス福岡。
9. 佐田 蓉子、今宿 康彦、小嶋 亜希子、北川 裕利。Bentall 術後の感染性心内膜炎の診断に経食道心エコーが有用であった一症例。第 20 回日本心臓血管麻酔学会学術大会。2015 年 10 月 9 日～11 日。アクロス福岡。
10. 小嶋 亜希子。麻酔薬の心筋イオンチャネルの制御機構に関わる分子基盤の解明(学会賞記念講演)。日本麻酔科学会第 63 回学術集会。2016 年 5 月 26 日～28 日。福岡国際会議場、マリンメッセ福岡、福岡サンパレスホテル&ホール、ホテル日航福岡。
11. 小嶋 亜希子、伊藤 有紀、湯浅 真由美、石川 ゆうこ、高橋 完、北川 裕利。マウス正常心筋細胞、肥大心筋細胞における酸化ストレスによる細胞傷害には、筋小胞体 Ca^{2+} 制御機能異常が関与する(最優秀演題)。日本麻酔科学会第 63 回学術集会。2016 年 5 月 26 日～28 日。福岡国際会議場、マリンメッセ福岡、福岡サンパレスホテル&ホール、ホテル日航福岡。
12. 小嶋 亜希子、瀬戸 倫義、伊藤 有紀、福島 豊、高橋 完、北川 裕利。プロポフォールと膜電位依存性 hKv1.5 チャネルの相互作用に関わる分子基盤。日本麻酔科学会第 63 回学術集会。2016 年 5 月 26 日～28 日。福岡国際会議場、マリンメッセ福岡、福岡サンパレスホテル&ホール、ホテル日航福岡。
13. 小嶋 亜希子、福島 豊、伊藤 有紀、瀬戸 倫義、高橋 完、北川 裕利。血清アルブミンはプロポフォールの hKv1.5 チャネルに対する open-channel block 作用を維持したまま抑制作用を減弱させる。日本麻酔科学会第 63 回学術集会。2016 年 5 月 26 日～28 日。福岡国際会議場、マリンメッセ福岡、福岡サンパレスホテル&ホール、ホテル日航福岡。
14. 石川 ゆうこ、澤田 規、石原 真理子、湯浅 真由美、小嶋 亜希子、北川 裕利。心筋虚血再灌流傷害に対する TRPC チャネルの影響。日本麻酔科学会第 63 回学術集会。2016 年 5 月 26 日～28 日。福岡国際会議場、マリンメッセ福岡、福岡サンパレスホテル&ホール、ホテル日航福岡。
15. 赤澤 舞衣、橋本 英輔、小嶋 亜希子、千原 孝志、福島 豊、北川 裕利。当院における予定大動脈ステント内挿術後の造影剤腎症発症についての検討。日本

- 麻酔科学会第 63 回学術集会。2016 年 5 月 26 日～28 日。福岡国際会議場、マリンメッセ福岡、福岡サンパレスホテル & ホール、ホテル日航福岡。
16. 岩崎 愛、橋本 英輔、赤澤 舞衣、福島 豊、小嶋 亜希子、上林 昭景。ロボット支援下腹腔鏡下前立腺摘出術の輸液管理の指標としての SVV の有用性についての検討。日本麻酔科学会第 63 回学術集会。2016 年 5 月 26 日～28 日。福岡国際会議場、マリンメッセ福岡、福岡サンパレスホテル & ホール、ホテル日航福岡。
 17. 井上 基、小嶋 亜希子、今宿 康彦、水野 隆芳、佐田 蓉子、北川 裕利。逆行性冠灌流カテーテルによる冠静脈洞損傷の診断に術中経食道心エコーが有用であった一例。第 21 回日本心臓血管麻酔学会学術大会。2016 年 9 月 16 日～18 日。横浜ベイホテル東急。
 18. 小嶋 亜希子。Ca²⁺制御タンパク質を介した吸入麻酔薬の心筋虚血再灌流傷害に対する保護作用(シンポジウム)。日本麻酔科学会第 64 回学術集会。2017 年 6 月 8 日～10 日。神戸ポートピアホテル、神戸国際展示場、神戸国際会議場。
 19. 小嶋 亜希子、伊藤 有紀、福島 豊、今宿 康彦、高橋 完、北川 裕利。マウス肥大心における酸化ストレスによる細胞傷害の増悪には CaMKII の活性化が関与する。日本麻酔科学会第 64 回学術集会。2017 年 6 月 8 日～10 日。神戸ポートピアホテル、神戸国際展示場、神戸国際会議場。
 20. 福島 豊、小嶋 亜希子、石原 真理子、清水 盛浩、瀬戸 倫義、北川 裕利。デスフルランによるヒト Kv1.5 チャネルの作用に関わる分子機構。日本麻酔科学会第 64 回学術集会。2017 年 6 月 8 日～10 日。神戸ポートピアホテル、神戸国際展示場、神戸国際会議場。
 21. 石原 真理子、小嶋 亜希子、清水 盛浩、福島 豊、高橋 完、北川 裕利。デクスメトミジンによる洞房結節自動性に対する抑制作用。日本麻酔科学会第 64 回学術集会。2017 年 6 月 8 日～10 日。神戸ポートピアホテル、神戸国際展示場、神戸国際会議場。
 22. 清水 盛浩、小嶋 亜希子、石原 真理子、福島 豊、高橋 完、北川 裕利。プロポフォールによる HCN4 チャネルの抑制作用。日本麻酔科学会第 64 回学術集会。2017 年 6 月 8 日～10 日。神戸ポ
- ートピアホテル、神戸国際展示場、神戸国際会議場。
23. 清水 盛浩、小嶋 亜希子、高橋 完、北川 裕利。透析関連低血圧を呈する患者の麻酔導入時における血圧低下について。日本麻酔科学会第 64 回学術集会。2017 年 6 月 8 日～10 日。神戸ポートピアホテル、神戸国際展示場、神戸国際会議場。
 24. 小嶋 亜希子。心臓洞房結節自動能のイオン機序と麻酔薬によるその修飾(優秀教育講演)。第 22 回日本心臓血管麻酔学会学術大会。2017 年 9 月 16 日～18 日。自治医科大学地域医療情報研修センター、教育研究棟。
 25. 石原 真理子、小嶋 亜希子、清水 盛浩、前平 弥智、湯浅 真由美、北川 裕利。洞房結節細胞におけるデクスメトミジンの徐脈作用のメカニズム。第 22 回日本心臓血管麻酔学会学術大会。2017 年 9 月 16 日～18 日。自治医科大学地域医療情報研修センター、教育研究棟。
 26. 清水 盛浩、石原 真理子、湯浅 真由美、小嶋 亜希子、高橋 完、北川 裕利。プロポフォールによる HCN4 チャネルの抑制に関わる分子機構。第 22 回日本心臓血管麻酔学会学術大会。2017 年 9 月 16 日～18 日。自治医科大学地域医療情報研修センター、教育研究棟。
 27. 佐田 蓉子、小嶋 亜希子、清水 盛浩、井上 基、北川 裕利。大腸癌転移性右房腫瘍摘出術を施行した一例。第 22 回日本心臓血管麻酔学会学術大会。2017 年 9 月 16 日～18 日。自治医科大学地域医療情報研修センター、教育研究棟。
 28. 清水 盛浩、小嶋 亜希子、井上 基、佐田 蓉子、高橋 完、北川 裕利。冠動脈バイパス術中に SPY 蛍光イメージングシステム(SPY®)により鎖骨下動脈盗血症候群を発見した 1 例。第 22 回日本心臓血管麻酔学会学術大会。2017 年 9 月 16 日～18 日。自治医科大学地域医療情報研修センター、教育研究棟。
 29. 田塾 郁実、丁 維光、糜 心雅、小嶋 亜希子、瀬戸 倫義、松浦 博。部位特異的変異導入法とドッキングシミュレーション法を用いたベラパミルの hKv1.5 チャネルの結合部位の同定。第 95 回日本生理学会大会。2018 年 3 月 28 日～30 日。サンポートホール高松、高松シンボルタワー。
- 〔その他〕

ホームページ等
滋賀医科大学研究情報データベース
[https://sumsdbweb.shiga-med.ac.jp/search/
index.html](https://sumsdbweb.shiga-med.ac.jp/search/index.html)

6. 研究組織

(1)研究代表者

小嶋 亜希子 (KOJIMA, Akiko)
滋賀医科大学・医学部・助教
研究者番号：50447877

(2)研究分担者

北川 裕利 (KITAGAWA Hirotoishi)
滋賀医科大学・医学部・教授
研究者番号：50252391

松浦 博 (MATSUURA Hiroshi)
滋賀医科大学・医学部・教授
研究者番号：60238962

(3)連携研究者

該当なし

(4)研究協力者

該当なし