

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592335

研究課題名(和文) 吸入麻酔薬の心保護効果(一過性受容器電位チャネルの役割解明とその応用)

研究課題名(英文) Effects of volatile anesthetics on cardiac protection via transient receptor potential canonical(TRPC) channels

研究代表者

北川 裕利(Hirotohi, Kitagawa)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：50252391

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々はin vitroにおいて吸入麻酔薬のTRPC(Transient receptor potential canonical)チャネルを介した心筋虚血再灌流傷害抑制効果を報告してきたが、in vivoでの検証はできていない。そこで、TRPCを活性化させた心肥大ラットに心臓マイクロダイアリシスを適用して心筋虚血再灌流傷害修飾効果を検証した。その結果、心筋虚血再灌流傷害はTRPCチャネルブロッカー前処置により抑制され、また吸入麻酔薬を暴露することでも抑制された。このことから吸入麻酔薬は心肥大ラットに対して心保護効果を有し、その一因としてTRPCチャネルが関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：

We examined the effects of volatile anesthetics on ischemic myocardial injury via transient receptor potential canonical (TRPC) channels. The cardiac microdialysis technique was applied to the rat transverse aortic constriction (TAC) model, which is an experimental model for pressure overload-induced cardiac hypertrophy with TRPC channels activation. Using these rat model, ischemia/reperfusion induced cardiac marker levels were elevated. These were suppressed by the pretreatment of 2-APB, SKF96365 (TRPC channel blocker) and sevoflurane. These results suggest that sevoflurane might exert an in vivo myocardial protective effect during ischemia/reperfusion through TRPC channels.

研究分野：周術期管理学

キーワード：吸入麻酔薬 TRPCチャネル 心筋保護 虚血再灌流傷害 マイクロダイアリシス

## 1. 研究開始当初の背景

我々は吸入麻酔薬が心保護効果を有することを1997年にJudy R. Kerstenが発表して以来、虚血プレコンディショニング類似のメカニズムとして、多くの研究者が心筋細胞膜表面にあるG蛋白受容体への刺激による細胞内シグナルパスウェイの関与と心筋細胞膜表面およびミトコンドリアのKチャンネルに注目し、精力的に解析されてきた。しかし、こうした研究を含めても、臨床研究において吸入麻酔薬やその他類似の薬剤による薬理学的心保護効果を証明するまでには至っていない。これは臨床における多様性ととも、いまだ未知なるメカニズムが存在することを示唆し、その発見と治療法の開発が待たれていた。

我々は*in vitro*において細胞傷害の重要な因子の一つである $Ca^{2+}$ 動態に着目し、虚血時に生じる小胞体 $Ca^{2+}$ の低下をトリガーとして生じる電位依存ではない $Ca^{2+}$ チャンネルであるTransient receptor potential canonical (TRPC)が、虚血再灌流時に活性化され、そのチャンネルを介して細胞内 $Ca^{2+}$ 流入を引き起こすことをつきとめた。また、そのTRPCチャンネルをセボフルランが抑制することを*in vitro*で報告し、虚血再灌流傷害を制御できる可能性が示唆された。

今回、このTRPCチャンネルを介した修飾効果が*in vivo*においても有効かどうかについて心臓マイクロダイアリシス法を用いて検証した。

## 2. 研究の目的

今回の研究は虚血再灌流時のTRPCチャンネルの役割について、TRPCチャンネルの感受性増大を目的とした心肥大ラットを作成する。作成した心肥大ラットに*in vivo*心臓マイクロダイアリシス法を適応し、虚血再灌流傷害抑制について検証する。さらにその抑制効果が吸入麻酔薬でどのように修飾されるのかについて検証する。

## 3. 研究の方法

### 心臓マイクロダイアリシス法

ネブタール麻酔下ラットの左室心筋にマイクロダイアリシスファイバーを植え込み、一方よりリンゲル液で灌流し、他方より透析液を回収して心筋マーカー(ミオグロビン)濃度を測定し、心筋細胞傷害の指標とする。

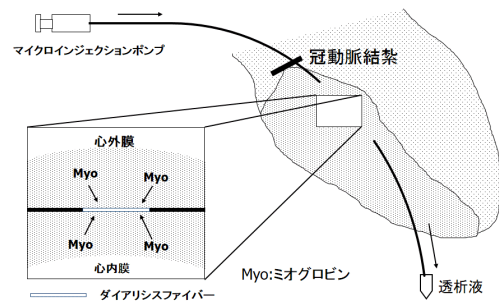


図1. 心臓マイクロダイアリシス法について

### ミオグロビンの測定

モノクローナル抗体による抗原抗体反応(サンドイッチ法)と毛細管現象を利用した免疫クロマトグラフィー法を併用使用したロッシュ社製ミオグロビン測定キット(カルディアックリーダー®、ロッシュ・ダイアグノスティック社製、スイス)にて測定する。

上記手法を用いてTransient receptor potential canonical (TRPC)チャンネルの虚血再灌流傷害に及ぼす影響と、セボフルランによる心保護効果について検討する。

成人ラットの大動脈を結紮する(TAC手術)ことで、心臓に圧負荷をかけたラットを4週以上飼育し、心肥大ラットを作成する。

TRPCチャンネルの虚血再灌流傷害に及ぼす影響について、以下の項を検討する。

- ・TRPCチャンネルブロッカー前処置下での心肥大ラットでの虚血再灌流傷害抑制効果の有無
- ・吸入麻酔薬暴露下での心肥大ラットでの虚血再灌流傷害抑制効果の有無

## 4. 研究成果

### 心肥大ラットについて

TAC手術により、心筋に圧負荷を行った結果、心筋重量は $1.08 \pm 0.05g$ より $1.38 \pm 0.130g$ に増加していた。これは、心筋重量/体重比においても、同様の傾向であった。この結果より、TAC手術により心肥大ラットが作成しえたと判断した。

TRPC チャンネルの虚血再灌流障害に及ぼす影響

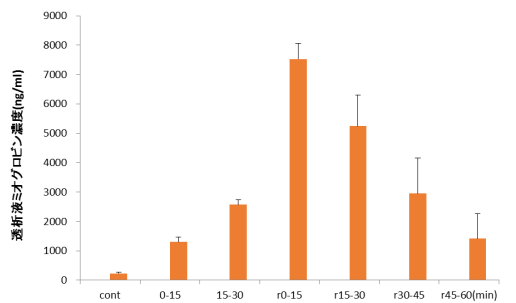


図2 冠動脈閉塞開放時の心筋透析液ミオグロビン濃度応答

冠動脈閉塞30分および開放60分(r0-60min)における心筋透析液中のミオグロビン濃度応答はコントロールに比し、虚血中に上昇し、再灌流ではさらに急峻に上昇した。この応答は、我々が今までに行った野生型ラットでのミオグロビン濃度応答と同様の傾向であった。

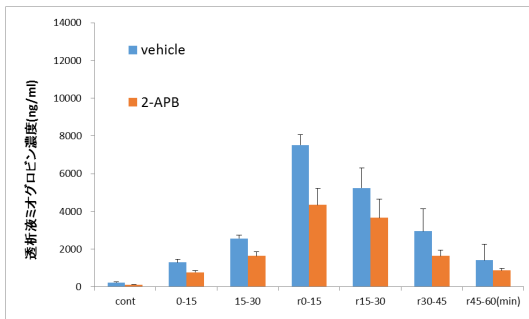


図3 2-APB(4mg/body)前処置下の冠動脈閉塞開放時の心筋透析液ミオグロビン濃度応答

TRPC チャンネルブロッカーである2-Aminoethyl diphenylborinate(2-APB)を前処置することで冠動脈閉塞開放時のミオグロビン濃度応答は閉塞・開放期ともに減弱した。

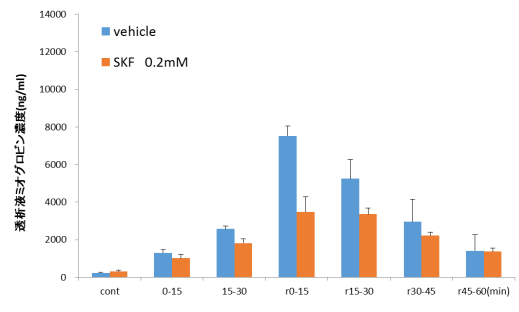


図4 SKF-96365 0.2mM(local perfusion)前処置下の冠動脈閉塞開放時の心筋透析液ミオグロビン濃度応答

TRPCチャンネルブロッカーであるSKF-96365を前処置することで冠動脈閉塞開放時のミオグロビン濃度は閉塞・開放期ともに減弱した。

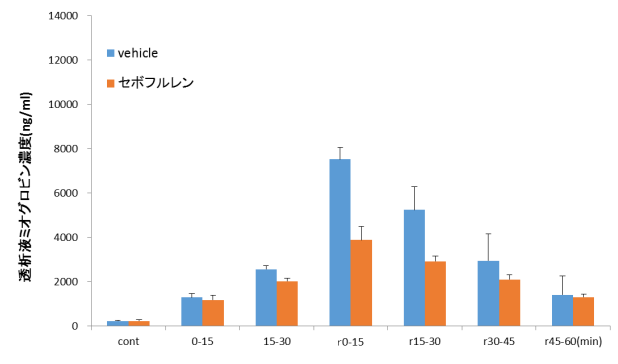


図5 セボフルラン(2%)暴露下での冠動脈閉塞開放時の心筋透析液ミオグロビン濃度応答

心肥大ラットにセボフルラン(2%)暴露することで冠動脈閉塞開放時のミオグロビン濃度応答は閉塞・開放期ともに減弱した。

TAC手術後の心肥大ラットにおいて冠動脈閉塞開放時の心筋透析液ミオグロビン濃度応答がTRPCチャンネルをブロックすることで減弱し、in vivoにおける虚血再灌流傷害にもTRPCチャンネルが関与していることが示唆された。さらに心肥大ラットでのセボフルラン暴露が虚血再灌流傷害抑制効果を示したことから、in vitroと同様にTRPCチャンネルの関与が示唆される結果となった。

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 1 件)

Kojima A, Ito Y, Kitagawa H, Matsuura, Direct negative chronotropic action of desflurane on sinoatrial node pacemaker activity in the guinea pig heart. Anesthesiology, 120, 2014, 1400-1413、査読あり

〔学会発表〕(計 7 件)

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 回大会  
2014 年 5 月 15 日～17 日、横浜市

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 回大会  
2014 年 5 月 15 日～17 日、横浜市

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 If 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 回大会  
2014 年 5 月 15 日～17 日、横浜市

小嶋亜希子、伊藤有紀、北川裕利、野坂修一  
セボフルランは酸化ストレスから心筋細胞を保護する  
日本麻酔科学会第 60 回大会  
2013 年 5 月 23 日～25 日、札幌市

小嶋亜希子、伊藤有紀、北川裕利、野坂修一  
デスフルラン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 60 回大会  
2013 年 5 月 23 日～25 日、札幌市

小嶋亜希子、伊藤有紀、北川裕利、野坂修一  
セボフルランによる洞房結節に対する陰性変時作用とその背景となるイオンチャネル電流の抑制作用

日本麻酔科学会第 59 回大会  
2012 年 6 月 7 日～9 日、神戸

小嶋亜希子、北川裕利、野坂修一  
セボフルラン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 59 回大会  
2012 年 6 月 7 日～9 日、神戸

6. 研究組織

(1)研究代表者

北川 裕利 (KITAGAWA HIROTOSHI)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：50252391

(2)研究分担者

山崎 登自 (YAMAZAKI TOJI)

滋賀医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：20116122