

## 科学研究費補助金研究成果報告書

平成 24 年 2 月 24 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591827

研究課題名 (和文) 虚血ならびに慢性梗塞における心筋・交感神経・副交感神経バイアビリ  
ティの解析

研究課題名 (英文) Analysis of cardiac viability after myocardial ischemia and infarction.

研究代表者

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

研究成果の概要 (和文)：

心筋虚血・梗塞後の残存心筋機能を温存する手法の開発を最終目標に、まずはラット心筋に微小透析膜を貫通させ、心筋虚血により傷害された細胞から漏れ出る心筋逸脱蛋白質や酵素、神経伝達物質の濃度応答を解析した。次に細胞傷害誘発剤 (高濃度デシピラミン) を傷害度の違う心筋に投与した際の心筋逸脱蛋白濃度を測定したところ、その濃度応答が残存心筋 (心筋バイアビリティ) の指標となり得ることが確認できた。本測定法を用いて虚血プレコンディショニングによる心保護効果を確認したところ、虚血梗塞後の心筋バイアビリティが温存されていることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

The present study describes a measurement of the dialysate cardiac marker and neurotransmitter levels found in the myocardial interstitial space. Using this cardiac microdialysis technique, myoglobin, as one of the cardiac muscle proteins, release evoked by the desipramine (cell injury-induced drug) was detected as an index of cardiac viability. This index decreased in proportion to the ischemia time. Ischemic preconditioning enhances preservation in cardiac viability. This system offers a new possibility for monitoring cardiac viability after cardiac ischemia/infarction.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：周術期管理学

## 1. 研究開始当初の背景

虚血・再灌流並びに慢性心筋梗塞においては傷害が心筋のみならず周囲に分布する交感神経・副交感神経にまでおよび、こうした傷害が致死的な不整脈の発生や心不全の増悪因子となり生命維持にとってきわめて重大な影響を及ぼす。従って虚血並びに慢性梗塞の予後や治療計画を立てる上で虚血・梗塞領域の心筋・交感神経・副交感神経のバイアビリティを知る事が重要となってくる。従来までは虚血・梗塞領域から直接こうした情報を得ることはほとんど不可能であったが、我々は心臓ダイアリス法を心筋虚血・再灌流時の自律神経傷害のモニターとして供し多くの成果を上げてきた。今回さらにプローベを改良し、虚血による逸脱蛋白を回収する事を可能ならしめた。本研究では改良型心臓ダイアリスプローベによって心筋虚血・再灌流並びに慢性心筋梗塞時の心筋・交感神経・副交感神経のバイアビリティをモニターすることが可能かどうかについて検討し、心筋バイアビリティからみた心筋保護戦略について考える。

## 2. 研究の目的

(1)心筋虚血・梗塞による間質逸脱蛋白の検出が血液の生化学検査より鋭敏でより早期に心筋傷害を判定出来る事を明らかにする。(2)また、細胞傷害誘発剤を用いた心筋バイアビリティ測定法の確立と、心筋・自律神経傷害によるバイアビリティへの影響を調べる。(3)本結果をふまえ、心筋バイアビリティから見た心筋保護を目指した治療法について考察する。

## 3. 研究の方法

心臓マイクロダイアリス法を図1の如くラットの心臓に適用し透析液を回収する。プローベの半透膜部分から濃度勾配によって拡散してくる神経伝達物質・ミオグロビン、乳酸、グルコース濃度を測定し、心筋間質濃度の指標とする。本研究では実験中に心電図をモニター記録し、不整脈発生頻度の解析を行い、間質ミオグロビン濃度と致死性不整脈の発生の関連を調べる。

(1)虚血・再灌流に伴う心筋傷害モニターと心筋 viability(心筋間質ミオグロビン・グルコース濃度応答による心筋傷害の評価)

図1のように心臓マイクロダイアリス法を用い、15分毎に透析液を採取する。プローベの植え込んだ領域の冠動脈を30分間閉塞、60分間の再灌流を行い、透析液の連続的解析を行う。それにより虚血による心筋傷害と心筋間質乳酸・ミオグロビン、トロポニン T、AST、CK の濃度の関連を調べる。

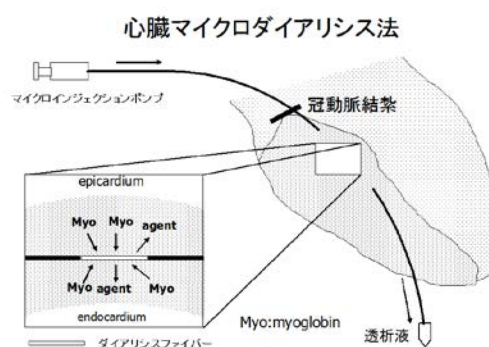


図1、マイクロダイアリス図

(2)心筋バイアビリティについては虚血・再灌流領域にダイアリスプローベを植え込み、シアン化ナトリウム(30mM)、デシピラミン(100mM)を局所に投与し、ミオグロビン放出応答から残存心筋のバイアビリティを評価する。同様にインシュリンを局所投与し、虚血・非虚血部でグルコース再吸収から残存心筋エネルギー代謝からみた心筋バイアビリティも検討する。

(3)3分間の冠動脈閉塞を3回繰り返したのち、30分間の本格閉塞後の心筋にデシピラミンを局所投与し、その心筋透析液ミオグロビン濃度応答を測定する。それにより虚血ブレコンディショニングが心筋バイアビリティにどのような影響を与えるかについて検討する

#### 4. 研究成果

(1) 心筋傷害の指標として、虚血再灌流中の心筋間質ミオグロビン、トロポニンT、AST、CKを測定した。ミオグロビン、ASTが傷害の指標として適しており、特にミオグロビンが感度。特異度ともに最適であることを突き止めた。またCKは感度以下であった。

虚血再灌流時の心臓交感神経神経傷害と心筋傷害の関係を見るために高濃度ノルエピネフリンの局所投与時の心筋透析液ミオグロビン濃度上昇を調べたが有意上昇に至らず、その後の実験を断念した。

(2) 虚血再灌流後の傷害心筋に心筋傷害誘発剤としてシアン化ナトリウム、デシピラミンを局所投与した際の心筋間質ミオグロビン濃度応答を測定した。シアン化ナトリウムは免疫化学検出法による測定系に影響することから、デシピラミンを選択し、その応答を詳細に調べた。

結果を下図に示す。

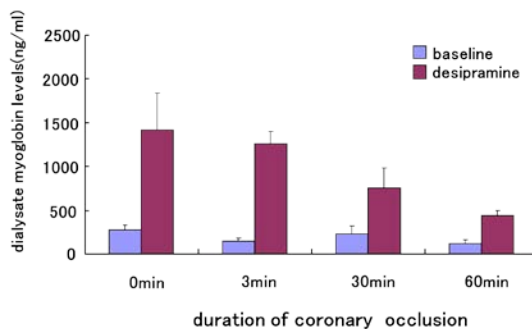


図2、冠動脈閉塞時間によるデシピラミン局所投与時透析液ミオグロビン濃度応答の修飾

・冠動脈閉塞時間が長くなるにつれて、デシピラミンによる心筋透析液ミオグロビン濃度応答が減少した。これは虚血により傷害されなかった心筋、つまり心筋バイアビリティの指標となることが示唆された。

また、インスリン投与によるグルコース消費量を測定することで機能的グルコース消費による心筋バイアビリティ測定は、グルコース値の応答感度が悪いため中断した。

(3) 虚血プレコンディショニングと心筋バイアビリティの関係について調べた。

結果を下図に示す。

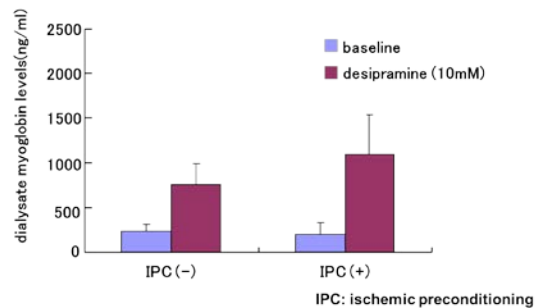


図3、虚血プレコンディショニングによるデシピラミン局所投与時心筋透析液ミオグロビン濃度応答の修飾

・虚血プレコンディショニングを行った群のデシピラミン局所投与による心筋透析液ミオグロビン濃度が、行わなかった群に比し有意に上昇した。これは、虚血プレコンディショニング操作により心筋バイアビリティが温存されたことを示唆する。

#### まとめ

我々は心臓マイクロダイアリス法を用い、細胞傷害誘発剤であるデシピラミンによる心筋間質ミオグロビン濃度応答が心筋バイアビリティの良い指標となることを見出した。心筋虚血・梗塞後の心筋バイアビリティモニタリングは心筋保護戦略や循環管理法に新たな情報を与えてくれる可能性がある。

#### 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)

[学会発表] (計3件)

- ① 川村 智子 澤田 規 北川 裕利 山崎 登自 野坂 修一 心臓マイクロダイアリス法による虚血後心筋バイアビリティ測定の試み 日本麻酔科学会第58回学術集会 2011年5月19日、神戸

- ② 北川 裕利 澤田規 川村智子 小嶋亜希子  
小牧史明 山崎登自 ランジオロールの  
ボラス静脈投与による心筋虚血に対す  
る保護効果 日本麻酔科学会第 58 回学  
術集会 2009 年 8 月 17 日、神戸
- ③ 小嶋 亜希子 北川裕利 野坂修一 心筋  
細胞の TRP チャネルによる  $Ca^{2+}$  パラドッ  
クスの発生 日本麻酔科学会第 58 回学  
術集会 2009 年 8 月 17 日、神戸

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

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

### (2) 研究分担者

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