

|       |         |    |       |
|-------|---------|----|-------|
| 学位の種類 | 博士 (医学) | 氏名 | 鈴木 昭広 |
|-------|---------|----|-------|

## 学 位 論 文 題 目

### Biphasic Effects of Isoflurane on Cardiac Action Potential

(イソフルランが心筋活動電位に及ぼす2相性の変化)

共著者名

Kei Aizawa, Susanne Gassmayr

Zeljko J Bosnjak, Wai-Meng Kwok

掲載雑誌名 Anesthesiology 97 巻:1209 頁-1217 頁

2002 年

## 研 究 目 的

吸入麻酔薬イソフルランは、臨床で不整脈発生頻度が低いことが知られている。近年、イソフルランは心筋の虚血再還流時の心室細動を抑制することが明らかになっている。しかしイソフルランが心筋リズムに与える影響とそのメカニズムに関する情報は少ない。そこで、イソフルランが活動電位に与える影響について調査し、さらに活動電位の持続時間に特に重要な影響をもつと考えられる、L型カルシウムチャネル(ICa-L)、遅延整流Kチャネル(IKdr)、内向き整流Kチャネル(IK1)電流についても、活動電位を模倣しより生理的な電位変化を与えられるプロトコルを用いてイソフルランの影響を検討した。

## 材 料 ・ 方 法

生後2-4週の雌雄モルモットを用いた。ペントバルビタール麻酔下に心臓を摘出し、ランゲンドルフ回路に接続、酵素を還流したのちに心筋のみを切除し振とう攪拌して心筋細胞を単離し、パッチクランプ法による電気生理学的検討を行った。

### 3) 単一電極による電流固定を用いた心筋活動電位の測定

タイロッド溶液内で電極と細胞膜をギガΩシールして細胞膜を陰圧により破り全細胞記録状態とし、0.1Hzの頻度で電流を注入して活動電位を誘発した。APD50およびAPD90(それぞれ50%,90%の再分極に要する時間)を測定し、イソフルラン(0.6,1.0,1.8 mM)の影響を観察した。

### 2) 活動電位プロトコルを用いた電位固定法によるCa, Kイオンチャネル電流測定

上記1)で得られた波形をデジタル変換し、活動電位を模倣した電位プロトコル(APプロトコル)を作成した。

L 型 Ca チャネル電流(ICa-L)の測定：NMDG で Na 電流を、CsCl<sub>2</sub> でK電流を阻害した。AP プロトコルで生じた ICa-L のピーク値を測定してコードコンダクタンスを算出し、イソフルランの影響を調べた。さらにチャネルの不活性化への影響について、得られた電流の減衰を2つの時定数を用いた指数関数で近似して調べた。

遅延整流 K チャネル電流(IKdr)の測定：NMDG で Na 電流を、CdCl<sub>2</sub> で Ca 電流を阻害した。内向き整流Kチャネル電流の影響を最小限にするため細胞外K濃度を 0.1mM とした。AP プロトコルで生じた IKdr のピーク値を測定してコードコンダクタンスを算出しイソフルランの影響を調べた。またチャネル活性化への影響を1つの時定数を用いた指数関数で近似して調べた。

内向き整流 K チャネル電流(IKir)の測定：IKdr 測定と同様のバス液を用い、K濃度のみ 4.8mM とした。ピーク IKir は IKdr を差し引いて測定した。チャネル活性化への影響も同様に1つの時定数を用いた指数関数で近似して調べた。

結果は平均±標準誤差で表した。統計処理は対応のある2群比較には paired student t-test、対応のないものは unpaired t-test、3群間の比較には ANOVA (Fisher's PLSD) を用い、 $p < 0.05$  を有意とした。

## 成 績

### 1) 活動電位への影響 (室温条件)

イソフルランは 0.6mM で活動電位を延長し、APD50, APD90 を有意に増加させた。対照的に 1.8mM では活動電位は短縮し、APD50, APD90 は有意に減少した。これらの変化は可逆的で、イソフルラン投与中止によりコントロール値に回復した。また、1.0mM においては、イソフルランは有意な変化をもたらさなかった。

### 2) L型カルシウムチャネル電流 (ICa-L) に与える影響

イソフルランは AP プロトコル下で観察された ICa-L を抑制し、コードコンダクタンスは濃度依存性に減少した。チャネルの開閉キネティクスに関しては、イソフルランは ICa-L チャネルの不活性化に対して、1.0mM では遅い時定数のみを、1.8mM の高濃度では速い時定数、遅い時定数両者を有意に減少させた。しかし、0.6mM の低濃度では両者に有意な影響を与えなかった。

### 2) 遅延整流 K チャネル電流(IKdr)に与える影響

イソフルランは AP プロトコル下で観察された IKdr を抑制し、コードコンダクタンスも濃度依存性に減少させ、1.8mM では IKdr はほとんど完全にブロックされた。チャネルの開閉キネティクスに関してはイソフルランは可逆的にチャネル活性化の時定数を減少させた。

### 4) 内向き整流 K チャネル (IKir) に与える影響

AP プロトコル下で IKir はテストパルス終了付近で上に凸のスパイク状の波形として観察された。イソフルランは IKir に対して有意な影響をもたらさず、IKir のコードコンダクタンス、チャネル開閉キネティクスの時定数にも有意な影響をもたらさなかった。

### 5) イソフルランが心筋活動電位に与える影響(37℃)

37℃の実験条件下でもイソフルランは活動電位を 0.6mM で延長、1.8mM で短縮するという

2相性の変化を起し、異なる温度条件でも定性的に同じ結果が得られた(n=5)。

## 考 案

今回の結果より、イソフルランは活動電位時間(APD)に対して濃度依存性に2相性の変化をもたらすことが明らかとなり、その起序として、イソフルランがカルシウム、カリウム電流に対して異なる影響を与えていることが重要と考えられた。

活動電位の延長は主に IKdr の抑制によって生じていると考えられる。ICa-L も同様にイソフルランによって抑制されたが、その度合いは IKdr のそれと比べて有意に小さかった。しかし 1.0mM のイソフルランでは ICa-L と IKdr がそれぞれ抑制されているにもかかわらず、APD に有意な影響はなかった。この結果は、1.0mM のイソフルラン濃度下では、ICa-L の抑制と IKdr の抑制が APD に与える影響が互いにうち消されあつたことを示唆する。ただし、ICa-L と IKdr のコンダクタンスの変化は均等ではなく、0.6mM 同様、IKdr の抑制度が大きかった。このことは、単にコンダクタンスの変化だけではなく、チャネル開閉キネティクスも APD の変化に重要な役割を果たしている可能性を示唆した。IKdr の開口はイソフルランにより加速されたが、これは再分極がより早く開始することを意味する。一方、ICa-L チャネルの不活性化もイソフルランにより加速されており、両者はいずれも APD を短縮する方向に作用する。

また、今回の結果により IKir がイソフルラン存在下では再分極に非常に重要な役割を持っていることが明らかになった。IKir は 1.8mM の高濃度においてもイソフルランに影響されずにその機能を維持しており、1.0mM、1.8mM において再分極に特に重要な役割を果たしていると考えられた。ただし 1.8mM で観察された APD 短縮は以上の起序だけでは説明が困難であり、ナトリウムなど他のチャネル電流の影響の可能性も考えるべきである。

## 結 論

モルモット単離心筋細胞においてイソフルランは濃度依存性に心筋活動電位を延長・短縮する2相性の変化を与えた。そのメカニズムとして、イソフルランの ICa-L チャネル、IKdr チャネルに対しての抑制度合いが異なること、さらにチャネル開閉キネティクスに与える影響の違いが関与していると考えられた。また IKir がイソフルランに対して感受性が低く、イソフルラン存在下でも再分極電流の機能を保っていることも重要と考えられた。

## 引用文獻

- 1) Kersten JR, Scmeling TJ., Hettrick DA et al.: Mechanism of Myocardial protection by Isoflurane. Role of KATP channels. Anesthesiology 85:894-807, 1996
- 2) Novalija E., Hogan QH., Kulier AH., et al Effects of Desflurane, Sevoflurane, and Halothane on Postinfarction spontaneous dysrhythmias in dogs. Acta Anesthesiol Scand 42: 353-357, 1998.
- 3) Doerr T., Denger R., Doerr A et al.: Ionic currents Contributing to the Action Potential In Single Ventricular Myocytes of the Guinea Pig Studied with Action Potential Clamp. Pflugers Arch 416: 230-237, 1990

## 參考論文

- 1) **Suzuki A.**, Bosnjak ZJ., Kwok WM. The Effects of Isoflurane on the Cardiac Slowly Activating Delayed-Rectifier Potassium Channel In Guinea Pig Ventricular Myocytes. Anesthesia and Analgesia. 96: 1308-1315, 2003
- 2) Gassmayr S., Stadnicka A., **Suzuki A.**, Kwok WM., Bosnjak ZJ. Isoflurane sensitizes the Cardiac Sarcolemmal Adenosine Triphosphate-Sensitive Potassium Channel to Pinacidil. Anesthesiology. 98:114-120, 2003
- 3) KwokWM., Martinelli AT., Fujimoto K., **Suzuki A.**, Stadnicka A., Bosnjak ZJ  
Isoflurane sensitizes the Cardiac Sarcolemmal Adenosine Triphosphate-Sensitive Differential Modulation of the Cardiac ATP-Sensitive Potassium Channel by Isoflurane and Halothane. Anesthesiology . 97:50-56., 2002

## 学位論文の審査結果の要旨

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |        |                                                                                     |         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 報告番号                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 第 号    |                                                                                     |         |
| 学位の種類                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 博士（医学） | 氏 名                                                                                 | 鈴 木 昭 広 |
| 審査委員長                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 岩崎 寛   |  |         |
| 審査委員                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 菊池 健次郎 |  |         |
| 審査委員                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 高井 章   |  |         |
| 学位論文題目                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |        |                                                                                     |         |
| イソフルランが心筋活動電位に及ぼす 2 相性の変化                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |        |                                                                                     |         |
| <p>吸入麻酔薬イソフルランは、現在全身麻酔において用いられている薬物である。イソフルランは臨床的に心電図上 QT を延長するとされており、心筋リズムに対しては不整脈の発生頻度が低く、また虚血再還流時の心室細動発生を抑制するなどの報告がなされている。</p> <p>本論文提出者は、イソフルランが心筋リズムにどのような影響を与えるのかのメカニズムを探るべく、モルモット単離心筋細胞を用い、パッチクランプによる電気生理学的手法を用いてイソフルランの心筋活動電位への影響、および活動電位を構成する主要なカルシウム、カリウムイオンチャネルへの影響を検討した。</p> <p>その結果、イソフルランは 0.6mM で活動電位時間を延長し、1.8mM で短縮、その中間の 1.0mM では活動電位時間に有意な影響を与えないという結果が得られた。その理由としては、脱分極に寄与するカルシウム電流、再分極に寄与する</p> |        |                                                                                     |         |

遅延整流カリウム電流の両者はイソフルランにより抑制されるものの、その度合いは一樣ではなく、さらにチャネルの開閉に与える影響も異なることが活動電位時間の決定を左右すること、また内向き整流Kチャネルはイソフルランにより抑制されないために、高濃度においても再分極電流が維持され続けることが活動電位の短縮において重要な役割を持っていることが実験的に明らかにされた。

本研究は細胞レベルでのイソフルランの影響をみた興味深い実験結果であるばかりでなく、日常の臨床においてイソフルラン麻酔の心筋リズムへの影響を考える上で非常に有意義な知見であり、すぐれた研究成果といえる。本論文の内容および関連領域についての諮問に対して、著者から明解、かつ適切な回答が得られた。以上の理由により、本論文は学位論文として適切なものと判断した。