

ドクトル中澤の ぶらり研究室探訪記 18

基礎研究をする仲間を求めて、
全国のラボを訪れます。
今日の訪問先は…

今回の旅人
中澤 春政 先生 杏林大学医学部 麻酔科学教室

14a新3M 10a新3M 9a新3L

今回の訪問先

山梨大学大学院医学工学総合研究部
麻酔科学教室

大宮 啓輔 先生

15a新3M 12a新3M

深掘りする論文

Omiya K, Nakadate Y, Sato H, et al. Role of the protein kinase A signaling pathway and identification of mediators in the cardioprotective effects of enteral lactoferrin for ischemia-reperfusion injury in an isolated rat heart model. Nutrition 2023 ; 113 : 112088.

概要

ラクトフェリンはトランスフェリンファミリーの糖タンパク質である。特に母乳中に含まれ、新生児の免疫系に関与し、抗炎症作用がある。ラットにおいて経腸ラクトフェリンが脳や腸管の虚血再灌流障害を和らげるという報告はあったが、心臓の虚血再灌流障害についてはわかっていなかった。われわれは2022年に、ラットの Langendorff 装置を用いた気絶心筋モデルにおいて、経腸ラクトフェリンが虚血再灌流障害に対して心保護作用があることを示した。その作用経路としてプロテインキナーゼB (PKB) 経路を調べたが活性化はしておらず、経腸ラクトフェリンの心保護作用の具体的な作用経路はわからなかった。また、心臓にラクトフェリンを直接灌流しても心保護作用は示さず、経腸ラクトフェリンの心保護作用は経腸ラクトフェリンにより誘導または活性化される物質により起こることを報告した (Omiya et al. Cardioprotective effects of enteral vs. parenteral lactoferrin administration on myocardial ischemia-reperfusion injury in a rat model of stunned myocardium. BMC Pharmacol Toxicol 2022 ; 23 : 78)。

今回、経腸ラクトフェリンの心保護作用はプロテインキナーゼA (PKA) 経路と仮説し、PKAの阻害剤 H89 を用いて経腸ラクトフェリンにより誘導・または活性化される物質として、血清 glucagon like peptide-1 (GLP-1: 糖尿病治療のターゲットの一つで、小腸のL細胞から分泌され、PKA経路を活性化させ心保護作用を示す) を調べた。その結果、経腸ラクトフェリンの心保護効果は、PKA経路を介して起こり、経腸ラクトフェリンにより誘導または活性化される物質として血清 GLP-1 であることが示された。

Fig.1 実験のプロトコル

Fig.2 虚血前後の循環動態の変化

Fig.3 虚血再灌流 20 分後での PKA タンパク質レベル

Fig.4 ラットから心臓摘出時の血清 GLP-1 レベル

Fig.5 ラットから心臓摘出時の血清アディポネクチンレベル

Fig.6 経腸ラクトフェリンによる心保護の想定経路

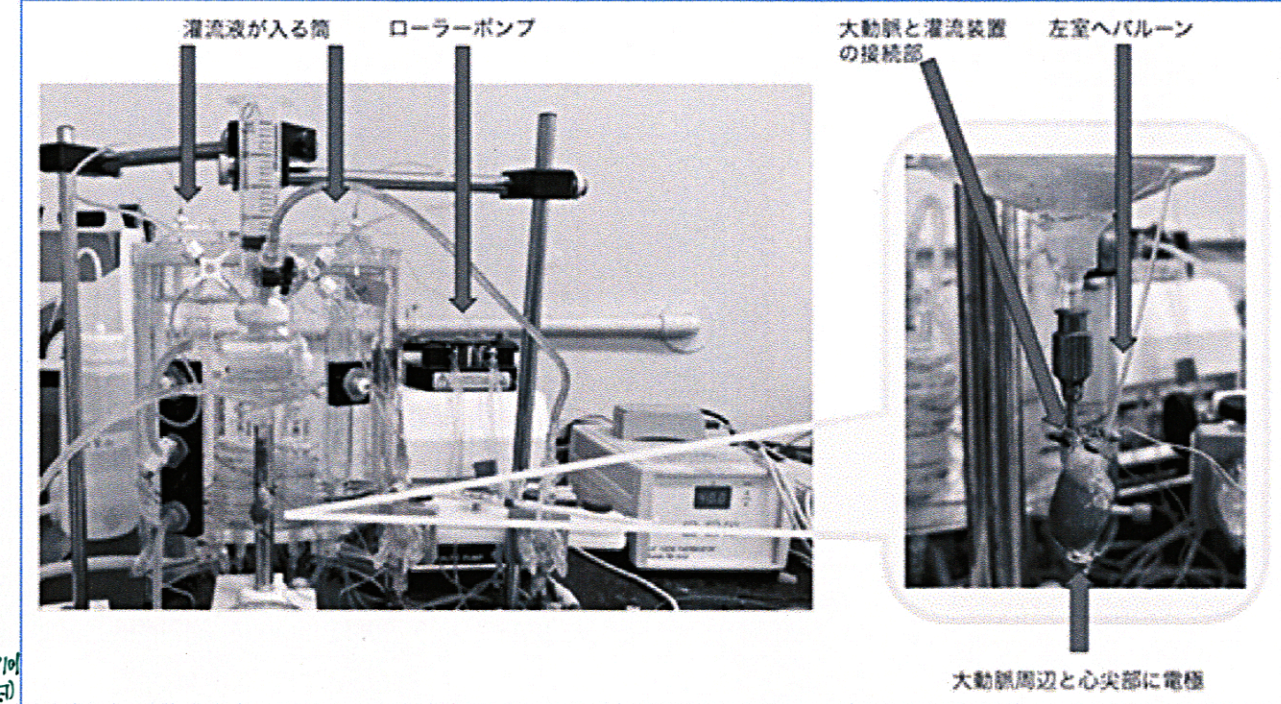
論文掲載までの道

研究テーマの決定	2019 年春頃	カナダの McGill 大学への臨床留学の前だったので、ボスになる Thomas Schrickler 先生の研究テーマに近い栄養について実験をしようと思いました。
研究費の取得	2020 年春	科研費基礎研究 (C) を得ました。申請書を書くための予備実験の費用は、当科の寄付金から出してもらいました。
研究	2019 年夏～	実験日は週 1 日もらいました。実験日には、朝の麻酔導入が落ち着いた 10 時くらいから準備を始めて夜 8 時くらいまで、1 日に 3～4 匹の灌流実験をするスタイルでした。
学会発表	2021 年 10 月	サンディエゴで開催された米国麻酔科学会 (ASA) の学術集会で発表しました。COVID-19 の影響で、web ポスターでした。
論文執筆	2020 年 11 月～	できるだけわかりやすく、シンプルにということを心がけました。
投稿先の選定	2022 年冬	先行研究の論文はアクセプトさせるまでに 10 誌ほどからリジェクトされました。なので、今回の論文は基礎系の論文でも採択していて、かつ Langendorff の論文を採択していて、栄養系ということから「Nutrition」を選びました。
投稿、アクセプト	2023 年春	先行研究の論文がアクセプトされるのに時間がかかったので、今回は思ったより早いと感じました。先行研究があると通りやすいのかなと思いました。

注用

◆ドクトル中澤のぶらり研究室探訪記

▼図1



研究室へようこそ
中澤 (以下、中) こんにちは。
大宮 (以下、大) はじめまして。よろしくお願いします。
大 実は、以前にもお邪魔したことがあるんですよ*1。
中 知っています。古藤田先生を訪問してくださったのですね。古藤田先生からも、中澤先生によろしくお伝えくださいと先ほど言われました。
中 山梨大学は研究をしている人の数が多くて羨しかったです。確か、いくつかのグループに分かれていたのでしたよね。
大 はい。古藤田先生はペイン関係とか脳循環をテーマにしておられますね。ほかに体温をテーマにしているグループもあります。私は、小口 健史 先生や中橋 陽介 先生の心筋代謝をテーマとしているグループで実験をしています。
●●● Langendorff 装置って？
中 論文についての話に入る前に、Langendorff 装置を見せてもらっていいですか？
大 もちろんです。これです (図1)。
中 心臓を取り出して灌流実験をする装置ですね。い

ろいろなメーカーのものがありますが、ここで測定できるパラメータは何でしょう。
大 この装置 (Langendorff systems, ADInstruments 社) で測れるのは、左室収縮力 (LV dp/dt max)、左室圧、心拍数、冠血流量です。
中 これは、駆出率 (EF) は測れたりするのですか。
大 左室に入れたバルーンで圧を測っているの、厳しいのではないかと。
中 なるほど。では、簡単にどんな感じでやるか教えてくださいませんか。
大 ラットにペントバルビタールを入れて完全に寝かせてから開胸します。まずは大血管を切断して装置につなげ、大動脈→冠動脈→冠静脈洞→右房→右室→肺動脈と逆行性に灌流させます。
中 手技での工夫などはありますか。
大 それほど難しいものではないですか、エアが入らないようにしています。エアが入るとそれだけで梗塞になって心臓が動かなくなってしまうことがあるので。
中 温度はどうするのでしょうか。
大 切り出した心臓は、まず 4℃ の灌流液につけて冷却し、心停止させ虚血を最小限にします。その後、

42
2

口から飲んだラクトフェリンは腸間膜脂肪に局限するという論文があるので、おそらく、腸間膜から小腸のL細胞に何か作用しているのではないかと考えています。

中 そうすると、L細胞を光らせるマーカーとか、GLP-1が分泌されるのを光らせるようなマーカーを使って免疫染色をやるといけそうですね。

大 ありがとうございます。私は免疫染色をやったことがないので、上司に相談してみます。

●●●臨床応用するなら

中 今回の結果から、ラクトフェリンを内服してGLP-1が上がって、それがPKAに作用して心筋保護に働くというのであれば、GLP-1を静注してしまったほうが簡単ではあります。内服のメリットってどこにあると考えていますか。

大 単純には痛くないので、術前の栄養療法で取り入れやすいと思います。ラクトフェリン含有のヨーグルトなんかは普通に売られていますし、もちろん投与量的には全然足りないのですが。

中 僕も先生の意見に賛成です。というのも、GLP-1を静注するとなると、臨床治験のハードルがすごく高くなる。一方で、ラクトフェリンは経口摂取できるし、すでに市販品もあるので、PMDAやFDAなどからの認可はしやすいのではないかと想像します。なので、早く臨床に適用するには適した物質であり、投与経路だと思うのです。ただ、先行研究の結果をみると、ラクトフェリンの効果が得られるのは、虚血の15分前に投与した群と30分前に投与した群に限られて、7.5分前と60分前では効果がみられなくなっていますね。

大 そうなんです。おそらく、ラクトフェリンが腸間膜に局限しているタイミングと関係していると考えています。なので、臨床応用を考えると、術前の経口投与のタイミングが絞られてしまうのかも。

中 いや、ラクトフェリンが腸間膜にとどまる時間が短時間だったとしても、そこから分泌されたGLP-1の血中濃度がどれくらい維持されるかによりますから、今後、GLP-1の動態を調べていくとよさそうですね。手術の前1週間をかけて反復投与することで効果があるといったデータがでくと面白そうですね。

大 はい。臨床での投与計画を意識した研究につながるというなと思っています。実は、フラボノイドの実験もしていたのですが、あまりよい結果が出なかったで、ラクトフェリンで結果が出たのは良かったです。

中 フラボノイド？

大 山梨はワインが有名なので。

中 なるほど。それも経腸投与ですか？

大 いや、灌流液に混ぜただけです。

中 だったら、経腸フラボノイドは効果が出るかもしれませんよ。

大 確かにそうですね。上司に相談してみます。山梨の病院は術前栄養指導でワインを勧める、なんてなったら面白いですね。

中 あと、PKAのメカニズムについては、メタボロミクスをすればいろいろわかることも多そうです。

大 実験助手さんから話は聞いたことがあります。

中 ただ、お金がかかります。それに、一発で多くのデータが得られるので、コツコツ実験して結果が出る喜びは薄くなりそうですね。僕は、いろいろなタンパク質のパスウェイの図を眺めながら、ああでもないこうでもないと思えるのが楽しいのですが、今後は、もう少しテクノロジー活用して効率的にやらないと生き残ってはいけないのかもしれないです。

大 勉強になります。私もこれから後輩がやってきて、研究計画を作っていかなければいけないので、いろいろな先生方と交流してアイデアをどんどん出せるようになっていきたいと思っています。

12月

(本訪問は2024年10月25日にzoomにて行われた)

11a 27g/明朝(42)
シリコエ

14a 新刊

ドクトル中澤の訪問後記



山梨大学へ2度目の訪問をさせていただきました。大宮先生は若手ですが、しっかりとした実験手技の技術と新鮮な発想力をもっている点が印象的でした。大宮先生のような若い研究者は出てくる土壌が山梨大学にはあることが非常にうらやましいと感じました。今後、山梨県産のワインの心筋保護作用の論文が発表されることを心待ちにしています。(中澤)

指定外
流用

11a ロダンM
→ベタ
16H
24w話

11a ロダンB