

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09397

研究課題名(和文) SERCA2aを標的にした新規心不全治療薬による敗血症性左室拡張機能の制御

研究課題名(英文) Regulation of septic left ventricular diastolic function by a novel heart failure treatment targeting SERCA2a

研究代表者

石崎 泰令 (Ishizaki, Hironori)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・助教

研究者番号：60368941

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ラット敗血症モデルを作製するLPS投与量を模索し、適切な投与量に関しては、目途を立てた。それと共に敗血症モデルである盲腸結紮敗血症モデル(CLPモデル)も作製し、どちらがより適切かを比較検討した。結果的にはLPS敗血症モデルがより安定したデータであることが判明した。心エコーで敗血症モデルの心機能評価を行い敗血症性心筋状態の評価を行っているが、現状では心エコーのデータにバラツキがあり、敗血症状態(敗血症モデル)は得られているが、安定した敗血症心筋状態を確立する事にやや難渋している。並行してP-Vループでの敗血症モデルにおける循環動態測定を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、心筋拡張障害が敗血症性ショックの独立した予後予測因子であることが報告されている。一方、心筋細胞においてSERCA2aとPLNは、心筋細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の調節を担い、不全心において、SERCA2a機能活性化は、弛緩能促進をもたらす事が判明し、SERCA2a - PLN系を標的とする新規心不全治療薬の開発が注目されている。本研究ではラット敗血症モデルを用いて、SERCA2aとPLNに作用する薬剤が敗血症性心筋症に与える影響を明らかにする事を目的とする。SERCA2a - PLN系によるCa<sup>2+</sup>濃度調節と敗血症性心筋拡張障害の関わりを明らかにすることにより、敗血症患者の救命率改善を目的としている。

研究成果の概要(英文)：We sought the LPS dosage that would produce a rat sepsis model, and established a goal regarding the appropriate dosage. Along with this, a sepsis model, the cecum ligation sepsis model (CLP model), was also created and compared to see which would be more appropriate. The LPS sepsis model was found to have more stable data. We are currently evaluating septic myocardial status by assessing cardiac function in the sepsis model using echocardiography. However, echocardiographic data currently vary, and although we have obtained a septic state (sepsis model), it is somewhat difficult to establish a stable septic cardiomyopathy state. In parallel, we are measuring circulatory dynamics in the sepsis model in a P-V loop.

研究分野：集中治療・麻酔

キーワード：敗血症 敗血症性心筋症 SERCA2a 心筋拡張障害 敗血症ラットモデル

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、敗血症性心筋症の概念が提唱されて、心筋拡張障害が重症敗血症および敗血症性ショックの独立した予後予測因子であることが報告されている。その機序についてまだ明確な結論は得られていないが、心筋細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度調節障害の関与が注目されている。一方、心筋細胞において  $Ca^{2+}$ ポンプ ATPase (SERCA2a)とその制御因子であるホスホランバン(Phospholamban: PLN)は、筋小胞体膜を介した細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度の調節を担っている。不全心において、SERCA2a 機能の活性化は、心筋収縮能増強および弛緩能促進をもたらすことが明らかとなり、SERCA2a - PLN 系を標的とする新規心不全治療薬の開発が注目を集めている。しかし、敗血症心筋と SERCA2a - PLN 系の関連についてはまだ不明な点が多い。

### 2. 研究の目的

本研究では、ブタ・ラット敗血症モデルを用いて、SERCA2a および PLN に作用する薬剤が敗血症性心筋症に与える影響およびその発生機序を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

豚敗血症生体モデルを用いて、3つの薬物 (Compound A、Resveratrol、Istaroxime) が、敗血症心筋の収縮能・拡張能に与える影響について検討する。これらの薬物は重症敗血症における拡張能改善や 受容体刺激による頻脈をきたさずに強心作用を得ることが期待できる薬物である。これら作用機序が異なる3つの薬剤の相互作用についても検討する。更に敗血症心筋における SERCA2a の酸化についても評価し、敗血症性心筋症の発生機序についても解明する。実験前日にリポポリサッカライド (LPS) を腹腔内投与し敗血症モデルを作成する。実験日当日 前日 LPS 投与したラットを  $\alpha$ -クロラロース・フェンタニルで麻酔後、気管切開を行い、人工呼吸器を装着する。心尖部より左心室内へ P-V カテーテルを留置する。血行動態安定後、心エコーで敗血症性心筋状態の確認を行う。

生体実験プロトコール

A 群: 生理食塩水ボラス・持続静脈内投与

B 群: Compound A 30mg/kg をボラス静脈投与し、その後 2mg/kg/min で持続静脈内投与

C 群: Resveratrol 30mg/kg をボラス静脈投与し、その後 2mg/kg/min で持続静脈内投与

D 群: Istaroxime 30mg/kg をボラス静脈投与し、その後 2mg/kg/min で持続静脈内投与

E 群: Compound A+Resveratrol

F 群: LPS 持続静注開始 1 時間前に Compound A + Istaroxime

G 群: LPS 持続静注開始 1 時間前に Resveratrol + Istaroxime

心筋収縮および拡張機能の評価

血行動態および血液ガス測定項目

心拍数、平均動脈圧、中心静脈圧、心係数、体血管抵抗係数、pH、 $PO_2$ 、 $PCO_2$ 、Lactate、血糖

P-V 計測による評価項目

収縮機能: 収縮末期最大エラストランス (Ees)、収縮末期圧・容積関係 (ESPVR)、左室駆出率 (LVEF)、最高圧上昇速度 (peak positive dP/dt)

拡張機能: 左室圧下行脚の時定数 (tau)、最高圧下降速度 (peak negative dP/dt)、左室拡張末期圧 (LVEDP)、拡張末期圧・容積関係 (EDPVR)

測定ポイントは baseline、投与開始後 30 分、60 分、120 分、180 分、240 分、300 分、360 分。

SERCA2a 酸化障害の評価

western blotting 法における SERCA Cys674 の亜硫酸化および SERCA Tyr294-295 ニトロ化の検出により酸化 SERCA2a を評価する。

#### 4 . 研究成果

SERCA2a - PLN 系による細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度調節と敗血症性心筋拡張障害の関わりを明らかにすることにより、敗血症患者の救命率改善を目的とした治療戦略の基礎を確立できると考えた。豚敗血症モデルを作製し、拡張障害に効果あると考えられる化合物を投与予定であったが、豚敗血症性心筋症モデルの再現性が低く、その原因究明を行った。いくつかの検討の結果、我々が可能である実験時間内に豚敗血症性心筋症モデルを作製するためには、大量のリポポリサッカライド(LPS)が必要であることが判明した。その為、対象動物モデルを豚からラットへ変更した。敗血症性心筋症モデルを作製する適切な LPS 投与量を実際の動物実験で検討して、ある程度の目途を立てる事ができた。念のためもう一つの敗血症モデルである盲腸結紮 (CLP) モデルも複数回作製して検討を行い、我々の実験では LPS モデルがより適切であるという結果を得た。並行して P-V ループでの敗血症モデルにおける循環動態測定データを収集している。

敗血症性心筋症ラットモデルの評価を心エコーで行っているが、正常ラットとの比較で差を見いだせていない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	吉富 修  (Yoshitomi Osamu)  (30380926)	長崎大学・病院(医学系)・准教授   (17301)	
研究分担者	関野 元裕  (Sekino Motohiro)  (40380927)	長崎大学・病院(医学系)・准教授   (17301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------