

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08441

研究課題名(和文) 自律神経とその幹細胞に着目した抗がん剤の遅発性心毒性の病態解明

研究課題名(英文) aetiology of delayed cardiotoxicity of anticancer drugs focusing on the autonomic nervous system and its stem cells

研究代表者

桑原 正貴 (Masayoshi, Kuwahara)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授

研究者番号：30205273

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：小児期のラットにドキソルビシン(DOX)を投与した結果、5か月齢の時点では異常が認められなかったが、11か月齢で上室性期外収縮(PAC)が発現した。PACの原因は房室結節内あるいはその周囲に線維による伝導障害であると考えられた。また、小児期の自然発生性高血圧モデルラットにDOXを投与した結果、6か月齢で動脈壁の弾性低下を示唆する血圧変化が認められた。また、心機能低下が12か月齢で認められた。一方、これらのラットに自律神経機能の異常を示唆する心拍変動性の変化は認められなかったことから、本研究において検出された心臓の異常所見は、自律神経やその幹細胞とは関係しないことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ドキソルビシンの心毒性については、がん治療においてドキソルビシンの投与を受け、生存したがんサバイバーなどにおいて治療完了から数年後に心不全を発症する遅発性心毒性の存在が示唆されており、その詳細に関する研究、解明が期待されている。本研究では、遅発性心毒性の発現機序に自律神経機能の異常が関与することを示すには至らなかったが、遅発性心毒性の病態の一端をラットで再現できることを明らかにした。また、そのラットの病態を解析することで、遅発性心毒性には血管弾性やリエントリー器質が関与する可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：Doxorubicin (DOX) administered to childhood rats showed no abnormalities at the age of 5 months, but premature supraventricular contraction (PAC) was observed at the age of 11 months. It was suggested that the cause of PAC was conduction disturbances caused by fibers in or around the AV node. In addition, when DOX was administered to childhood spontaneously hypertensive rat, blood pressure changes suggestive of reduced arterial wall elasticity were observed at 6 months of age, and a decrease in cardiac function was observed at the age of 12 months. On the other hand, no heart rate variability changes suggestive of abnormal autonomic nervous system function were observed in these rats. Therefore, it was suggested that the abnormal cardiac findings detected in this study were not related to the autonomic nervous system or its stem cells.

研究分野：病態生理学、衛生学、毒性学

キーワード：抗がん剤 心毒性 ドキソルビシン 高血圧 不整脈

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年の疫学研究によって、幼若期あるいは若齢期に抗がん剤治療を受けた患者における成人後の心疾患リスクが高いことが確認されている。小児がんで使用される代表的な抗がん剤としては、アントラサイクリン系抗腫瘍性抗生物質のドキソルビシンや微小管障害薬であるビンクリスチンなどが挙げられることから、これらの薬剤に遅発性の毒性が存在することが示唆される。しかしながら、遅発性心毒性の病態生理学的な特徴や、発現機序に関する実験的研究はほとんど報告されておらず、詳細は不明である。

これまでの研究により、成熟ラットにドキソルビシンを投与することにより心臓の組織幹細胞および血管の組織幹細胞が減少し、これらを移植することにより毒性が軽減するといった報告があることから、遅発性心毒性に様々な組織幹細胞の機能変化が関与している可能性が考えられる。心臓は自律神経等の末梢神経系と密接に関連し、その恒常性を維持している。このことから、神経系の組織幹細胞の障害や枯渇に起因した自律神経の異常が遅発性心毒性に関与している可能性が疑われる。しかしながら、遅発性心毒性の動物モデルに関する情報はほとんどなく、詳細は不明のままである。

### 2. 研究の目的

幼若動物に抗がん剤(ドキソルビシン、ビンクリスチン)を投与し、成熟後に異常が誘発される遅発性心毒性を再現する動物モデルを作製する。また、その動物の病態を解析することにより、遅発性心毒性の病態に自律神経機能とその幹細胞の異常が関与している可能性を明らかにする。

### 3. 研究の方法

1. 健常動物を用いたドキソルビシンあるいはビンクリスチン投与後の循環器系の病態解析

4週齢から7週齢にかけて、雄性 Wistar Kyoto (WKY) ラットにドキソルビシン、ビンクリスチンあるいは(1.0 mg/kg あるいは溶媒を反復投与した。イソフルラン麻酔下において心エコー検査を

5-6か月齢および10-12か月齢で実施し心機能を解析した。また、5-6か月齢あるいは10-12か月齢でテイルカフ法による血圧測定を行い、収縮期血圧、平均血圧、拡張期血圧ならびに脈圧を求めた。さらに、10-12か月齢の動物を用いてイソフルラン麻酔下で心電図を記録し、不整脈と波形成分の解析を行った。また、覚醒下における脈波変動解析を行った。12か月齢にて心臓の病理組織学的検査を実施した。

2. 高血圧自然発症ラットを用いたドキソルビシン投与後の循環器系の病態解析

4週齢の高血圧自然発症ラット (Spontaneously Hypertensive Rat :SHR) に1.と同様のプロトコルでドキソルビシンあるいは溶媒を静脈内投与した。1.と同様に、心機能解析、血圧解析、心電図解析、脈波変動解析ならびに心臓の病理組織学的検査を実施した。

### 4. 研究成果

1. 心機能解析と血圧解析においては、月齢に関わらずドキソルビシン群と溶媒群との間に統計学的に有意な差は認められなかった。心電図解析では、ドキソルビシン群にのみ上室性期外収縮(PAC)が認められた。不整脈が認められない心電図波形から計測された、RR間隔、PR間隔、QRS持続時間およびQT間隔は、いずれの指標においても、投与群と溶媒群の間で有意な差は認められなかった。また、脈波変動解析では投与群間の差は認められなかった。病理組織学的検査では、溶媒群と比較し、ドキソルビシン群において線維化領域の増大を認めた。

ビンクリスチン群では、いずれの検査においても異常所見は認められなかった。

2. 心機能解析では、12か月齢のドキソルビシン群において左心室の拡張指標であるMV E/E' E'の高値が認められた。また、ドキソルビシン群の4例中1例において、左室駆出率(EF)ならびに左室内径短縮率(FS)が著しく低下し、当該個体の心臓左室重量は増加していた。血圧解析では、6か月齢においてドキソルビシン群で溶媒群と比べて収縮期血圧は増加傾向、拡張期血圧は低下を認め、脈圧は増大した。心電図解析では、ドキソルビシン群および溶媒群のいずれにおいてもPACが認められたが、その発現頻度はドキソルビシン群の方が多かった。また、12ヶ月齢においてドキソルビシン群で心電図波形解析におけるPR間隔とQT間隔に延長傾向が認められた。脈波変動解析では群間差は認められなかった。病理組織学的検査では、溶媒群と比較し、ドキソルビシン群において線維化領域の有意な増大を認めた。

若齢期のWKYにドキソルビシンを投与し、5か月齢に成長した時点では心機能に異常所見が認められなかったが、11か月齢でドキソルビシン群でのみPACが発現した。このことから、遅発性心毒性の病態の一端を再現できたと考えられる。PACが高頻度に認められるヒトでは、心房細動や心臓死に至る割合が高いことが知られている。後天的なPACの原因としては房室結節

リエントリーが考えられることから、房室結節内あるいはその周囲に線維化などによる伝導障害が生じていた可能性がある。また、SHR のドキシソルピシン群では、6 か月齢において溶媒群よりも拡張期血圧が低く、収縮期血圧は高かった。これは動脈壁の弾性の低下に起因すると考えられ、これによる後負荷の増大が 12 か月齢で認められた心機能指標の低下や心臓体積の増加、不整脈の増悪につながったと推察された。また、11 か月齢ではドキシソルピシン群において弾性の低下が進行し、血管抵抗が上昇した結果として拡張期血圧の群間差が消失した可能性、ならびに心機能が低下した結果として、収縮期血圧の群間差が見られなくなった可能性が考えられた。今回、遅発性心毒性の発現機序に自律神経機能の異常が関与することを示すには至らなかった。一方、SHR のドキシソルピシン投与群に心臓および血管の機能変化が認められた。このことから、遅発性心毒性の発現には複合的な要因が存在し、高血圧に関連した血管構造の変化や、心筋構造の変化に伴うリエントリー基質の形成が要因の一つである可能性が考えられた。

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	栃内 亮太  (Tochinai Ryota)  (90833997)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・助教   (12601)	
研究分担者	関澤 信一  (Sekizawa Shin-ichi)  (80760420)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授   (12601)	

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