

令和 6 年 5 月 13 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09157

研究課題名（和文）アクアポリン7欠損とエイジングが心筋保護効果へもたらす影響を探る

研究課題名（英文）Effects of aquaporin 7 deficiency and aging on cardioprotection

研究代表者

井関 陽平（Iseki, Youhei）

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：00817760

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）：本研究では、アクアポリン7（AQP7）欠損状態の心臓において、del Nido心筋保護液の効果にどのような影響を及ぼすかを目的として、AQP7ノックアウト（KO）マウスの摘出心を用いたランゲンドルフ灌流モデルで検討した。BRCよりKOマウスの精子を手配し、外部業者で復元・繁殖を行った。また、本実験で使用するdel Nido心筋保護液（DN液）の開発調整を行い、野生型（WT）マウスの摘出心において心筋保護効果が発揮されることを実証し、KOマウスにおいてもDN液が有効であることが示された。さらにWTとKOマウスの差として、AQP7欠損状態の方がマロンジアルデヒドやIL-6の心筋含有量は抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

AQP7は心筋のエネルギー代謝に関わっていることは知られていたが、心筋虚血においてAQP7欠損がいかなる影響を及ぼすか、さらにcardioplegic arrestとの関係は明らかにされていなかったが、AQP7-KOマウスを用いたLangendorff灌流心を用いた本研究で、高カリウム組成の心筋保護液であるDNCを用いた実験ではWTマウスよりもKOマウスの方が、心機能の回復率が良好で心筋障害も抑制されていることは興味深い。このことから、心筋全虚血においてはAQP7チャンネルをブロックすることは再灌流後の浮腫予防につながり、心筋保護効果を発揮する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we conducted a Langendorff perfusion model using the isolated hearts of aquaporin 7 (AQP7) knockout (KO) mice to investigate the effect of del Nido cardioplegia (DNC) on myocardial protection.

Sperm from AQP7-KO mice was obtained from BRC and restored and bred by the contracted company. In addition, we developed DNC, and demonstrated that the cardioprotective effect was exerted in the isolated hearts of wild-type (WT) mice. This effective result was also shown in the AQP7-KO mice. Furthermore, as a difference between WT and KO mice, the myocardial contents of malondialdehyde and IL-6 were suppressed in the AQP7-deficient state.

研究分野：心筋保護

キーワード：AQP7 心筋保護

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国における高齢者の増加は内閣府の推計でも更なる加速が言われており、それに伴い冠動脈疾患や弁膜症で心臓手術を必要とする高齢者の増加が予想される。高齢者に限らず、心臓手術患者は肥満、糖尿病、高血圧、虚血、不全心の合併も多く、また全身諸臓器の予備能の低さから心停止を伴う開心術が足枷となることも少なくない。成績向上のためには術中心筋保護の更なる改良が求められる。

アクアポリンは 6 回膜貫通型のタンパクで水チャンネルとして機能しており、ある程度組織特異性をもって体内に発現している。アクアポリン・ファミリーとして 13 種類が確認されており、水を選択的に透過させる古典的なアクアポリン (AQP1, AQP2, AQP4, AQP5) と水及びグリセロールを透過させるアクアグリセロポリン (AQP3, AQP7, AQP9, AQP10) と分類されがたい (AQP6, AQP8, AQP11, AQP12) グループとがある (Matsuzaki J Nippon Med Sch 2009;5:118-124)。

心臓に発現している AQP1 が水のみを透過させるアクアポリンであるのに対し、AQP7 はグリセロールチャンネルとしても機能し、心筋細胞内へのグリセロール取り込みに重要な役割を果たしている。大阪大学の前田らのグループによって、このグリセロールが細胞内 ATP 含有量の増加へ寄与している可能性があり、心不全の発症機序への関与が示唆されている (Hibuse Cardiovasc Res 2009;83:34-41)。また、近年行われた日本人における AQP7 遺伝子の解析の結果、3 種類の変異が見つかり、それらのうち G264V 変異は機能解析により、水及びグリセロールの透過能が障害されていることが明らかとなった (Kondo Eur J Biochem 2002;269:1814-1826)。

2. 研究の目的

小児開心術では未熟心筋への対策として del Nido 心筋保護液 (DNC) の有効性が報告されており (O'Brien Ann Thorac Surg 2009;87:1517-1524)、その投与間隔の長さ (60-90 分毎) も魅力的である。小児に有用である DNC が、今後成人開心術でも普及していくことが予想される。

肥満状態では心臓における AQP7 発現が低下しているとの指摘もあり、肥満患者比率の高い成人開心術において DNC が成績向上に寄与するかを探るため、本研究の目的は、心臓に発現し ATP 産生源の 1 つであるグリセロールの取り込みに関与する AQP7 に着目し、AQP7 欠損状態での DNC の有効性を検証することである。

3. 研究の方法

【実験準備】

理化学研究所バイオリソースセンターより AQP7 ノックアウト (KO) マウスの凍結精子を入手し、当該施設と契約しているジャクソン・ラボラトリー社に復元・繁殖を委託する。生まれたマウスの遺伝子検査は本学動物実験室に依頼する。以上により WT マウスと AQP7-KO マウスを準備する。

【実験プロトコール】

Langendorff 灌流モデルを用いて、20 分間の前灌流、25 分間の全虚血による心停止、60 分間の再灌流を行う (但し、DNC は虚血前に 2 分間投与し心停止を得る)。実験グループは、週齢 13 週以上 21 週以下の WT マウスと AQP7-KO マウスを用いて、単純全虚血と虚血前に DNC を灌流した 2 群に分ける (4 群・各群 n=6)。本実験で使用する DNC の組成は、文献的情報から調整した。

【評価方法】

心機能データ

心拍数や左室発生圧回復率、左室拡張末期圧変化、冠灌流量などを測定する

生化学的評価

心筋障害の指標として、Troponin T 総流出量の定量を行う

酸化ストレスの評価

心筋内のマロンジアルデヒド含有量をフルオロメーターで測定する

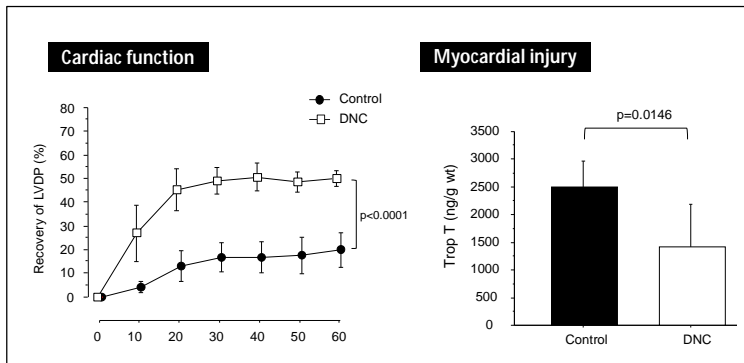
炎症反応の評価

心筋内のインターロイキン6 (IL-6) のマイクロプレートリーダーで測定する

4. 研究成果

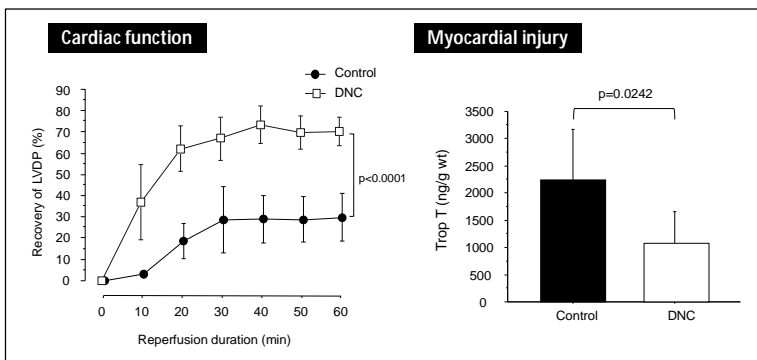
【WT マウスにおける比較】

WT マウスにおいて DNC は心筋保護効果を発揮した。



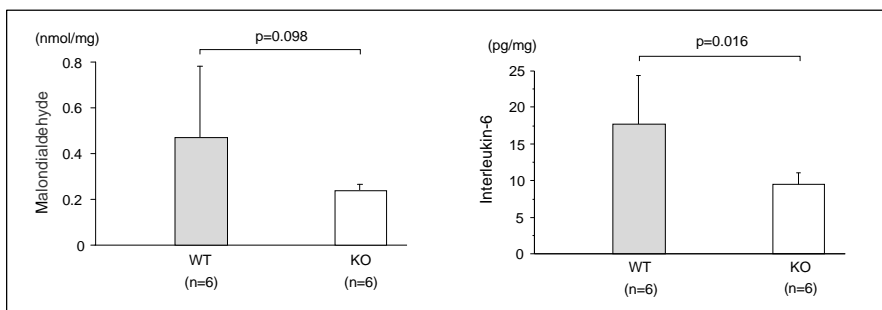
【KO マウスにおける比較】

KO マウスにおいて DNC は心筋保護効果を発揮した。



【WT マウスと KO マウスにおける DNC の効果比較】

KO マウスにおいて DNC の保護効果は WT マウスに比較し、酸化ストレス軽減の傾向がみられ、炎症反応は有意に抑制された。



【まとめ】

Langendorff 灌流モデルを用いたマウス摘出心の実験系において、DNC を用いた検討がなされ、KO マウスでも心筋保護効果が発揮された。この実験系では、WT マウスよりも KO マウスの方が、心機能の回復率が良好で心筋障害も抑制されており、酸化ストレスや炎症反応にも低減されていた。このことから、DNC 使用の心停止においては AQP7 チャンネルが機能しないことが再灌流後の心機能改善につながる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yasuhiro Kawase, Masahiro Fujii, Ryuzo Bessho, Yosuke Ishii	4. 巻 27
2. 論文標題 Association between Aquaporin 7 Expression and Myocardial Protection with Nicorandil or Del Nido Cardioplegia: An Experimental Study	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Heart Surgery Forum	6. 最初と最後の頁 E450-E458
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.59958/hsf.7129	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤井正大
2. 発表標題 Experimental study on aquaporin 7 and cardioprotection with del Nido cardioplegia
3. 学会等名 第53回日本心臓血管外科学会学術総会
4. 発表年 2023年

〔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	藤井 正大 (Fujii Masahiro) (60297926)	日本医科大学・医学部・准教授 (32666)	
研究分担者	別所 竜蔵 (Bessho Ryuzo) (60281432)	日本医科大学・医学部・教授 (32666)	
研究分担者	丸山 雄二 (Maruyama Yuji) (50328837)	日本医科大学・医学部・講師 (32666)	

6. 研究組織（つづき）

	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	秋元 敏雄 (Akimoto Toshio) (30184112)	日本医科大学・医学部・准教授 (32666)	

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