

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861380

研究課題名(和文) 抑うつ状態における心筋保護機構阻害因子の解明とその制御

研究課題名(英文) Elucidation and control of the inhibitor to myocardium protection under depressive state

研究代表者

一ノ宮 大雅 (ICHINOMIYA, Taiga)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・助教

研究者番号：50404249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：抑うつ状態での虚血再灌流障害に対して心筋保護効果を得るためには、JAK-STAT系を介さずにPI3K-Aktを活性化させることが重要であると考えられている。本研究により、Rhoキナーゼ阻害薬である塩酸ファスジルはJAK-STAT、COX-2を介さずにm-KATPチャンネルを活性化させて心筋保護効果を発揮することが明らかとなった。そのため、塩酸ファスジルは抑うつ状態において、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)：It is thought that PI3K-Akt activity without JAK-STAT is important for myocardial protection against ischemic reperfusion injury under depressive state. In this study, it was found that fasudil hydrochloride which is Rho kinase inhibitor activates m-KATP channel without JAK-STAT, COX-2 and showed myocardial protection. Therefore, fasudil hydrochloride may show myocardial protection under depressed state.

研究分野：医歯薬学

キーワード：薬理的ポストコンディショニング

1. 研究開始当初の背景

あらかじめ短時間の虚血または薬剤投与を行うことでその後の長時間虚血による心筋梗塞サイズが縮小する現象をプレコンディショニング(プレコン)といい、その臨床応用に向けて多くの研究がなされてきた。一方、長時間虚血後の再灌流初期に短時間の虚血や薬剤投与を行うことで心筋梗塞サイズが縮小する現象、ポストコンディショニング(ポストコン)も報告された。予測できない虚血イベントに対しても応用できる可能性があるため、有効な薬理的ポストコン法の開発は臨床的にも非常に有用であると考えられる。

近年、うつ病と冠動脈疾患に関する報告がなされるようになった。冠動脈疾患患者の20%にうつ病を認め、うつ病は単独で冠動脈疾患発症のリスク因子であり、うつ病患者に発生した心筋梗塞後の累積死亡率は非うつ病患者の場合と比較して著しく高いとされている。うつ病と心疾患の間に想定されるメカニズムとして、自律神経系の調節異常、血液凝固・血管内皮機能の障害、神経内分泌機能異常、炎症などが考えられている。しかし、我々はこの他の機序として、抑うつ状態における内在性臓器保護機構の障害が関与しているのではないかと考えるが、この分野に関してはほとんど報告がない。

心臓におけるプレコン・ポストコンには、様々な細胞内情報伝達経路を介しているが、最終的な効果器としてmitochondrial permeability transition pore(mPTP)が報告されており、このmPTP開口抑制によりアポトーシスの誘導を抑えられる。以前は再灌流後早期にphosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)、Akt、eNOSを介して保護効果が発揮されるものと、再灌流後数時間経ってJanus kinase (JAK)、signal transducer and activator of transcription (STAT)、Cyclooxygenase-2 (COX-2)を介し保護効果が

発揮されるものがあると考えられていた。しかし近年JAK-STATは再灌流後早期の虚血プレコン・ポストコンにも関与していることが明らかとなった。加えてJAK-STATの再灌流後早期の保護効果にはPI3K-Aktの活性化が必要であり、JAK-STATの下流においてPI3K-Aktが活性化されることが示唆された。また抑うつ状態のラットでは虚血ポストコンの作用が減弱し、またSTAT3とAktの活性が消失するとされている。そのためJAK-STATの活性化を介さずにPI3K-Aktを活性化させることが、抑うつ状態において内在性臓器保護効果を発揮させるために重要な要素である可能性が高いと考える。

Rhoキナーゼ阻害薬である塩酸ファスジルは脳動脈瘤破裂後の脳血管攣縮に対して保険適応があり臨床使用されている。近年その冠血管拡張作用にも注目が集まっており、冠動脈疾患に対しても有用であるとされ、臨床応用されている。またRhoキナーゼ阻害薬はRhoキナーゼの活性阻害による直接的なPI3K-Aktの活性化を介して心筋保護効果を発揮することが示唆されている。

2. 研究の目的

今回の研究では、ラット心虚血再灌流モデルを用いて、抑うつ状態における臓器保護法の開発と機序の解明を行う。

3. 研究の方法

その後、すでに確立された in vivo 心筋虚血再灌流モデルを用い、ラット心筋虚血モデルに塩酸ファスジルを虚血後に投与しコントロール群と比較してその心筋保護効果を検討する。

更に各種阻害薬を用いて、心筋保護作用の機序を解明する。

(1) 心筋虚血再灌流障害に対する薬理的ポストコン法の検討

心筋虚血再灌流モデル:SDラットにペントバルビタール腹腔内投与にて麻酔後、右内頸

静脈に薬剤投与用静脈ルートを確認、右内頸動脈に圧トランスデューサーカテーテルを留置する。

生体監視装置を用いて動脈圧、心拍数を経時的に測定する。

気管切開の上人工呼吸管理とした後に左開胸し、心臓を露出した後に肉眼的に冠動脈左前下行枝を同定し、7-0 ナイロン糸をかけ30分間の冠動脈閉塞を行い、その後120分間再還流時間を設ける。

心筋虚血モデルにおいて以下に示す群を設定する。

コントロール群：心筋虚血再還流のみ(CON)

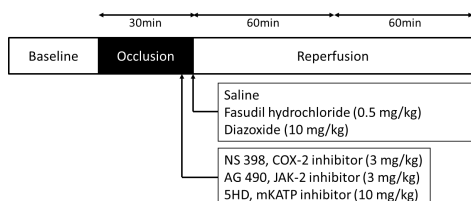
塩酸ファスジル群：虚血再灌流直前に塩酸ファスジル 0.5 mg/kg (FH) 投与

再灌流時間の後、冠動脈を再び閉塞した状態でパテントブルーダイを心腔内に投与し虚血危険領域を明らかにした状態で心臓を取り出し凍結保存し、その後に心筋切片を TTC 染色にて染色し梗塞領域を明らかにして、梗塞領域と虚血危険領域の面積比を求め各群間において比較する。

(2) 分子機序の解明

JAK2 阻害薬である AG490、COX-2 阻害薬である NS398、m-KATP チャネル阻害薬である 5-hydroxydecanoate、m-KATP チャネル開口薬である Diazoxide を用いて保護効果への影響を検討する。

実験タイムコース



4. 研究成果

(1) 血行動態

群内および群間において MAP、HR とともに

有意差を認めなかった。

(2) 虚血危険領域

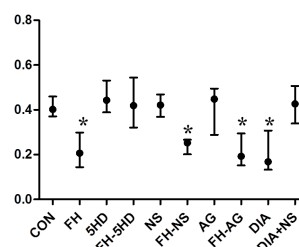
Left ventricular area at risk

	AAR/LV (%)
CON	51±9
FH	52±9
5HD	48±8
FH + 5HD	44±7
NS	47±12
FH + NS	43±11
AG	51±9
FH + AG	53±13
DIA	46±7
DIA + NS	44±9

Data are mean±SD, and n = 10 for each. CON = control; FH = 0.5 mg/kg fasudil hydrochloride; DIA = 10 mg/kg diazoxide; 5HD = 10 mg/kg 5-hydroxydecanoic acid; NS = 3 mg/kg NS398, AG = 3 mg/kg AG498. *Significantly (p<0.05) different from control.

各群で虚血危険領域に有意差を認めなかった

(3) 心筋梗塞範囲



5HD group was administered 10 mg/kg 5-hydroxydecanoic acid, NS group was administered 3 mg/kg NS398, AG group was administered 3 mg/kg AG490 at 5 min before reperfusion, CON received saline just before reperfusion; FH, 0.5 mg/kg fasudil hydrochloride, DIA, 10 mg/kg diazoxide. *Significantly (p < 0.05) different from control.

塩酸ファスジル、Diazoxide は心筋保護効果を示した。

塩酸ファスジルの心筋保護効果は m-KATP チャネル阻害薬により抑制されたが、COX-2 阻害薬、JAK-2 阻害薬投与下でも心筋保護効果を発揮した。

Diazoxide の心筋保護効果は COX-2 阻害薬により抑制された。

本研究により、塩酸ファスジルの心筋保護効果は JAK-STAT、COX-2 を介さず、m-KATP チャネルを介していることが明らかとなった。このため塩酸ファスジルは JAK-STAT、COX-2 の下流で PI3K-Akt の活性を介して m-KATP チャネルを開口させている可能性が示唆され、抑うつ状態における心筋保護

効果が期待できる。

一方、m-KATP チャンネル開口薬である Diazoxide の保護効果が COX-2 阻害薬により抑制された。塩酸ファスジルと Diazoxide の心筋保護効果に対して COX-2 阻害薬の影響が異なる点に関しては、今後さらなる検討が必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

一ノ宮大雅 他、人工心肺中の灌流圧管理に関する検討、臨床麻酔、査読なし 2014;38:1187-91.

〔学会発表〕(計4件)

一ノ宮大雅 他、術中管理に難渋した両側開胸 MICS による OPCAB、僧帽弁形成術の一例、日本心血管麻酔科学会 2015/10/10、アクロス福岡、福岡県、福岡市

一ノ宮大雅 他、エホバの証人患者の僧帽弁閉鎖不全症に対する心臓手術2症例の麻酔経験、日本循環制御医学会 2015/06/05、ウインクあいち、愛知県、名古屋市

酒井亜輝子、一ノ宮大雅 他、劇症心筋炎後の重症両心不全に対する Bridge to Bridge において RVAD 離脱に難渋した1例、日本心血管麻酔科学会 2015/10/11、アクロス福岡、福岡県、福岡市

岡田真衣、一ノ宮大雅 他、人工心肺下心臓手術におけるトラネキサム酸の至適投与量の検討 2013/09/27、北九州国際会議場、福岡県、北九州市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

一ノ宮 大雅 (ICHINOMIYA, Taiga)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・
助教

研究者番号：50404249