

令和 4 年 6 月 30 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K11047

研究課題名(和文)敗血症病態における心筋細胞内Ca²⁺動態の解析研究課題名(英文)Analysis of cardiac Ca²⁺ homeostasis in septic shock

研究代表者

渡邊 泰秀 (Watanabe, Yasuhide)

静岡県立大学・薬学部・客員教授

研究者番号：50305380

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：敗血症ショックの心機能低下の機序を、心筋細胞Na⁺/Ca²⁺交換輸送体に注目した。成果として、敗血症マウスに対するドブタミンの陽性変力作用(Sakai et al.)、カルベジロールがNCX機能を抑制(Tashiro et al.)、フレカイニドがNCX機能を抑制(Kuroda et al.)。レボシメンダンとミルリノンの敗血症における心筋機能保護作用(Yamashita et al.)。敗血症心筋症の病態形成機構の解明と新たな治療への応用(鈴木他、日薬理誌)。ピナシジルがNCX機能を増強(Iguchi et al.)。NCX機能を増強する薬物の作用機序(Watanabe)を論文報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

敗血症ショックは、体末梢血管抵抗低下および心筋収縮性低下を主体として急性循環不全をきたす病態である。初期は末梢循環の維持された“warm shock”となりやすいが、血管内皮傷害と並行して“cold shock”へ移行し、心機能低下が具現化しやすい。しかしながら、現在のところ効果がある敗血症治療薬は見出されていない。

心筋のCa動態を調節する心筋Na⁺/Ca²⁺交換輸送体について解析し、敗血症治療薬の発見の手助けになることを期待する。今回の研究を通してNCX機能を増強するKATP開口薬のニコランジルやピナシジル、PDE抑制薬のシルデナフィルなどが発見され、今後さらなる研究成果が期待される。

研究成果の概要(英文)：We investigate cardiomyocyte Ca²⁺ kinetics and cardiac Na⁺/Ca²⁺ exchanger function in sepsis shock. Our collaborators reported dobutamine showed a positive inotropic effect on septic model mice (Sakai et al., 2017). We reported that carvedilol inhibited INCX in guinea-pig cardiac ventricular myocytes (Tashiro et al., 2017) and flecainide suppressed INCX (Kuroda et al., 2017). We reported that the effects of levosimendan and milrinone on hearts of septic mice (Yamashita et al., 2018) and our collaborators reported the elucidation on pathophysiologic mechanisms of septic shock and its application of new treatments (Suzuki et al., 2018). We reported that pinacidil enhanced INCX current in a NO-cGMP-PKG pathway (Iguchi et al., 2019) and summarized the mechanisms of cardioprotective drugs which enhanced NCX1 function (Watanabe, 2019). In 2020 and 2021, we researched in collaboration with the University of Shizuoka on cardiac contractility in septic shock.

研究分野：心臓・循環薬理学

キーワード：Na/Ca交換輸送体 心室筋細胞 パッチクランプ法 敗血症 心筋Ca動態 マウス敗血症モデル

1. 研究開始当初の背景

敗血症性ショックの主病態は血管拡張分子の産生に伴う体血管抵抗減弱による“warm shock”であるが、心機能は時系列で低下し“cold shock”へ移行することが知られている(Matsuda, et al. Anesthesiology 2000)。この病態の基盤となる全身性炎症は、TNF-R (tumor necrosis factor 受容体)、IL-R (interleukin 受容体)、TLR (toll-like 受容体)などの炎症性受容体シグナルとして確認でき、これらの炎症性受容体シグナルは好中球などの白血球などの炎症性浸潤細胞だけでなく、心筋細胞を含む主要臓器の細胞群に存在し、心臓においても独自に炎症を誘導する可能性がある(Matsuda, et al. J Intensive Care, 2016)。敗血症に合併する心筋細胞傷害は、血管内皮細胞傷害が進行する過程で血管拡張能低下により、心機能低下として現れやすい。この病態は、低体温やアシデミアを合併した敗血症においても、心機能低下が生じやすいこととして観察できる。また、敗血症初期の交感神経緊張の高い状態においては、心筋細胞内Ca²⁺過負荷として「たこつぼ型様の心筋症」になる可能性がある。強心薬としてドパミンやドブタミンなどのアドレナリン作動性受容体刺激薬を使用した際には、心筋細胞内Ca²⁺過負荷が増悪し、敗血症性ショックが心機能悪化として、増悪する危険性がある。

敗血症性ショックは、体末梢血管抵抗低下および心筋収縮性低下を主体として急性循環不全をきたす病態である。初期は末梢循環の維持された“warm shock”となりやすいが、血管内皮傷害と並行して“cold shock”へ移行し、心機能低下が具現化しやすい。

2. 研究の目的

本研究は、敗血症性ショックの初期病態“warm shock”時の心機能低下機序を、心筋細胞内Ca²⁺動態とCa²⁺調節膜タンパク質の変化を解析することを目的とする。盲腸結紮穿孔敗血症マウスモデルを用いて、敗血症性ショック病態の初期から後期に渡る心筋Ca²⁺動態を解析し、Ca²⁺調節膜タンパク質、特にNa⁺-Ca²⁺交換系の解析により、敗血症性ショックにおける心病態学を明らかにする。

3. 研究の方法

敗血症性ショックの初期病態における心筋細胞Ca²⁺調節機構障害の細胞電気・分子薬理学的研究について、マウスの敗血症モデルに用いて、エコーやランゲンドルフ灌流法にて心機能分析を行い、引き続き、心臓のCa²⁺調節膜タンパク質に焦点を当て、分子生物学的的方法としてmRNA発現、蛋白質発現の分析、細胞電気生理学的手法であるパッチクランプ法にて機能分析、正常マウスと比較検討する。さらに、遺伝子工学的手法を用いたCa²⁺調節機構タンパク質の変異体を利用して、Ca²⁺調節機構障害とCa²⁺調節チャネル、トランスポーター等の膜タンパク質の実態を明らかにする。さらに、敗血症性ショックにより産生される炎症性サイトカインとCa²⁺調節膜タンパク質との関係を分子生物学的的方法やパッチクランプ法にて検討する。

4. 研究成果

- (1) 受容体拮抗薬カルベジロールが、心筋細胞 Ca^{2+} 調節機構のトランスポーターである Na/Ca 交換輸送体を抑制することを見出した(Tashiro et al., 2018; Watanabe 2019)。一方、ATP 感受性 K チャネル開口薬のニコランジル、ピナシジルが、NO-c GMP-PKG 経路を介して Na/Ca 交換輸送体機能を亢進することを見出した (Wei et al., 2016; Iguchi et al., 2019; Watanabe 2019)。さらに、ホスホジエステラーゼ阻害薬 (PDE 阻害薬) シルデナフィル、NO 産生物のソディウムニトロプルシド (SNP) もまた NO-c GMP-PKG 経路を介して K チャネル開口薬する(Iguchi et al., 2019; Watanabe 2019)。作用機序は不明だが、ボンウィリアムズの I 群抗不整脈薬のフレカイニド (Na チャネル拮抗薬) が Na/Ca 交換輸送体機能を亢進することを見出した (Kuroda et al., 2017; Watanabe 2019)。敗血症の初期は NO 産生し末梢血管系が拡張するが、末期になると末梢循環器系が破綻することが知られている。今後、異なる敗血症の時期に、ATP 感受性 K チャネル開口薬作用と Na/Ca 交換輸送体機能を亢進する作用を有する薬物と心機能を亢進する薬物の組み合わせなどを施行し、敗血症に対する心筋保護作用についてさらなる研究を進めていきたい。
- (2) 敗血症モデルマウスである盲腸結紮穿孔誘発性敗血症マウスを作製し、炎症性心筋傷害におけるカテコラミン反応性低下の機序を見出し、さらに炎症性心筋傷害機能に対するホスホジエステラーゼ阻害薬 (PDE 阻害薬) であるミルリノンとレボシメندانの効果を経験した (Sakai et al., 2017; Yamamoto et al., 2018)。未だ、敗血症に対する特効薬は見出されていない。今後さらなる研究を推し進め、敗血症における心筋機能障害メカニズムを解明し、特効薬の発見につなげていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kuroda Y, Yuasa S, Watanabe Y, Ito S, Egashira T, Seki T, Hattori T, Ohno S, Kodaira M, Suzuki T, Hashimoto H, Okata S, Tanaka A, Aizawa Y, Murata M, Aiba T, Makita N, Furukawa T, Shimizu W, Kodama I, Ogawa S, Kokubun N, Horigome H, Horie M, Kamiya K, Fukuda K	4. 巻 9
2. 論文標題 Flecainide ameliorates arrhythmogenicity through NCX flux in Andersen-Tawil syndrome-iPS cell-derived cardiomyocytes	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 245-256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2017.01.002	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 -
1. 著者名 Tashiro M, Watanabe Y, Yamakawa T, Yamashita K, Kita S, Iwamoto T, Kimura J	4. 巻 99
2. 論文標題 Suppressive effect of carvedilol on Na ⁺ /Ca ²⁺ exchange current in guinea-pig cardiac ventricular cell	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pharmacology	6. 最初と最後の頁 40-47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000450753.Epub2016Sep28	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 -
1. 著者名 Yamamoto S, Muramatsu M, Azuma E, Ikutani M, Nagai Y, Sagara H, Koo BN, Kita S, O'Donnell E, Osawa T, Takahashi H, Takano KI, Dohmoto M, Sugimori M, Usui I, Watanabe Y, Hatakeyama N, Iwamoto T, Komuro I, Takatsu K, Tobe K, Niida S, Matsuda N, Shibuya M, Sasahara M.	4. 巻 7
2. 論文標題 A subset of cerebrovascular pericytes originates from mature macrophages in the very early phase of vascular development in CNS	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 3855
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-03994-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sakai M, Suzuki T, Tomita K, Yamashita S, Palikhe S, Hattori K, Yoshimura N, Matsuda N, Hattori Y	4. 巻 312
2. 論文標題 Diminished responsiveness to dobutamine as an inotrope in mice with cecal ligation and puncture-induced sepsis : attribution to phosphodiesterase 4 upregulation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Am J Physiol Heart Circ Physiol	6. 最初と最後の頁 H1224-H1237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpheart.00828.2016.Epub2017Apr28	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 鈴木登紀子、酒井麻里、山下重幸、富田賢吾、服部裕一	4. 巻 151
2. 論文標題 敗血症心筋症の病態形成機構の解明と新たな治療への応用	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日薬理誌	6. 最初と最後の頁 111 ~ 116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Yasuhide Watanabe	4. 巻 69
2. 論文標題 Cardiac Na ⁺ /Ca ²⁺ exchange stimulators among cardioprotective drugs.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal Physiological Science	6. 最初と最後の頁 837-849
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12576-019-00721-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Iguchi K, Saotome M, Yamashita K, Hasan P, Sasaki M, Maekawa Y, Watanabe Y.	4. 巻 392
2. 論文標題 Pinacidil, a KATP channel opener, stimulates cardiac Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger function through the NO/cGMP/PKG signaling pathway in guinea pig cardiac ventricular myocytes.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 949-959
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00210-019-01642-1.	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 -

1. 著者名 Yamashita S, Suzuki T, Iguchi K, Sakamoto T, Tomita K, Yokoo H, Sakai M, Misawa H, Hattori K, Nagata T, Watanabe Y, Matsuda N, Yoshimura N, Hattori Y	4. 巻 391
2. 論文標題 Cardioprotective and functional effects of levosimendan and milrinone in mice with cecal ligation and puncture-induced sepsis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 1021-1032
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00210-018-1527-z.	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 -

1. 著者名 Iguchi K, Saotome M, Yamashita K, Hasan P, Sasaki M, Maekawa Y, Watanabe Y.	4. 巻 -
2. 論文標題 Pinacidil, a KATP channel opener, stimulates cardiac Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger function through the NO/cGMP/PKG signaling pathway in guinea pig cardiac ventricular myocytes.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00210-019-01642-1	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14件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Watanabe Y, Kimura J
2. 発表標題 Cardiac Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger (NCX1) inhibitors and enhancers in the heart
3. 学会等名 Experimental Biology 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Watanabe Y, Jia-zhang Wei, Kazuhiko Takeuchi, Kanna Yamashita, Miyuki Tashiro, Satomi Kita, Takahiro Iwamoto, Hiroshi Watanabe, Junko Kimura
2. 発表標題 Enhanced effect of nicorandil on Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger function via guanylate cyclase in guinea pig cardiac myocytes
3. 学会等名 第46回日本心脈管作動物質学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 酒井麻里、鈴木登紀子、富田賢吾、山下重幸、芳村直樹、服部裕一
2. 発表標題 盲腸結紮穿孔誘発性敗血症マウスでの炎症性心筋傷害におけるカテコラミン反応性低下の機序
3. 学会等名 第46回日本心脈管作動物質学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡邊泰秀
2. 発表標題 心筋Na/Ca交換体(NCX1)抑制薬と促進薬
3. 学会等名 第68回日本薬理学会北部会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松田直之、酒井麻里、鈴木登紀子、服部裕一
2. 発表標題 敗血症マウスの心室筋におけるアドレナリン作動性 受容体シグナル変容に関する解析
3. 学会等名 第45回日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山下重幸、鈴木登紀子、富田賢吾、坂本卓也、酒井麻里、横尾宏毅、渡邊泰秀、芳村直樹、服部裕一
2. 発表標題 盲腸結紮穿刺誘発性敗血症モデルマウスにおけるレボシメンダンおよびミルリノンの心臓の炎症および機能に対する効果
3. 学会等名 第27回日本循環薬理学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 富田賢吾、山下重幸、鈴木登紀子、坂本卓也、酒井麻里、横尾宏毅、渡邊泰秀、芳村直樹、服部裕一
2. 発表標題 盲腸結紮穿刺誘発性敗血症モデルマウスにおけるレボシメンダンおよびミルリノンの強心作用と心保護効果
3. 学会等名 第47回日本心脈管作動物質学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井口恵介、早乙女雅夫、渡邊泰秀、前川裕一郎
2. 発表標題 モルモット心筋においてピナシジルは細胞内NO/cGMP/PKG経路を介してNa ⁺ /Ca ²⁺ exchanger機能を増強する
3. 学会等名 第151回日本循環器学会東海地方会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂本卓也、大橋若菜、富田賢吾、渡邊泰秀、服部裕一
2. 発表標題 末梢血管拡張作用を併せ持つ抗血小板薬シロスタゾールの抗炎症作用
3. 学会等名 第59回日本脈管学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井口恵介、早乙女雅夫、山下寛奈、前川裕一郎、渡邊泰秀
2. 発表標題 モルモット心筋においてピナシジルはNa ⁺ /Ca ²⁺ exchangerをNO/cGMP/PKG経路を介して増強させる
3. 学会等名 第28回日本循環薬理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 斉藤優奈、富田賢吾、Samar Imbaby、山崎弘美、渡邊泰秀、服部裕一
2. 発表標題 敗血症病態における肺微小血管透過性亢進に対するVEGFの寄与について
3. 学会等名 第28回日本循環薬理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野間口 財、児玉昌美、山崎泰弘、坂本多穂、永森収志、渡邊泰秀、黒川洵子
2. 発表標題 心筋KCNQ1チャネル分子複合体の病態生理学的意義に関する研究
3. 学会等名 第142回日本薬学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 33.Iguchi K, Watanabe Y, Saotome M, Yamashita K, Sasaki M, Maekawa Y.
2. 発表標題 Pinacidil, a KATP channel opener stimulate a cardiac Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger function through NO/cGMP/PKG pathways in guinea-pig cardiac myocytes.
3. 学会等名 WCP2018 (18th WORLD CONGRESS OF BASIC AND CLINICAL PHARMACOLOGY) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Iguchi K, Saotome M, Yamashita K, Ikoma T, Hasan P, Maekawa Y, Watanabe Y.
2. 発表標題 The effects of pinacidil, an ATP-sensitive K ⁺ channel opener on cardiac Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger function in guinea pig cardiomyocytes.
3. 学会等名 63RD ANNUAL MEETING OF THE BIOPHYSICAL SOCIETY, Baltimore (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 渡邊泰秀、安西尚彦、桜田香 (編)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 250
3. 書名 コメディカルのための薬理学 第三版	

〔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	服部 裕一 (Hattori Yuuichi) (50156361)	富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・教授 (13201)	
研究 分 担 者	松田 直之 (Matsuda Naoyuki) (50332466)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	

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