

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：37604

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：23790114

研究課題名(和文) 糖尿病患者バイパス血管の長期開存を目指した Rho/Rhoキナーゼ阻害薬の有用性

研究課題名(英文) Usefulness of the Rho/Rho kinase inhibitor to overcome perioperative spasm of coronary artery bypass graft in diabetes mellitus

研究代表者

鳥取部 直子 (TOTORIBE, Naoko)

九州保健福祉大学・薬学部・准教授

研究者番号：70322576

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,200,000円、(間接経費) 360,000円

研究成果の概要(和文)：Rho/Rhoキナーゼ阻害薬は、ヒトバイパス血管における各種生理活性物質(セロトニン、ノルアドレナリン、アンギオテンシン、トロンビンおよびADP)の血管収縮反応に対し、有意な抑制作用を示すことが明らかとなった。さらに、糖尿病バイパス血管で見られる各種生理活性物質の血管収縮増強作用を抑制することが明らかとなった。本研究結果は、Rho/Rhoキナーゼ阻害薬が、糖尿病患者バイパス術後のれん縮予防に有用な薬理学的ツールである可能性を示唆するものである。

研究成果の概要(英文)：Rho/Rho kinase inhibitor significantly inhibited 5-HT-, NA-, AngII-, thrombin- and ADP-induced vasoconstrictions in the isolated human saphenous vein (SV). Furthermore, Rho/Rho kinase inhibitor significantly inhibited the enhanced vasoconstrictions to 5-HT, NA and AngII in diabetes mellitus (DM). These results indicate that the Rho-kinase inhibitor is a useful pharmacological tool to prevent vasospasm when the human SV from patients with DM were used as an arterial graft.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：糖尿病 バイパス血管 薬理学

1. 研究開始当初の背景

虚血性心疾患は心筋虚血により発症する心筋障害であり、狭心症と心筋梗塞に代表される。これら冠動脈疾患の主な外科的手術として冠動脈バイパス手術が行われるが、使用する血管の術中および術後の血管れん縮の防止と術後の血栓性閉塞・狭窄の軽減がバイパス血管の長期開存率ならびに予後の良好な長期成績結果をもたらすとされている。研究代表者は、H19年度～H20年度の科学研究補助金(若手研究B)の採択研究において、バイパス血管には、血小板由来の生理活性物質の一つであるセロトニン(5-HT)が特異的に作用する5-HT_{2A}受容体および5-HT_{1B}受容体の両受容体の発現が確認され、血管れん縮に関与していることを明らかとし、冠動脈バイパス手術の術中および術後の血管れん縮予防には、5-HT_{2A}受容体拮抗薬に加えて5-HT_{1B}受容体拮抗薬の併用が有用となる可能性を示唆した(課題番号:19790082, 研究課題名:長期開存を目指したヒト冠動脈バイパス血管の薬理的検討)。さらに、H21年度～H22年度の科学研究補助金(若手研究B)の採択研究においては、糖尿病群において、非糖尿病群に比較して5-HTのバイパス血管反応性が優位に増強しており、この血管反応性増強作用には、5-HT_{2A}および5-HT_{1B}受容体の両者関わっていることを明らかにした(課題番号:21790104, 研究課題名:糖尿病患者の冠動脈バイパス血管長期開存を目指して(薬理的検討))。

このような糖尿病患者のバイパス血管反応性を検討する中で、研究代表者は、糖尿病患者の5-HTの血管反応性の増強に、重要な細胞内情報伝達経路の一つであるRho/Rhoキナーゼ経路が関与していることを見出した。糖尿病は、バイパス血管の長期開存率を低下させるリスクファクターとして知られている。従って、「糖尿病患者のバイパス血管れん縮に対するRho/Rhoキナーゼ経路の関与を明確に解明し、Rhoキナーゼ阻害薬が血管れん縮防止薬として有用であるか否かを薬理的に詳細に検討する必要がある。

2. 研究の目的

ヒトバイパス血管の長期開存を目指して、特に糖尿病患者のバイパス血管反応性増強作用に対し、Rho/Rhoキナーゼ阻害薬が有効な薬理的ツールであるか否かについて、各種生理活性物質の反応性をもとに検証する。

3. 研究の方法

ヒト大伏在静脈は、本学近くに位置する宮崎県立延岡病院心臓血管外科において、冠動脈バイパス手術のためにグラフト材料として摘出された血管の不用部位を使用した。摘出された血管はKrebs-Henseleit液(栄養液)に保存し氷中にて直ちに本学に移送、実験に供した。これらグラフト血管の処置に関しては、これまでの報告(Gao Y.J., Yang H.,

Teoh K., Lee R.M. (2003) Detrimental effects of papaverine on the human internal thoracic artery. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 126, 179-185)に従って行った。摘出リング状標本における張力変化の測定は、大伏在静脈のリング状標本をKrebs-Henseleit液を満たしたマグヌス管内に懸垂し、張力変化をアナログ・デジタル変換器(8チャンネルのPower Lab)を用いて等尺性に記録した。

4. 研究成果

(1)ヒトバイパス血管における各種生理活性物質の収縮反応に対するRho/Rhoキナーゼ阻害薬の影響

Rho/Rhoキナーゼ阻害薬(塩酸ファスジル Fasudil, 3 μM)は、ヒトバイパス血管(大伏在静脈)におけるトロンビン、ADP、5-HT、ノルアドレナリン(NA)、アンジオテンシンII(AngII)の血管収縮反応を有意に抑制した(図1~5)。

Rho/Rhoキナーゼ阻害薬(塩酸ファスジル Fasudil, 3 μM)は、ヒトバイパス血管(大伏在静脈)におけるトロンボキササンA2アナログであるU46619の血管収縮反応に対しては抑制効果を示さなかった(図6)。

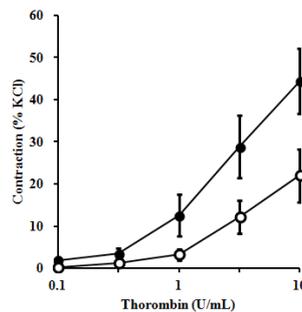


図1 control (○), Fasudil 3 μM (●) *P<0.05 compared with control

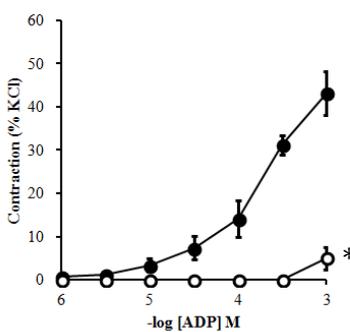


図2 control (○), Fasudil 3 μM (●) *P<0.05 compared with control

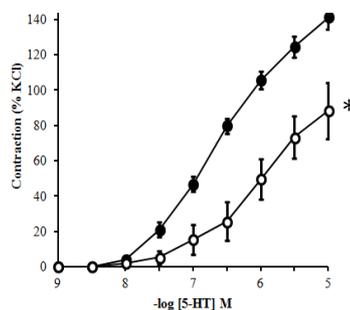


図3 control (○), Fasudil 3 μM (●) *P<0.05 compared with control

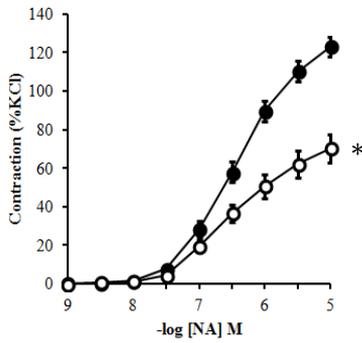


図 4
control (○),
Fasudil 3 μM (●)
()
*P<0.05
compared with
control

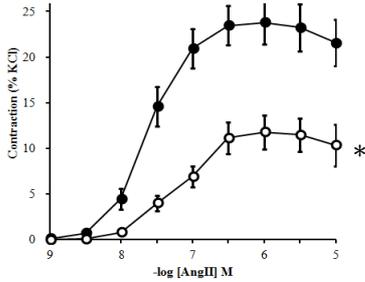


図 5
control (○),
Fasudil 3 μM (●)
()
*P<0.05
compared with
control

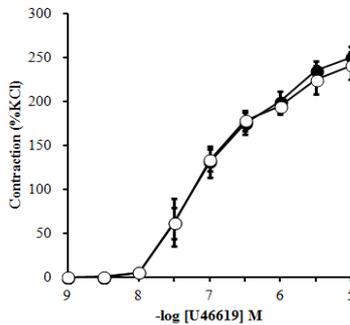


図 6
control (○),
Fasudil 3 μM (●)
()

(2) 糖尿病患者バイパスグラフト血管における Rho/Rho キナーゼ阻害薬の影響

Rho/Rho キナーゼ阻害薬 (塩酸ファスジル Fasudil 3μM) は、糖尿病患者バイパス血管 (大伏在静脈) におけ 5-HT、NA および AngII による有意な血管反応性増強を消失させた (図 7~9)。さらに、その阻害の程度は、AngII による糖尿病患者グラフト血管収縮増強作用で特に大きく観察された (図 9)。

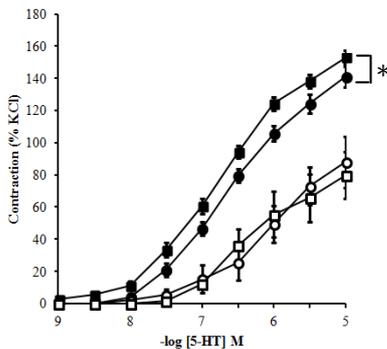


図 7
DM- (○),
DM+ (●),
DM-, Fasudil
3 μM (□),
DM+, Fasudil
3 μM (■)
*P<0.05

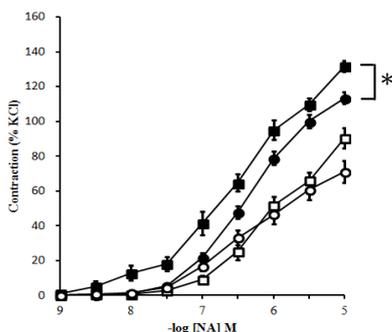


図 8
DM- (○),
DM+ (●),
DM-, Fasudil
3 μM (□),
DM+, Fasudil
3 μM (■)
*P<0.05

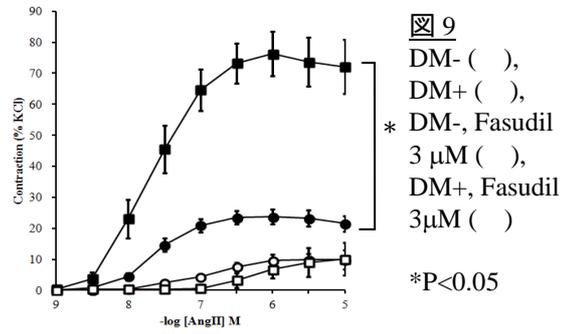


図 9
DM- (○),
DM+ (●),
DM-, Fasudil
3 μM (□),
DM+, Fasudil
3 μM (■)
*P<0.05

本研究結果より、Rho/Rho キナーゼ阻害薬 (塩酸ファスジル) は、ヒトバイパス血管におけるトロンピン、ADP、5-HT、NA および AngII の血管収縮反応に対し有意な抑制効果を示すが、トロンボキサン A2 アナログである U46619 の血管収縮反応に対しては、抑制効果を示さないことが明らかとなった。また、糖尿病患者バイパスグラフト血管で見られる 5-HT、NA および AngII に対する血管反応性増強に対して、有意な抑制効果を示すことが明らかとなった。さらに、中でも特に AngII による糖尿病患者バイパスグラフト血管の反応性増強に対して、有意な抑制効果を示すことが確認された。以上より、糖尿病患者バイパスグラフト血管の長期開存を目指した術中・術後の血管れん縮予防には、Rho/Rho キナーゼ阻害薬は有用な薬理的ツールの可能性が示唆された。

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 3 件)

Matsuo Y, Kuwabara M, Tanaka-Totoribe N, Kanai T, Nakamura E, Gamoh S, Suzuki A, Asada Y, Hisa H, Yamamoto R. (2011) The defective protein level of myosin light chain phosphatase (MLCP) in the isolated saphenous vein, as a vascular conduit in coronary artery bypass grafting (CABG), harvested from patients with diabetes mellitus (DM). *Biochem Biophys Res Commun.* **412**, 323-327. 査読有

Kanai T, Kuwabara M, Tanaka-Totoribe N, Nakamura E, Matsuo Y, Gamoh S, Suzuki A, Asada Y, Hisa H, Yamamoto R. (2012) Insulin Induces Internalization of the Plasma Membrane 5-Hydroxytryptamine(2A) (5-HT(2A)) Receptor in the Isolated Human Endothelium-Denuded Saphenous Vein via the Phosphatidylinositol 3-Kinase Pathway. *J Pharmacol Sci.* **118**, 178-185. 査読有

鳥取部直子、金井祐、山本隆一: 糖尿病バイパス血管における 5-HT 誘発性血管収縮反応増強のメカニズム (2013) *日本薬理学雑誌* **141**, 117. (査読有)

〔学会発表〕(計 3 件)

金井 祐, 蒲生修治, 鳥取部直子, 桑原正知, 中村栄作, 比佐博彰, 山本隆一: 内皮除去ヒト摘出伏在静脈においてGLP-1アナログ製剤 Exendin-4 はセロトニン誘発性血管収縮反応を抑制する, 第 86 回日本薬理学会年会, 2012. 3, 福岡.

金井 祐, 蒲生修治, 鳥取部直子, 横田敦子, 中村栄作, 桑原正知, 比佐博彰, 山本隆一: 内皮除去ヒト伏在静脈において Exendin-4 はPKAの活性化を介して5-HT誘発性血管収縮反応を抑制する, 第 66 回日本薬理学会西南部会, 2013. 11, 福岡

横田敦子, 中村栄作, 児嶋一司, 新名克彦, 鳥取部直子, 金井 祐, 蒲生修治, 山本隆一: 糖尿病患者におけるアンジオテンシン誘発性血管収縮の増強反応, 第 44 回日本心臓血管外科学会学術総会, 2014. 2, 熊本

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

鳥取部 直子 (TOTORIBE Naoko)
九州保健福祉大学・薬学部・准教授
研究者番号: 70322576

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし