

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10214

研究課題名(和文)血管新生薬剤による虚血性心筋症の克服

研究課題名(英文)Overcoming ischemic cardiomyopathy by angiogenic drugs

研究代表者

上野 高義 (Ueno, Takayoshi)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：60437316

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ONO1301徐放製剤(ONO1301-SR)と大網の併用療法により心筋微小血管障害は改善し、心機能回復につながると仮説し、この仮説を検証するために、ミニブタ虚血性心筋症モデルを用いてONO1301-SRシートの心臓直接貼付に加えて、組織修復効果を有する有茎大網移植を併用する治療法を開発した。結果として、ONO1301-SRと有茎大網を用いた併用療法では、側副血行路の発達を中心とした機能的微小新生血管の増生を促進し、心機能の回復につながった。本治療法は心筋微小血管再生療法としてなりうるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We hypothesized that therapeutic efficacy may be augmented by a combination of placing a sheet immersed in ONO-1301SR, a slow-release synthetic prostacyclin agonist-inducing multiproangiogenic cytokines, over the left ventricle and a pedicled omental flap in a chronic myocardial infarct heart. In conclusions, ONO-1301SR combined with a pedicled omental flap therapy synergistically promoted myocardial angiogenesis, leading to cardiac functional recovery in a porcine chronic MI model. This cell-free combination therapy shows promise as an effective treatment for enhancement of myocardial angiogenesis in a chronic MI heart.

研究分野：心臓血管外科学

キーワード：心筋再生 プロスタサイクリン作動薬 有茎大網 心筋血流量 心筋血管抵抗

1. 研究開始当初の背景

虚血性心筋症においては、微小循環異常に伴い血行再建後も局所的に心筋虚血が残存し LV remodeling が進行すると報告されており、微小循環を標的とした治療の開発が望まれる。ONO1301 は、TXA2 合成酵素阻害作用を併せ持つ IP receptor 選択的 agonist であり、内因性修復因子産生を介した微小循環の改善効果が、報告されている。一方、我々はラット虚血性心筋症モデルを用いた筋芽細胞と大網を併用した治療において、平滑筋で裏打ちされた機能的な血管新生の増加を見出し、さらには大網から宿主心筋への微小血管のコネクションを見出したことから、この有茎大網の微小血管障害治療への可能性を見出した。

2. 研究の目的

ONO1301 徐放製剤(ONO1301-SR)と、大網の併用療法により心筋微小血管障害は改善し、心機能回復につながると仮説し、この仮説を検証するために、ミニプタ虚血性心筋症モデルを用いて ONO1301-SR シートの心臓直接貼付に加えて、組織修復効果を有する有茎大網移植を併用する治療法を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

ゲッチングミニプタ8週齢、20~25 kgを用いて、全身麻酔、人工呼吸器管理下に、左第4肋間開胸下にて左前下行枝にアメロイドコンストラクターリングを留置することで梗塞を作成した。梗塞作成4週後に Sham 群、大網単独群(OM群)、ONO1301-SR 単独群(ONO群)、ONO1301-SR+大網群(ONO+OM群)の4群(各6匹)に割付けを実施(0週)した。治療は、全身麻酔、人工呼吸器管理下に、胸骨正中切開にて左前下行枝左側心表面の前側壁領域に治療対象物質を貼付した。Sham群では、生理食塩水を浸漬させたゼラチンシートのみを、ONO群はONO1301-SR(3 mg/kg)を浸漬させたゼラチンシートを心表面に貼付した。OM群、ONO+OM群では前述のゼラチンシートの貼付に加えて、上腹部正中切開下に有茎大網を採取し、左室表面を覆うように留置した。治療介入4週後(4週)にサクリファイスし、以下に示す評価を行った。

1-1. Echocardiogram

0週目と4週目に実施した。経胸壁下に左室長軸 Mモード法を用いて、左室収縮末期径(LVESD)、左室拡張末期径(LVEDD)、心収縮率(LVEF)を測定した。

1-2. ¹³N-NH₃ PET

0週目と4週目に実施した。静脈および吸入麻酔下に安静時および最大充血時(アデノシン 180 γ 点滴静注)に、それぞれ撮像を行い、心筋血流量(MBF)および冠血流予備能(CFR)を測定した。MBF, CFRともに、AHAの提唱する17セグメントごとに評価を行い、左前下行枝(LAD)領域、左回旋枝(LCx)領域、右冠動脈(RCA)領域、そして心全体(Total)領域としてそれぞれ算出した。

1-3. Pressure Wire Study

4週目に実施した全身麻酔下、人工呼吸器管理下に経大腿動脈的にpressure wire(St. Jude Medical)を挿入し、安静時および最大充血時(アデノシン180 γ 点滴静注)にそれぞれ心筋微小血管抵抗(IMR)を測定した。

2. 組織学的・免疫組織学的検討

4週目に実施した左室心筋の線維化率(Masson-Trichrome 染色)、capillary density(CD31 単独免疫染色、CD31/SMA 共免疫染色)、心筋細胞径(PAS染色)を測定した。

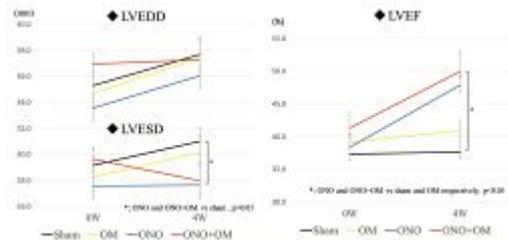
2-1. Real-time PCR

4週目に実施した心筋梗塞周辺領域(border zone)、心筋梗塞遠隔領域(remote zone)におけるvascular endothelial growth factor(VEGF)、hepatocyte growth factor (HGF)、basic fibroblast growth factor(bFGF)、stem cell derived factor-1(SDF-1)のmRNAの発現量を測定し、相対的に評価した。

4. 研究成果

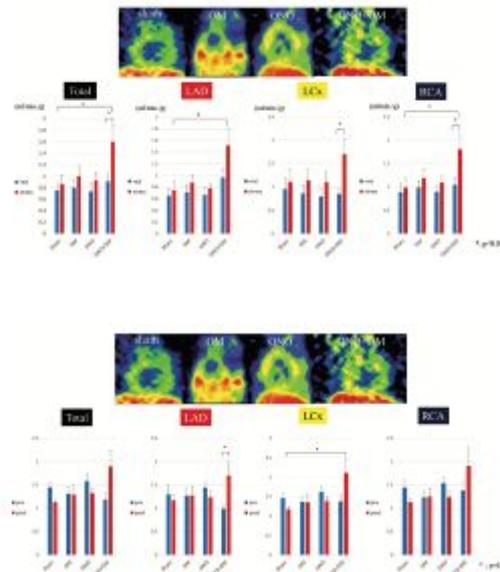
1. ONO1301-SR+有茎大網併用療法による虚血性心筋症に対する心機能回復効果

治療4週後において、LVEDDに4群間に有意差を認めなかったが、LVESDではONO群、ONO+OM群がSham群と比較して有意に小さかった。また、ONO群、ONO+OMではSham群、OM群と比較して有意にLVEFの改善を認めた。



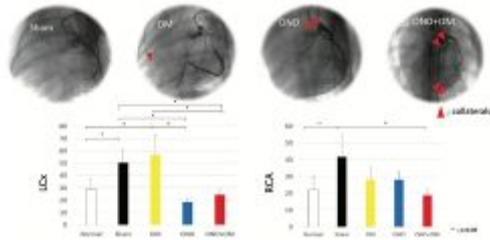
2. ONO1301-SR+有茎大網併用療法による心筋血流量および冠血流予備能改善効果

治療4週後において、ONO+OMはTotal領域、LCx領域およびRCA領域で有意にMBFの増加を認め、さらにTotal領域、LAD領域、RCA領域においてはSham群と比較して有意にMBFが高値であった。また、治療4週後において、ONO+OM群はLAD領域で有意にCFRの増加を認め、LCx領域でSham群と比較して有意にCFRが高値であった。



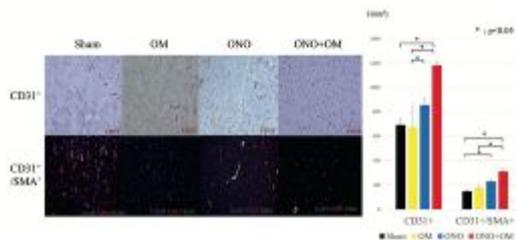
3. ONO1301-SR+有茎大網併用療法による心筋微小血管抵抗改善効果

治療4週後において、LCx領域ではONO群、ONO+OM群はNormal群と同様にSham群、OM群と比較して有意にIMRが低値であった。また、RCA領域においては、ONO+OM群のみNormal群と同様にSham群と比較して有意にIMRが低値であった。



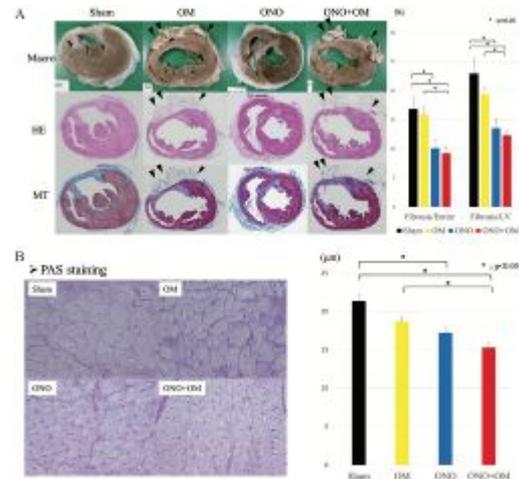
4. ONO1301-SR+有茎大網併用療法による機能的血管新生効果

ONO群はOM群と比較して、またONO+OMはSham群、OM群と比較して有意に多くの新生血管(CD31+)を認めた。また、ONO群はSham群と比較して、ONO+OMはSham群、OM群と比較してさらに平滑筋で裏打ちされた機能的血管(CD31+/SMA+)を多く認めた。



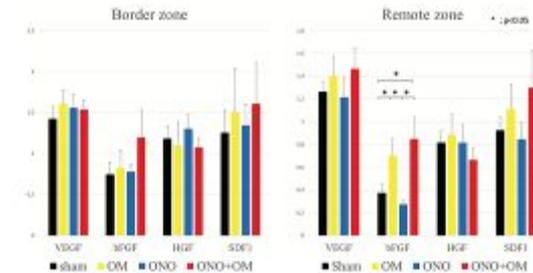
5. ONO1301-SR+有茎大網併用療法による線維化率改善効果および心筋肥大抑制効果

治療4週後において、ONO群はSham群と比較して有意に線維化率が低下しており、細胞径が有意に小さかった。一方、ONO+OM群はSham群、OM群と比較して有意に線維化率が低く、有意に細胞径が小さかった。



6. 有茎大網併用療法による血管新生促進因子の誘導効果

Border zoneでは、VEGF、bFGF、HGF、SDF-1の4因子ともに4群間に有意な発現の差を認めなかった。一方、remote zoneでは発現量は他の3因子と比較して低いものの、有茎大網を用いたOM群、ONO+OM群において他2群と比較して有意にbFGFの発現量が高かった。



本研究により以下の点が明らかになった。

1. 治療4週後において、ONO群、ONO+OM群ではSham群、OM群と比較して有意に心機能の回復を認めた。
2. 治療4週後において、ONO+OM群では有意にMBF、CFRの増加を認め、さらに側副血行路領域において微小血管抵抗の低下を認めた。
3. 治療4週後において、ONO+OM群では有意に線維化率の低下、機能的血管新生の増加、心筋細胞肥大の抑制を認めた。
4. 治療4週後において、border zoneでは血管新生誘導因子の発現量に4群間に差を認めなかったが、remote zoneではOM群、ONO+OM群において他2群と比較して有意にbFGFの発現量が高かった。

大網には過去にも報告されているように、さまざまな組織修復因子が豊富に含まれている臓器であるが、有茎大網単独治療では血管新生効果や線維化抑制効果は限定的であり、結果心機能改善や微小血管機能不全の改善には至らなかったと考えられるが、ONO1301-SRと有茎大網併用治療ではONO1301-SR単独による機能的血管新生効果、線維化抑制効果に加えて大網より豊富な組織修復因子を心表面に誘導することより、側副血行路を中心としたさらなる血管新生効果を生み出し、結果

心筋微小血管機能不全の改善や、心機能の改善、そして冠血流予備能の増加をもたらすものと考えられた。

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)

A sustained release drug delivery system of synthetic prostacyclin agonist, ONO-1301SR: a new reagent to enhance cardiac tissue salvage and/or regeneration in the damaged heart

Fukushima S, Miyagawa S, Sakai Y, Sawa Y
Heart Fail Rev 2015 20:401-13

査読なし doi: 10.1007/s10741-015-9477-8

ミニブタ虚血性心筋症モデルを用いた徐放性プロスタサイクリンアゴニスト”ONO1301-SR”と有茎大網を用いた心筋再生療法の開発

矢嶋真心、宮川繁、福嶋五月、酒井芳樹
上野高義、澤芳樹、他

日本心臓血管外科学会雑誌2016 45巻
18-23 査読なし doi:なし

A prostacyclin agonist and an omental flap increased myocardial blood flow in a porcine chronic ischemia model.

Yajima S, Miyagawa S, Fukushima S, Sakai Y,
Isohashi, Watabe, Ikeda, Horitsugi G, Harada A,
Sakaniwa R, Hatazawa J, Sawa Y

Journal of Thorac Cardiovasc Surgery

2018 1-13

査読なし doi:なし

〔学会発表〕(計 7件)

新規プロスタサイクリンアゴニストを用いた慢性虚血心筋に対する心筋再生療法の開発

福嶋五月、宮川繁、上野高義、澤芳樹、他
第20回日本冠動脈外科学会

2015年7月9日、ウエスティン都ホテル京都市
京都市

プロスタグランジンアゴニストを用いたCell-Free型再生医療の重症心不全への応用

福嶋五月、宮川繁、上野高義、澤芳樹、他
第42回日本臓器保存生物医学会

2015年11月13日、いわて県民情報交流センター

盛岡市

Oral administrations of synthetic prostacyclin agonist ONO-1301 prevents deterioration of cardiac performance by preserving cardiac structural proteins in the delta sarcoglycan deficient hamster promising treatment for patients with DCM
Shigeru Miyagawa, Takayoshi Ueno, Yoshiki Sawa, etc

American Heart Association 2015

2015年11月9日 Orange county convention center

ミニブタ虚血性心筋症モデルを用いた

ONO-1301と有茎大網を用いた心筋再生療法の開発

福嶋五月、宮川繁、上野高義、澤芳樹、他
第116回日本外科学会

2016年04月15日、大阪国際会議場

大阪市

虚血性重症心不全に対するプロスタサイクリンアゴニストを用いたセルフリー型心筋再生療法の開発

福嶋五月、宮川繁、上野高義、澤芳樹、他
第21回日本冠動脈外科学会

2016年07月14日、電気ビル共創館

福岡市

A Slow-Releasing Synthetic Prostacyclin Agonist

“ONO 1301-SR” Combined with Omental Flap

Increases Myocardial Blood Flow and Reduces

Microvascular Resistance, Associated with

Functional Recovery, in a Porcine Chronic

Myocardial Infarction Model

Shin Yajima, Shigeru Miyagawa, Takayoshi Ueno, Yoshiki Sawa, etc

BSCR Autumn Meeting 2016

2016年09月05日 Leeds, UK

A Slow-Release Synthetic Prostacyclin Agonist

“YS1402” Combined with Pedicle Omental Flap

Reduces Microvascular Resistance and Increases

Myocardial Blood Flow, Associated with

Functional Recovery, in a Porcine Chronic

Myocardial Infarction Model

Shin Yajima, Shigeru Miyagawa, Takayoshi Ueno, Yoshiki Sawa, etc

AHA 2016 2016年11月14日 New Orleans, USA

〔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□

上野 高義 (UENO, Takayoshi)
大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座 講師
研究者番号: 6 0 4 3 7 3 1 6

(2)研究分担者□

宮川 繁 (MIYAGAWA, Shigeru)
大阪大学・大学院医学系研究科・特任教授(常勤)
研究者番号: 7 0 5 4 4 2 3 7

福嶋 五月 (FUKUSHIMA, Satsuki)
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院医長
研究者番号: 8 0 5 9 6 8 6 7

秦 広樹 (HATA, Hiroki)
大阪大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 8 0 6 3 8 1 9 8