

令和元年6月13日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08559

研究課題名(和文) EP4受容体刺激の左室等容性弛緩能および充満期拡張能に対する作用および機序の解析

研究課題名(英文) Effects of EP4 receptor agonist on the left ventricular diastolic function, and analysis of its mechanism

研究代表者

杉山 篤 (SUGIYAMA, Atsushi)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：60242632

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ONO-AE1-329によるEP4受容体刺激は、正常犬において、陽性変力作用および陽性変弛緩作用を示し、左室拡張末期容積を増加および左室収縮末期容積を減少した。陽性変力作用は慢性心不全モデルでも確認されたが、陽性変弛緩作用に関しては一定の傾向を示さなかった。次に、caldaretによる細胞内Ca<sup>2+</sup>動態の修飾作用を正常犬において検討した。陽性変力作用および陽性変弛緩作用にくわえて種々の電気薬理学的作用を示すことが明らかになった。細胞内Ca<sup>2+</sup>動態の変化が心筋イオンチャンネルに与える作用に関してはさらなる機序の解明が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

拡張不全型心不全は全心不全患者の半数以上を占め、予後不良である。拡張不全型心不全に対して、収縮不全型心不全の治療において予後改善が認められた薬物(レニン・アンジオテンシン系抑制薬および遮断薬など)の有用性が評価されたが、同様の効果は認められず左室拡張機能を修復できる薬物の開発が強く求められていた。本研究では正常犬および拡張不全型心不全モデル犬を用いて新規作用点(EP4受容体刺激および細胞内Ca<sup>2+</sup>動態修飾)を有する化合物の心血管作用を評価した。得られた知見は、拡張不全型心不全に対する薬物治療の突破口になることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：EP4 receptor stimulation by ONO-AE1-329 showed the positive inotropic and lusitropic effects in addition to the increase of left ventricular end-diastolic volume and the decrease of end-systolic volume in normal dogs. The positive inotropic action of ONO-AE1-329 was also confirmed in the chronic heart failure model induced by chronic atrioventricular block, but the lusitropic action were various and bidirectional. Furthermore, intracellular Ca<sup>2+</sup> modulation by caldaret was assessed in normal dogs, showing that it can exert various kinds of electropharmacologic actions as well as the positive inotropic and lusitropic effects. Elucidation of the further mechanism at the cellular level may be necessary for analyzing how the change in the intracellular Ca<sup>2+</sup> dynamics may affect each of ionic channels in the heart.

研究分野：循環薬理学

キーワード：拡張不全型心不全 収縮不全型心不全 ONO-AE1-329 caldaret EP4受容体 細胞内Ca<sup>2+</sup>

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

左室駆出率が保たれた拡張不全型心不全 (heart failure with preserved ejection fraction: HFpEF) は全心不全患者の半数以上を占め、予後不良である。HFpEF に対して、収縮不全型心不全 (heart failure with reduced ejection fraction: HFrEF) の治療において予後改善が認められた薬物 (レニン・アンジオテンシン系抑制薬および遮断薬など) の有用性が評価されたが、同様の効果は認められず左室拡張機能を修復できる薬物の開発が強く求められている。本研究では、正常犬および HFpEF モデル犬を用いて薬理的 EP4 受容体刺激の左室拡張能に対する作用を評価した。HFpEF に対する薬物治療の突破口となる知見を期待できると考えた。

### 2. 研究の目的

HFpEF は能動的弛緩の異常および受動的スティフネスの増加の両者により発症すると考えられているが、臨床応用されている薬物の中で受動的スティフネスを改善するものは存在しない。我々は EP4 受容体選択的刺激の左室能動的弛緩および受動的スティフネスに対する作用を評価し、次に心筋細胞内における作用機序を検討した。HFpEF に対する薬物治療の突破口となる知見を模索した。

### 3. 研究の方法

平成 28 年度: 麻酔正常犬を用いて、EP4 agonist ONO-AE1-329 の左室等容性弛緩能および充満期拡張能に対する作用を評価し、dopamine (D<sub>1</sub> agonist, β<sub>1</sub> agonist), dobutamine (β<sub>1</sub> agonist) および milrinone (phosphodiesterase 3 inhibitor) と比較した。

平成 29 年度: 当初は腎ラップ法による左室駆出率が保たれた拡張性心不全 (HFpEF) モデル犬を用いて ONO-AE1-329 の左室等容性弛緩能および充満期拡張能に対する作用を評価する予定であったが、モデル作成の成功の歩留まり率が 20%未満であることが判明したので、慢性房室ブロック犬を慢性心不全モデルとして使用した。ONO-AE1-329 の左室等容性弛緩能および充満期拡張能に対する作用を麻酔下で評価した。

平成 30 年度: Caldaret は筋小胞体 Ca<sup>2+</sup>/ATPase (SERCA) の働きを促進するとともに RyR2 受容体からの拡張期 Ca<sup>2+</sup> leak を抑制する化合物である。正常ハロセン麻酔犬に caldaret (0.5, 5, 50 μg/kg/10 min, i.v.) を累積的に投与し電気生理学的作用および心行動態への作用を検討した (n=5)。今回評価した caldaret の用量は細胞内 Ca<sup>2+</sup>動態の修飾作用を期待できる血中濃度を達成することが確認されている。

### 4. 研究成果

平成 28 年度: 正常犬を用いて薬理的 EP4 受容体刺激薬 ONO-AE1-329 の「左室等容性弛緩能」および「充満期拡張能」に対する作用をそれぞれ評価した。低用量の ONO-AE1-329 (0.3 ng/kg/min) を静脈内に 10 分間持続投与し、投与開始 5, 10, 15, 20 および 30 分後に各指標を測定した。次に中用量の ONO-AE1-329 (1 ng/kg/min) を静脈内に 10 分間持続投与し同様に各指標を測定した。さらに高用量の ONO-AE1-329 (3 ng/kg/min) を静脈内に 10 分間持続投与し、同様に各指標を測定した。対照薬の測定時間は、ドパミン (3 μg/kg/min) およびドブタミン (1 μg/kg/min) に関しては投与開始 10 分後、ミルリノンに関しては 5 μg/kg/min で 10 分間持続投与し、0.5 μg/kg/min に変更 10 分後とした。ONO-AE1-329 には、既存の強心薬と同様の等容性収縮力および拡張力の増強作用に加えて、既存薬に認められない左室拡張末期容積の増加作用および左室収縮末期容積の減少作用が認められた。

平成 29 年度: ビーグル犬をチオペンタール (30 mg/kg) で麻酔し、カテーテルアブレーション法により完全房室ブロック誘発し、全身管理を 4 週間以上行い、良好な術後経過をたどった個体を今回の実験に用いた (n=4)。ペントバルビタール (30 mg/kg, i.v.) で全身麻酔を導入し、イソフルラン (1.5%) を吸入させることで麻酔を維持した。大腿動静脈にシースを挿入し、左室圧測定用カテーテルおよび右房/右室電極カテーテルをそれぞれ挿入した。左室圧モニター下で、刺激周期 400 ms で、右房、右室を 150 ms の時間差で順次電気ペーシングを行った。ONO-AE1-329 投与前にコントロール値を 2 回測定した。これらの値が安定していることを確認後に低用量の ONO-AE1-329 (0.3 ng/kg/min) を静脈内に 30 分間持続投与し、投与開始 10, 20 および 30 分後に各指標を測定した。次に高用量の ONO-AE1-329 (1 ng/kg/min) を静脈内に 30 分間持続投与し同様に各指標を測定した。前年度実施した正常犬で観察された陽性変力作用は慢性心不全モデルでも確認されたが、変弛緩作用には一定の傾向を確認できなかった。慢性心不全に起因する心筋リモデリングを有する心臓では EP4 受容体刺激による細胞内情報伝達系が正常心と変化している可能性が考えられた。

平成 30 年度: 正常ハロセン麻酔犬に細胞内 Ca<sup>2+</sup>動態の修飾作用を有する caldaret (0.5, 5, 50 μg/kg/10 min, i.v.) を正常犬に累積的に投与し電気生理学的作用および心行動態への作用を検討した (n=5)。低-中用量は左室等容性収縮速度を増加し、等容性弛緩速度も増加傾向を示したが、充満期拡張能には作用せず、拡張不全型心不全 (HFpEF) よりも収縮不全型心不全 (HFrEF) への有用性が期待された。本研究では正常犬を用いて評価しており拡張能改善効果を過小評価している可能性があるため、慢性心不全モデル動物での詳細な評価が必要と考えられた。高用量は心拍数を増加し、末梢血管抵抗を増大したので、虚血性心疾患や HFpEF 患者ではかえって有害かもしれない。低-中用量は房室結節伝導を促進した。これは僧帽弁/三尖弁閉鎖不全を惹

起して心房細動の誘因になる可能性がある。中-高用量は右室有効不応期を延長した。心室内伝導速度や再分極過程には影響を与えなかったため、新規機序の心室不整脈予防薬としての可能性がある。以上のように細胞内 Ca<sup>2+</sup>動態の修飾は、変力/変弛緩作用のみならず種々の電気薬理学的作用を有することが明らかになった。細胞内 Ca<sup>2+</sup>動態の変化が心筋に存在する各イオンチャネルに与える作用に関しては細胞レベルでのさらなる機序の解明が必要である。

## 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 27 件)

- 1 Sugiyama A, Hagiwara-Nagasawa M, Kambayashi R, Goto A, Chiba K, Ando K, Naito AT, Izumi-Nakaseko H. Electropharmacological effects of intracellular Ca<sup>2+</sup> handling modulator caldaret on the heart assessed in the halothane-anesthetized dogs. *J Pharmacol Sci*. 査読有 2019;139:180-185 doi: 10.1016/j.jphs.2019.01.004. 査読有
- 2 Goto A, Hagiwara-Nagasawa M, Izumi-Nakaseko H, Kitta K, Hoshiai K, Chiba K, Ando K, Akie Y, Naito AT, Sugiyama A. Use of microminipigs for unveiling unknown mechanisms of azithromycin-induced cardiovascular death. *J Pharmacol Sci*. 査読有 2018;138:198-202 doi: 10.1016/j.jphs.2018.10.003
- 3 Izumi-Nakaseko H, Hagiwara-Nagasawa M, Naito AT, Goto A, Chiba K, Sekino Y, Kanda Y, Sugiyama A. Application of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes sheets with microelectrode array system to estimate antiarrhythmic properties of multi-ion channel blockers. *J Pharmacol Sci*. 査読有 2018;137:372-378. DOI: 10.1016/j.jphs.2018.07.011.
- 4 Wada T, Hagiwara-Nagasawa M, Yoshihara K, Nakazato Y, Lurie KG, Sugiyama A. Knocking the chest as a "bridge to pacemaker" -Reply-. *Circ J*. 査読有 2018;82:2446-2447. DOI:10.1253/circj.CJ-18-0765.
- 5 Goto A, Izumi-Nakaseko H, Hagiwara-Nagasawa M, Chiba K, Ando K, Naito AT, Sugiyama A. Analysis of torsadogenic and pharmacokinetic profile of E-4031 in dogs bridging the gap of information between in vitro proarrhythmia assay and clinical observation in human subjects. *J Pharmacol Sci*. 査読有 2018;137:237-240. DOI:10.1016/j.jphs.2018.06.005.
- 6 Lubna NJ, Nakamura Y, Hagiwara-Nagasawa M, Goto A, Chiba K, Kitta K, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Naito AT, Akie Y, Sugiyama A. Electropharmacological characterization of microminipigs as a laboratory animal using anti-influenza virus drug oseltamivir. *J Toxicol Sci*. 査読有 2018;43:507-512. DOI:10.2131/jts.43.507.
- 7 Goto A, Nakamura Y, Lubna NJ, Chiba K, Hagiwara-Nagasawa M, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Naito AT, Sugiyama A. Analysis of safety margin of lithium carbonate against cardiovascular adverse events assessed in the halothane-anesthetized dogs. *Cardiovasc Toxicol*. 査読有 2018;18:530-539. DOI:10.1007/s12012-018-9464-0
- 8 Wada T, Ando K, Naito AT, Nakamura Y, Goto A, Chiba K, Lubna NJ, Cao X, Hagiwara-Nagasawa M, Izumi-Nakaseko H, Nakazato Y, Sugiyama A. Sunitinib does not acutely alter left ventricular systolic function but induces diastolic dysfunction. *Cancer Chemother Pharmacol*. 査読有 2018;82:65-75. DOI:10.1007/s00280-018-3593-9
- 9 Matsukura S, Nakamura Y, Hoshiao K, Hayashi T, Koga T, Goto A, Chiba K, Lubna NJ, Hagiwara-Nagasawa M, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Naito AT, Sugiyama A. Effects of moxifloxacin on the proarrhythmic surrogate markers in healthy Filipino subjects: Exposure-response modeling using ECG data of thorough QT/QTc study. *J Pharmacol Sci*. 査読有 2018;136:234-241. DOI:10.1016/j.jphs.2018.01.009
- 10 Enkhsaikhan A, Takahara A, Nakamura Y, Goto A, Chiba K, Lubna NJ, Hagiwara-Nagasawa M, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Naito AT, Sugiyama A. Effects of red wine vinegar beverage on the colonic tissue of rodents: Biochemical, functional and pharmacological analyses. *Biol Pharm Bull*. 査読有 2018;41:281-284. DOI: 10.1248/bpb.b17-00816
- 11 Ando K, Nakamura Y, Hagiwara-Nagasawa M, Harada H, Miyamoto H, Inamura N, Takagi K, Goto A, Chiba K, Lubna NJ, Izumi-Nakaseko H, Naito AT, Sugiyama A. Comparison of electropharmacological effects between terfenadine and its active derivative fexofenadine using a cross-over study in the halothane-anesthetized dogs to analyze variability of pharmacodynamic and pharmacokinetic profiles of terfenadine and torsadogenic risk of fexofenadine. *J Toxicol Sci*. 査読有 2018;43:183-192. DOI:10.2131/jts.43.183
- 12 Ando K, Takahara A, Nakamura Y, Wada T, Chiba K, Goto A, Lubna NJ, Hagiwara-Nagasawa M, Izumi-Nakaseko H, Hoshiai K, Akie Y, Naito AT, Sugiyama A. Changes of electrocardiogram and hemodynamics in response to dipyridamole: In vivo comparative analyses using anesthetized beagle dogs and microminipigs. *J Pharmacol Sci*. 査読有 2018;136:86-92. DOI: 10.1016/j.jphs.2018.01.002

- 13 Lubna NJ, Wada T, Nakamura Y, Chiba K, Cao X, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Naito AT, Satoh Y, [Sugiyama A](#). Amitriptyline may have possibility to induce Brugada syndrome rather than long QT syndrome. *Cardiovasc Toxicol*. 査読有 2017;18:91-98. DOI: 10.1007/s12012-017-9417-z
- 14 Izumi-Nakaseko H, Li W, Cao X, Nakamura Y, Ando K, Tanaka K, Enkhsaikhan A, Gotov C, Purevjav B, Chultemsuren Y, Nyambayar K, Dorjsuren N, Hagiwara-Nagasawa M, Naito AT, Koike K, [Sugiyama A](#). Assessment of pharmacological effects of Mongolian medicinal plant *Adonis mongolica* in guinea pigs in vivo and in vitro. *Toho J Med*. 査読有 2017;3:131-141. DOI:10.14994/tohojmed.2017-004
- 15 Motokawa Y, Nakamura Y, Hagiwara-Nagasawa M, Goto A, Chiba K, Lubna NJ, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Naito AT, Yamazaki H, [Sugiyama A](#). In vivo analysis of the anti-atrial fibrillatory, proarrhythmic and cardiodepressive profiles of dronedarone as a guide for safety pharmacological evaluation of antiarrhythmic drugs. *Cardiovasc Toxicol*. 査読有 2018;18:242-251. DOI:10.1007/s12012-017-9434-y
- 16 Nakamura Y, Miyamoto T, Yamada M, Goto A, Hagiwara-Nagasawa M, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Honda M, Naito AT, Yoshihara K, Lurie KG, [Sugiyama A](#). Development of an educational equipment "Dock-kun" to help school children master high-quality cardiac massage. *Toho J Med*. 査読有 2017;3:146-151. DOI:10.14994/tohojmed.2017-003
- 17 Izumi-Nakaseko H, Kanda Y, Nakamura Y, Hagiwara M, Wada T, Ando K, Naito AT, Sekino Y, [Sugiyama A](#). Development of correction formula for field potential duration of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes sheets. *J Pharmacol Sci*. 査読有 2017;135:44-50. DOI:10.1016/j.jphs.2017.08.008
- 18 Chiba K, Wada T, Nakamura Y, Cao X, Hagiwara-Nagasawa M, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Tanaka K, Naito AT, [Sugiyama A](#). Analysis of proarrhythmic potential of an atypical antipsychotic drug paliperidone in the halothane-anesthetized dogs. *J Pharmacol Sci*. 査読有 2017;134:239-246. DOI:10.1016/j.jphs.2017.08.002
- 19 Izumi-Nakaseko H, Nakamura Y, Cao X, Wada T, Ando K, [Sugiyama A](#). Assessment of safety margin of an antipsychotic drug haloperidol for torsade de pointes using the chronic atrioventricular block dogs. *Cardiovasc Toxicol*. 査読有 2017;17:319-325. DOI:10.1007/s12012-016-9388-5
- 20 Cao X, Wada T, Nakamura Y, Matsukura S, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Naito AT, [Sugiyama A](#). Sensitivity and reliability of halothane-anaesthetized microminipigs to assess risk for drug-induced long QT syndrome. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 査読有 2017;121:465-470. DOI:10.1111/bcpt.12838
- 21 Matsukura S, Nakamura Y, Cao X, Wada T, Izumi-Nakaseko H, Ando K, [Sugiyama A](#). Anti-atrial fibrillatory versus proarrhythmic potentials of amiodarone: a new protocol for safety evaluation in vivo. *Cardiovasc Toxicol*. 査読有 2017;17:157-162. DOI:10.1007/s12012-016-9369-8
- 22 Lubna NJ, Nakamura Y, Cao X, Wada T, Izumi-Nakaseko H, Ando K, [Sugiyama A](#). Cardiac safety profile of sildenafil: chronotropic, inotropic and coronary vasodilator effects in the canine isolated, blood-perfused heart preparations. *J Toxicol Sci*. 査読有 2016;41:739-744. DOI:10.2131/jts.41.739
- 23 Izumi-Nakaseko H, Nakamura Y, Cao X, Wada T, Ando K, [Sugiyama A](#). Assessment of safety margin of an antipsychotic drug haloperidol for torsade de pointes using the chronic atrioventricular block dogs. *Cardiovasc Toxicol*. 査読有 2017;17:319-325. DOI:10.1007/s12012-016-9388-5
- 24 Yokoyama H, Nakamura Y, Saito H, Nagayama Y, Hoshiai K, Wada T, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Akie Y, [Sugiyama A](#). Pharmacological characterization of microminipig as a model to assess the drug-induced cardiovascular responses for non-clinical toxicity and/or safety pharmacology studies. *J Toxicol Sci*. 査読有 2017;42:93-101. DOI:10.2131/jts.42.93
- 25 Izumi-Nakaseko H, Nakamura Y, Wada T, Ando K, Kanda Y, Sekino Y, [Sugiyama A](#). Characterization of human iPS cell-derived cardiomyocyte sheets as a model to detect drug-induced conduction disturbance. *J Toxicol Sci*. 査読有 2017;42:183-192. DOI:10.2131/jts.42.183
- 26 Matsukura S, Nakamura Y, Cao X, Wada T, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Yamazaki H, [Sugiyama A](#). Characterization of microminipigs as an in vivo experimental model for cardiac safety pharmacology. *J Pharmacol Sci*. 査読有 2017;133:103-109. DOI:10.1016/j.jphs.2017.02.002
- 27 Wada T, Ohara H, Nakamura Y, Cao X, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Honda M, Yoshihara K, Nakazato Y, Lurie KG, [Sugiyama A](#). Efficacy of precordial percussion pacing assessed in a cardiac standstill microminipig model. *Circulation J*. 査読有 2017;81:1137-1143. doi.org/10.1253/circj.CJ-16-1106

〔学会発表〕(計6件)

- 1 Chiba K, Goto A, Hagiwara-Nagasawa M, Kambayashi R, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Naito AT, Sugiyama A: Analysis of electropharmacological effects of intracellular Ca<sup>2+</sup> handling modulator caldaret on the canine heart. 第92回日本薬理学会年会, 大阪, 2019/03
- 2 萩原美帆子, 中村裕二, 後藤愛, 千葉浩輝, Nur Jaharat Lubna, 中瀬古(泉)寛子, 安東賢太郎, 内藤篤彦, 杉山篤: Donepezil の心血管安全性薬理評価 - ハロセン麻酔犬生体位心臓を用いて - . 第19回応用薬理シンポジウム, 東京, 2017/09
- 3 萩原美帆子, 中村裕二, 岩田邦男, 後藤愛, 千葉浩輝, Nur Jaharat Lubna, 中瀬古(泉)寛子, 安東賢太郎, 内藤篤彦, 金子昇, 杉山篤: M201-A は高い有効性と安全性を有する心房細動治療候補化合物である. 第三回 J-ISCIP 学術集会, 東京, 2017/06
- 4 Sugiyama A, Hagiwara-Nagasawa M, Nakamura Y, Izumi-Nakaseko H, Ando K, Naito AT: Pharmacological characterization of an extremely small-size miniature pig 'microminipig' as an in vivo experimental model for cardiac safety pharmacology. The 3rd annual meeting of China Safety Pharmacological Society, The 6th International Safety Pharmacology Symposium in China, Chengdu, Sichuan, China, 2017/05
- 5 杉山篤, 中村裕二, 和田剛, 中瀬古(泉)寛子, 安東賢太郎: 心臓安全性評価: 非臨床毒性データからの予測. 第37回日本臨床薬理学会学術総会, 鳥取, 2016/12
- 6 杉山篤, 中村裕二, 和田剛, 中瀬古(泉)寛子, 安東賢太郎: 心周期における拡張不全と収縮不全の位置づけ. 第43回比較心電図研究会, 東京, 2016/09

〔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:  
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:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名: 中村 裕二

ローマ字氏名: (NAKAMURA, Yuji)

所属研究機関名: 東邦大学

部局名: 医学部

職名: 助教

研究者番号(8桁): 10614894

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。