

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10721

研究課題名(和文) 肥大大心筋虚血再灌流に対する新規インドール化合物の心筋保護への応用

研究課題名(英文) Cardioprotective potential of a novel indole derivative against ischemia/reperfusion injury in hypertrophied heart

研究代表者

熊谷 紀一郎 (Kumagai, Kiichiro)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：80396564

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：心臓血管外科手術成績は大きく向上したが、虚血再灌流障害に対して脆弱である肥大大心筋症例は致命的な場合がある。インドール化合物は細胞内ATP増加、虚血に対する細胞保護作用などを有し、腎、脳における虚血再灌流障害の抑制効果が証明されており、心筋に対しても同様の虚血再灌流障害を抑制する可能性があり本研究にて検証することとした。肥大大心筋ラットモデルを作成し、同種心移植を行うことで虚血再灌流障害に対する効果、病理組織学的および分子生物学的機序を検証することとしたが、インドール化合物を経口投与し、心筋内のATP濃度測定を行ったが、安定したATP濃度の上昇が得られず、投与方法などの再検討が求められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はインドール化合物の虚血再灌流心筋障害に対する効果を検討するまでには至らなかった。経口投与により効果の検証に十分な心筋内ATP濃度の上昇が得られなかったためである。しかし、本研究により問題点が明らかとなったので、インドール化合物の経口摂取量、投与経路などを再検討することにより十分な心筋内ATP濃度上昇が得られれば、インドール化合物の心筋保護効果を検証することができると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The outcome of cardiovascular surgery became better, reperfusion injury of hypertrophic myocardium has been a severe problem. Indole compounds was proven to have a positive effect against to ischemic reperfusion injury of kidney and brain. The purpose of this study was to investigate the effect of indole compounds to the hypertrophic myocardium. We planned to investigate myocardial effect, pathological change, molecular biological mechanism after cardiac transplantation of rats. Indole compounds were orally ingested, and ATP concentration of myocardium was measured. ATP concentration was unstable after a hour, so investigation was impossible. We have to solve the problem of indole administration method.

研究分野：心臓血管外科学分野

キーワード：インドール化合物 心筋保護 虚血再灌流障害

1. 研究開始当初の背景

心臓血管外科手術では、人工心肺を使用した心筋保護下での予定された心停止による虚血とその後の再灌流が生じるが、この虚血再灌流による心筋障害は、手術成績が飛躍的に進歩、安定した今日においても、避けることができない重要な予後規定因子である。本邦では、高齢化が深刻な問題となっており、それに伴い大動脈弁狭窄症や本態性高血圧の患者が一層増加傾向にあり、それら疾患の圧負荷上昇作用により肥大大心筋症例もますます増加していくと考えられる。重要なことに、肥大大心筋は虚血再灌流障害に脆弱であることが知られており、今後の心臓血管外科手術でのハイリスク症例の増加が危惧される。これまでの先行研究においても、虚血再灌流障害の発生の抑制、心筋細胞保護に関する種々の分子機序が明らかにされ、それに基づいた心筋保護液の改良などが試みられ、現在では通常の開心術は比較的安全に施行可能となったが、肥大大心筋症例のようなハイリスク症例での虚血再灌流障害抑制、臓器保護は未だ満足なレベルに達していない。

心臓は多臓器に比べミトコンドリアを豊富に含有し、虚血に最も弱い臓器の一つとされる。心臓が虚血に陥ると低酸素状態のためのミトコンドリア内の酸化的リン酸化が抑制され、ATP 産生が低下する。ATP 産生の場合がミトコンドリアでの好気性代謝から、解糖系を中心とした嫌気性代謝へ変化するため、乳酸の蓄積へとつながる。また、フリーラジカルが発生し、これらの酸化ストレスによりミトコンドリアが障害を受けアポトーシスの誘導や好中球の障害組織への遊走が促進される。この状態で酸素が障害部位に再度供給されると(再灌流)スーパーオキシドやフリーラジカルの産生がさらに促進されることで、血管内皮障害による微小循環障害、アポトーシスの誘導、炎症の促進などが生じ、結果として心機能低下へとつながるとされる。

これらの事実から、虚血時におけるミトコンドリア代謝抑制の回避やミトコンドリア機能の維持ができれば、組織の虚血抵抗性の工場、再灌流障害の抑制につながり、虚血に特に脆弱な肥大大心筋症例のようなハイリスク患者においても、より安全に心臓血管外科手術が施行可能になると考えられる。

本研究で使用する新規インドール化合物は、共同研究者である阿部らによって腎不全患者の血中メタボローム解析で発見された、エリスロポエチン(EPO)産生亢進作用のある化合物である。その後の検討で、本化合物はミトコンドリアに直接結合することでEPO産生促進作用に加え、細胞内ATP増加作用、酸化ストレス減少効果があることが判明し、特許出願を行なった。細胞増殖アッセイ等から本化合物は、細胞毒性がないこと、ミトコンドリアストレス下でも細胞の生存率をあげることが示されている。また、これまでの先行実験では、本化合物の投与によって腎虚血再灌流障害の改善効果や、脳虚血再灌流モデルマウスにおいて脳内の虚血巣面積の減少、ミトコンドリアストレスを解除することが確認されている。以上より我々は、この新規インドール化合物が、ミトコンドリアへの障害抑制、機能改善することで虚血再灌流障害を抑制し、臓器保護効果を発揮し、肥大型心筋症例に起きる重度の心筋障害を予防できるのではないかと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、心臓血管外科手術における肥大大心筋虚血再灌流障害に対する、新規インドール化合物の病態改善効果を検証した。本化合物は心臓における作用は十分に明らかになっていないため、まずは小動物モデルでの実験系を組む。肥大大心筋ラットモデルにおける虚血再灌流障害の新機能に与える影響や、生物学的、病理組織学的、分子生物学的な機序を調査し、さらに本インドール化合物による治療効果を明らかにする。次に、より臨床に即した実験系として、大動物における人工心肺使用下での虚血再灌流障害が肥大大心筋に与える影響を検証し、それに対するインドール化合物の有効性を明らかにすることで、将来的な肥大大心筋症例での開心術の成績向上を念頭に置いた臨床応用への基盤を作ることにした。

まとめると

- (1) 動物実験において肥大大心筋における虚血再灌流障害の評価と、本化合物の有効性の立証
 - (2) 臨床応用として、肥大大心筋症例へのインドール化合物の術前投与による新たな臓器保護法、虚血再灌流予防法の確立
 - (3) 本化合物の安定性、有効性を確立し、最終的には上市する。
- ここまでを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

本化合物は心臓における作用は十分に明らかになっていないため、まず小動物モデルでの実験系を組む事から始めた。腹部大動脈 Banding による肥大大心筋ラットモデルの作成法はすでに確立されている。開腹手術にて腎動脈上の大動脈を適切な細さに Banding したのち、4週間生存させたラットモデルに対して、インドール化合物を投与したのちにこの肥大大心臓を摘出、これをドナー心とした同種心移植を行うこととし、これにより虚血再灌流障害の心機能に与える影響や生化学的、病理組織学的、分

子生物学的な機序を調査する方針を立てた。これに先立ちインドール化合物の投与方法を確立するために、ラットにインドール化合物を経口投与し、心筋内の ATP 濃度がどのように推移するかを確認するため、心筋内 ATP 濃度測定を行なった。

4. 研究成果

ラットにインドール化合物を経口投与し、心筋内の ATP 濃度測定を行った結果、投与直後の心筋内 ATP 濃度はコントロールと比較し上昇していたが、投与後 1 時間ではすでにコントロールと同じとなっており、インドール化合物の投与方法および投与量の再検討を行うこととなった。その後検討を重ねた上で、経口投与量の増量を行うなどで、ATP 濃度測定を行なったが、同様の結果となり、インドール化合物の適切な投与方法、投与量を確定させるには至らなかった。投与方法に関しても他の方法を検討するなどを行なったが、適切な投与方法を明らかにすることはできなかった。今後より詳細な検証を重ねることで、投与方法を確立させる必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔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	齋木 佳克 (Saiki Yoshikatsu) (50372298)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	
研究分担者	川本 俊輔 (Kawamoto Syunsuke) (20400244)	東北大学・医学系研究科・非常勤講師 (11301)	
研究分担者	河津 聡 (Kawatsu Satoshi) (80633685)	東北大学・医学系研究科・非常勤講師 (11301)	
研究分担者	鈴木 佑輔 (Suzuki Yusuke) (70791698)	東北大学・医学系研究科・助教 (11301)	
研究分担者	阿部 高明 (Abe Takaaki) (80292209)	東北大学・医工学研究科・教授 (11301)	