

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09134

研究課題名（和文）術中心筋保護に対するアクアポリン7欠損の影響と作用機序の解明

研究課題名（英文）Study of the effect and mechanism of aquaporin 7 deficiency on intraoperative myocardial protection

研究代表者

藤井 正大 (Fujii, Masahiro)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60297926

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：アクアポリン7（AQP7）は、グリセロールと水を通過させるアクアグリセロポリンの1つだが、エイジングによるAQP7欠損の影響を検討した。若週齢（12週齢未満）および老齢（24週齢以上）のAQP7ノックアウトマウスの摘出心を用いてランゲンドルフ灌流実験にてSt Thomas' 病院2号液（STH2）の影響を検討した。週齢にかかわらずAQP7欠損でもSTH2の心筋保護効果は野生型マウスと同等であった。また、STH2の心筋保護効果の機序を解明するためAQP7ノックアウト成熟マウスの摘出心を使用して全虚血中の心筋内アデノシン3リン酸（ATP）を測定し、STH2は心筋内ATPを温存することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

AQP7欠損の心臓は週齢を重ねるとインスリン抵抗性がみられることや肥満状態では心臓におけるAQP7発現が低下しているとの指摘がある。AQP7欠損状態であっても週齢にかかわらずSTH2心筋保護液は同等の効果を発揮することが示され、虚血中の心筋内ATPも保持されることも明らかとなり、今後の高齢者や肥満患者の開心術における成績向上を目指すためには、さらなる心筋保護メカニズムにおけるAQP7の役割が解明されることは意義深い。

研究成果の概要（英文）：Aquaporin 7 (AQP7) is one of the aquaglyceroporins that allows the passage of glycerol and water. We investigated the effects of St Thomas' Hospital 2 cardioplegia (STH2) in Langendorff perfused mode using isolated young (<12 weeks old) or old (24 weeks over) mice hearts lacking AQP7. Even in the AQP7-deficient heart, the cardioprotective effect of STH2 was equivalent to that of wild-type mice. We also measured intramyocardial adenosine triphosphate (ATP) using mature AQP7 knock-out mice to elucidate the mechanism of the cardioprotective effect of STH2 and amount of ATP during global ischemia was shown to be preserved by STH2.

研究分野：心筋保護

キーワード：AQP7 心筋保護

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心臓に発現している AQP1 が水のみを透過させるアクアポリンであるのに対し、AQP7 はグリセロールチャンネルとしても機能しており心筋細胞内へのグリセロール取り込みに重要な役割を果たしている。大阪大学の前田らのグループによって、このグリセロールが細胞内 ATP 含有量の増加へ寄与している可能性があり、心不全の発症機序への関与が示唆されている (Hibuse Cardiovasc Res 2009;83:34-41)。また、近年行われた日本人における AQP7 遺伝子の解析の結果、3 種類の変異が見つかった。それらのうち G264V 変異は機能解析により、水及びグリセロールの透過能が障害されていることが明らかとなった (Kondo Eur J Biochem 2002;269:1814-1826)。

2. 研究の目的

本研究の目的は、アクアポリン・ファミリーのうち心臓に発現し心筋 ATP 産生源の 1 つであるグリセロールの取り込みに関与する AQP7 に着目し、AQP7 欠損が St Thomas' Hospital 2 号液に代表される高カリウム心筋保護液の効果へ及ぼす影響を解明することである。これまで AQP7 欠損が心筋保護液の効果にどのような影響を及ぼすかを検証した報告はないという点で本研究は独創的であり、諸条件における実験シリーズの一環である。肥満状態では心臓における AQP7 発現が低下しているとの指摘もあり、肥満患者比率の高い開心術における今後の成績向上を目指すためには、心筋保護メカニズムにおける AQP7 の役割が解明され、心筋保護液 (や投与方法) に反映されれば、術中心停止や希釈体外循環によって引き起こされる術後の心筋浮腫・心機能低下を抑制でき、低心機能に陥っている患者や長時間心停止を余儀なくされる症例においても大いに有益で、学術的に高い意味を持つと考える。

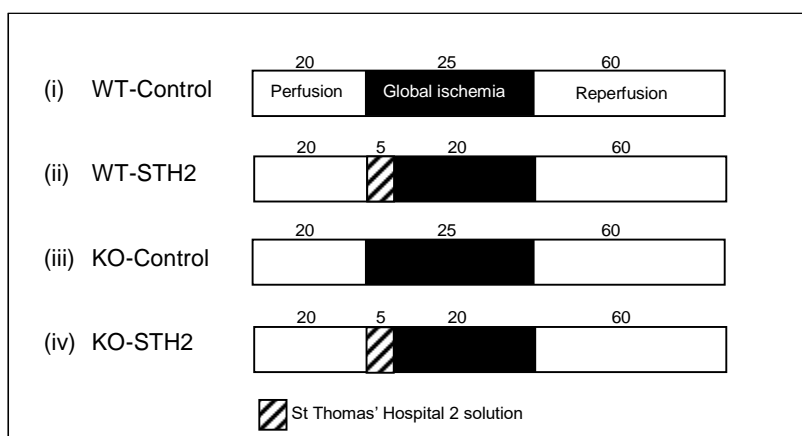
3. 研究の方法

【実験準備】

理化学研究所バイオリソースセンターより AQP7 欠損 (C57B6N ベース, AQP7 Knock-out : AQP7-KO) マウスの凍結精子を入手し、契約しているジャクソン・ラボラトリー・ジャパン社に復元・繁殖を委託する。生まれたマウスの遺伝子検査は本学実験動物管理室に依頼する。以上により野生型マウス (C57B6N, Wild type : WT) と AQP7-KO マウスを準備する。これらの摘出心で灌流実験を行うためランゲンドルフ装置をセットアップする。

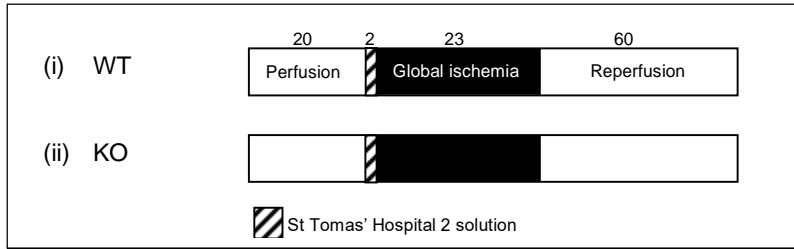
【AQP7 欠損状態のエージングに対する STH2 の影響 その 1】

若週齢 (12 週未満) のマウスを用いて、25 分の虚血に対して STH2 が心筋保護効果を発揮するか検証する。



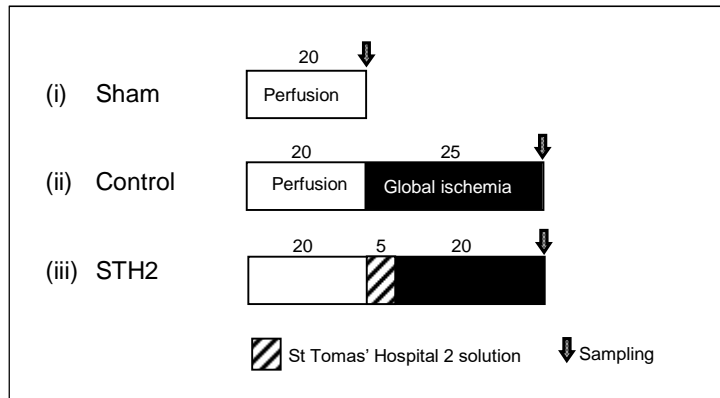
【AQP7 欠損状態のエージングに対する STH2 の影響 その 2】

老齡 (24 週以上) のマウスを用いて、25 分の虚血に対して STH2 が心筋保護効果を発揮するか検証する。



【STH2 による保護効果のメカニズムの検討】

STH2 の心筋保護効果のメカニズムの一端は速やかな心停止を得ることによる心筋細胞内の ATP を温存することである。AQP7 欠損マウスに対する保護効果も ATP 温存が寄与しているか成熟マウスを用いて検証する。



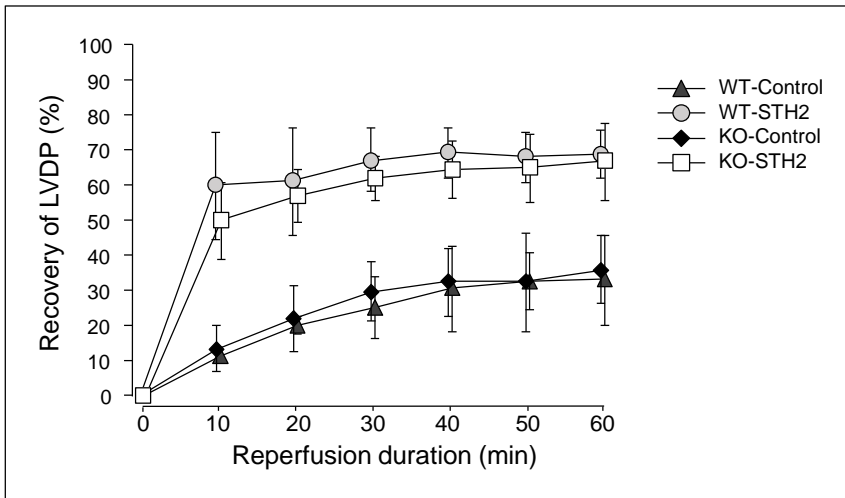
【評価法】

1. 心機能データ：心拍数や左室発生圧，拡張末期圧変化，冠灌流量などを測定する。
2. 生化学的定量：心筋障害 (Troponin T) の定量を行う。
3. 心筋浮腫評価：心筋水分含有量で分析する。
4. ATP レベル測定：ATP 測定試薬を用いてルミノメーターで発光量を測定する。

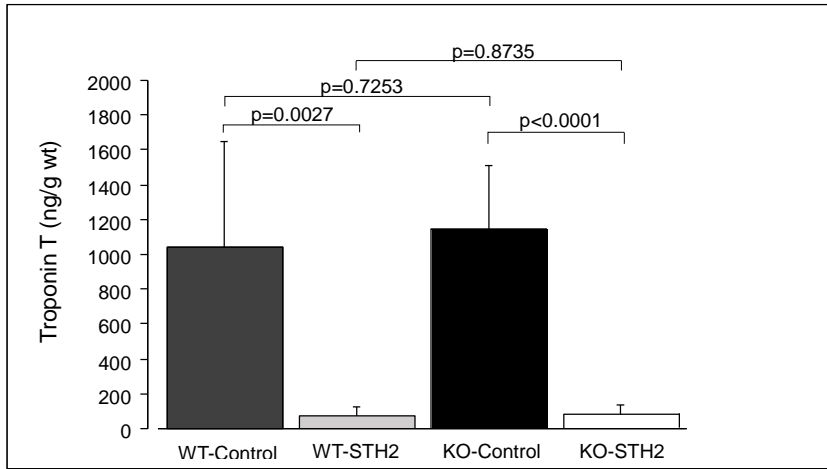
4. 研究成果

【AQP7 欠損状態の若週齡マウスに対する STH2 の影響】

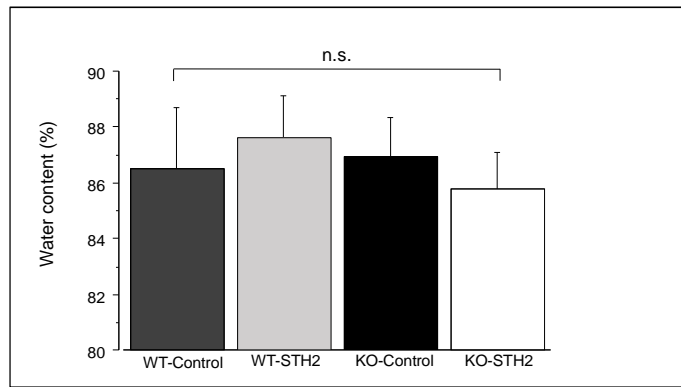
- ・ 左室発生圧の回復率



・ 心筋障害の程度



・ 心筋浮腫の評価

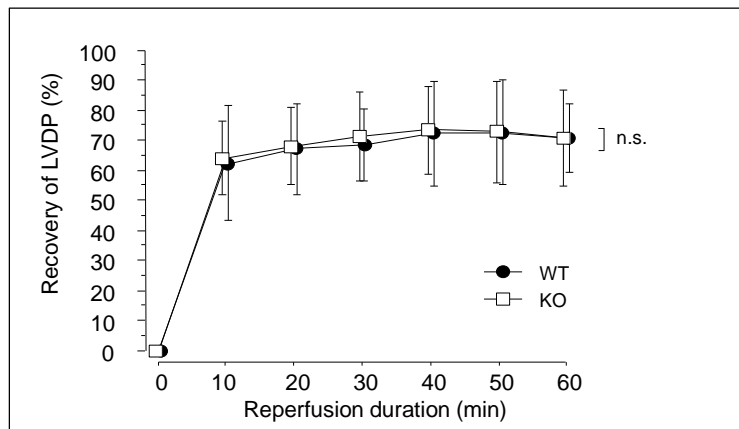


・ 総括

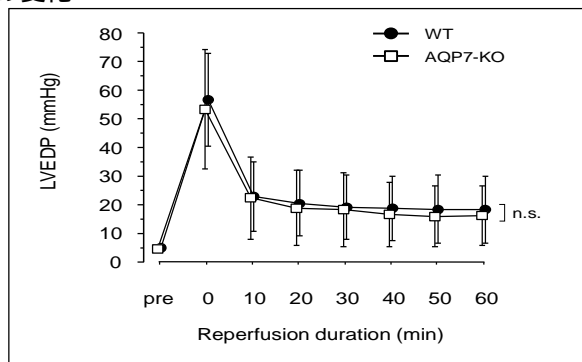
若週齢マウスにおいては、AQP7 欠損状態であったとしても STH2 の心筋保護効果は野生型と同等であることが示された。

【AQP7 欠損状態の老齢マウスに対する STH2 の影響】

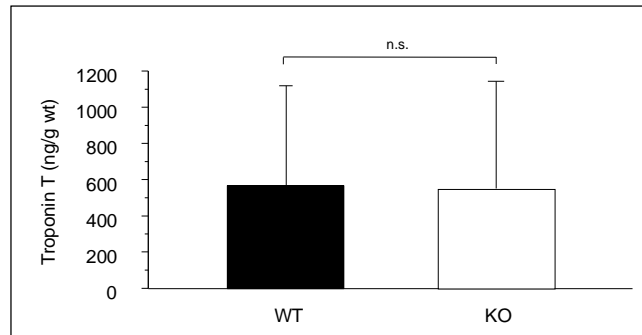
・ 左室発生圧の回復率



・ 左室拡張期圧の変化



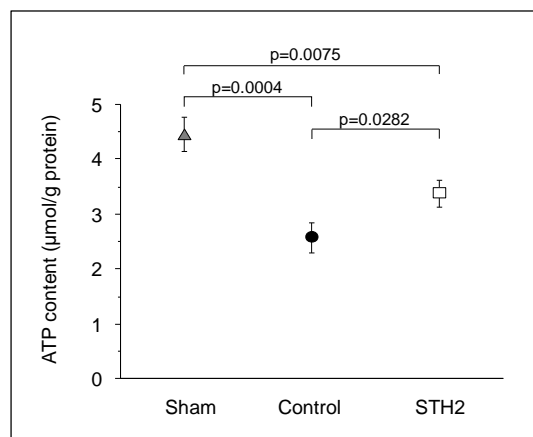
・ 心筋障害の程度



・ 総括

老齢マウスにおいても、AQP7 欠損状態の摘出心で STH2 の心筋保護効果は野生型と同等であることが示された。

【AQP7 欠損状態の摘出心における STH2 による心筋内 ATP 量の変化】



・ 総括

AQP7-KO 成熟マウスの摘出心を使用した灌流実験にて、STH2 心筋保護液は虚血中の心筋内 ATP を温存することが示され、AQP7 欠損状態における心筋保護効果の機序の 1 つと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤井正大
2. 発表標題 Experimental study on aquaporin 7 and myocardial protection with St Thomas' cardioplegia in young mice
3. 学会等名 第74回胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤井正大
2. 発表標題 Experimental Study on Aquaporin 7 and Myocardial Protection with St Thomas' Cardioplegia in Aged Mice
3. 学会等名 第86回nihonjunnkanki学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藤井正大
2. 発表標題 Effect of aquaporin 7 deficiency on St Thomas' cardioplegia
3. 学会等名 第75回胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

〔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	丸山 雄二 (Maruyama Yuji) (50328837)	日本医科大学・医学部・准教授 (32666)	

6. 研究組織（つづき）

	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	別所 竜蔵 (Bessho Ryuzo) (60281432)	日本医科大学・医学部・教授 (32666)	

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