

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17720

研究課題名(和文) セリンプロテアーゼ阻害剤による下肢虚血再灌流障害に伴う腎障害抑制効果の検証

研究課題名(英文) Serin-protease inhibitor prevents renal dysfunction after ischemia-reperfusion injury

研究代表者

川久保 英介 (Kawakubo, Eisuke)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：50644754

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：急性下肢動脈閉塞における虚血再灌流障害(Ischemia-Reperfusion injury: IRI)を合併することがある。このIRIの病態形成には、再灌流に伴う活性酸素発生・酸化ストレスおよび白血球活性化と組織浸潤が中心的役割をしている。今回我々はセリンプロテアーゼ阻害剤の一つであるナファモスタットメシル酸の、下肢虚血再灌流後の臓器保護作用について検証した。

マウス下肢虚血再灌流モデルを作製し、虚血再灌流障害度を、血液生化学検査により評価した。その結果、ナファモスタットメシル酸投与で肝障害は有意に抑制されたが、腎障害・筋障害に対しては有意な抑制効果を確認できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の我々の検証により、ナファモスタットメシル酸が急性下肢虚血後の再灌流障害に対して肝障害を改善する改善効果を有することが明らかとなった。一方で腎障害・筋組織障害に対する改善効果は今回のモデルで示すことができなかった。しかしながら、今回の検証により部分的ながらナファモスタットメシル酸が再灌流障害に対する臓器保護効果を有することが示唆されたことは、今後、マウスモデルやナファモスタットメシル酸の投与方法を再検討することにより、腎障害・筋組織障害に対するナファモスタットメシル酸の抑制効果を検証するための足掛かりとなったと考える。

研究成果の概要(英文)： Ischemia-Reperfusion injury (IRI) after revascularization for acute limb ischemia often causes severe systemic organ damage, e.g. acute respiratory failure, acute renal dysfunction and compartment syndrome. Pathology of IRI is related with reactive oxygen species, oxidative stress, and activation of white blood cells. We tried to reveal Nafamostat mesylate (NM) prevents the organ damages after IRI.

In this study, we estimated mouse limb ischemia and reperfusion model. Then, in 3 groups: sham operation group, ischemia and reperfusion group (IM), and IM with NM administration group (IR+NM), we measured serous chemistry. The result is that AST and ALT significantly improved by NM administration. Whereas, BUN, serous creatinine, creatinine kinase and serous potassium did not significantly change between IR group and IR+NM group. This result suggested that NM inhibit lever dysfunction after IRI. This is the basic of further study to reveal the effect of IRI depression of NM.

研究分野：医学

キーワード：急性下肢虚血 虚血再灌流障害 ナファモスタットメシル酸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急性下肢動脈閉塞(Acute Limb Ischemia:ALI)は、迅速な診断と適切な治療を行わなければ、救肢だけでなく救命も困難となりうる疾患である。血栓除去や血行再建により途絶していた血流が再開できた場合に問題となる合併症が虚血再灌流障害(Ischemia-Reperfusion injury:IRI)であり、IRI によって急性呼吸不全や急性腎不全、コンパートメント症候群を合併した場合は、予後不良とされる。IRI とは、虚血状態の臓器・組織に血液再灌流が起きた際に、その臓器・組織内の微小循環における毒性物質の産生が惹起され引き起こされる障害をいう。虚血の時間と程度、臓器の種類などにより障害の程度は異なるが、再灌流により血管内皮細胞傷害、微小循環障害をきたし、臓器障害に進展すると考えられている。障害を引き起こす機序として、これまでの研究から、再灌流に伴う活性酸素発生・酸化ストレスおよび白血球活性化と組織浸潤が中心的役割をしており、治療ターゲットとして研究が行われている。

セリンプロテアーゼ阻害剤の一つであるナファモスタットメシル酸(Nafamostat mesilate: NM)は、タンパク分解酵素阻害による抗炎症作用や抗凝固作用を有し、臨床では主に急性膵炎や播種性血管内凝固症候群の治療薬として使用されている。また、近年では心臓や腎臓、消化管における虚血再灌流障害モデルにおいて、酸化ストレス抑制作用や好中球組織浸潤抑制作用が報告されている。しかし、下肢虚血再灌流後の腎保護作用に関する効果・機序は明らかではない。

2. 研究の目的

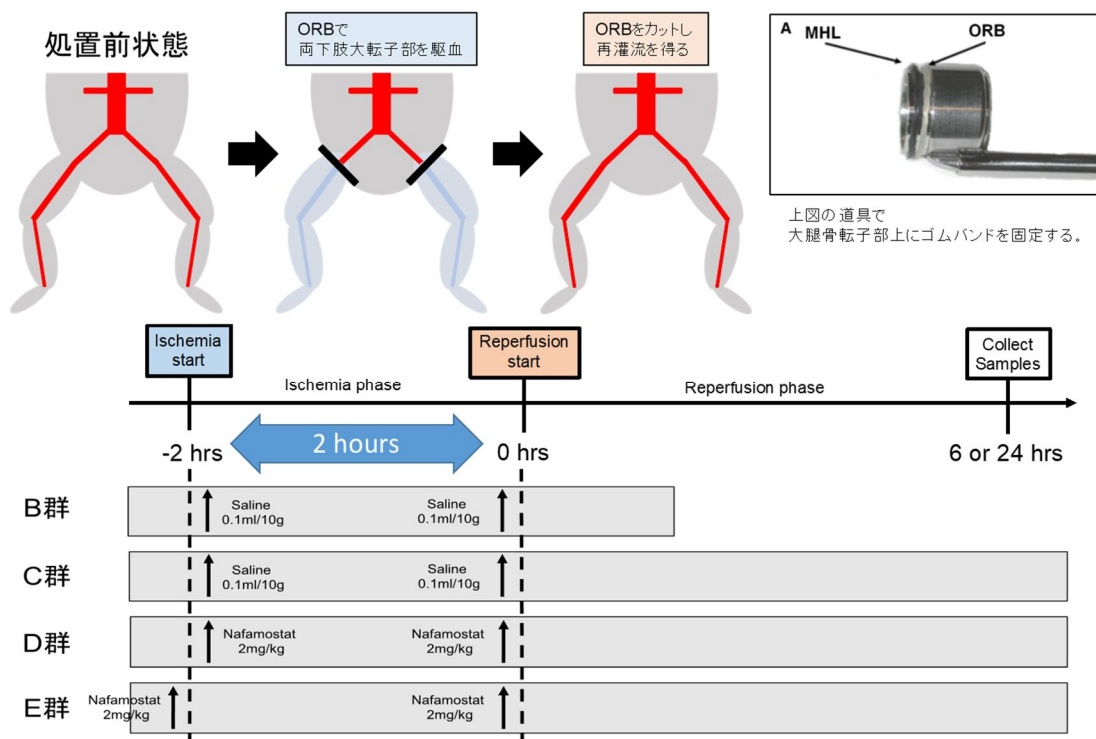
本研究の意義としては、ナファモスタットメシル酸が下肢急性動脈閉塞後の虚血再灌流障害モデルにおいて、腎保護作用を始めとした臓器保護作用を示すかを明らかにすることであり、ヒトへの臨床応用によって臨床アウトカムの向上に貢献することである。

3. 研究の方法

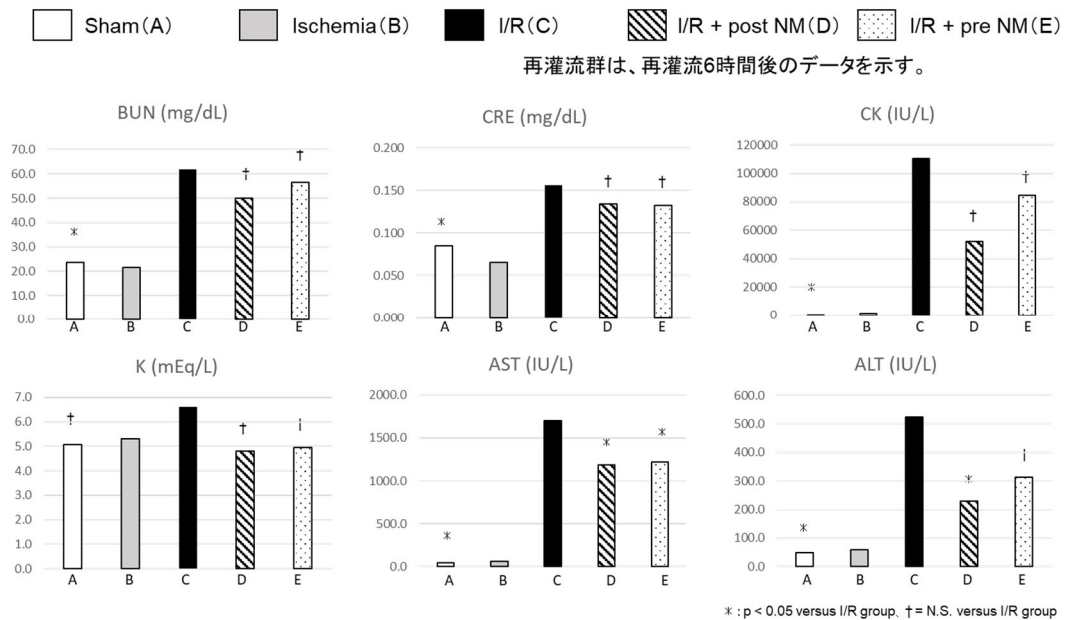
本実験においては、全身麻酔下にマウス大腿転子部をバンドで駆血し一定時間経過後に駆血を解除するマウス下肢虚血再灌流モデルをまず作成した。このモデルを用いて、全身麻酔のみを行う群 (= Sham : S 群)、虚血再灌流のみを行う群 (= Ischemia-Reperfusion : IR 群)、虚血再灌流 + NM 投与群 (= IR-NM 群)、3 群に分けて比較検討を行う。

4. 研究成果

まず、マウス下肢虚血再灌流モデルを作製した。マウス大腿・大転子部をバンドで駆血する下肢虚血モデルでは、2 時間の両下肢虚血および再灌流を行い、組織学的には筋組織の浮腫・繊維損傷、腎組織の近位尿細管壊死等の組織障害を確認した。また血液生化学検査でも BUN, Cre, AST, ALT, CPK 上昇を認め、再灌流後の肝・腎・筋障害を確認し、マウス下肢虚血・再灌流モデルの妥当性を確認した。



次に全身麻酔のみを行う群 (= Sham : S 群)、虚血再灌流のみを行う群 (=Ischemia-Reperfusion: IR 群)、虚血再灌流 + NM 2mg/kg 投与群 (IR+NM 群) に分けて、再灌流後 0 時間 (虚血のみ) および 6 時間後の虚血再灌流障害度を、血液生化学検査によって評価した。その結果、AST・ALT は IR+NM 群で有意な改善を認め肝障害は抑制されたが、腎障害・筋障害に対しては有意な抑制効果を認めなかった。



両下肢虚血によりナファモスタット酸投与で改善しない不可逆的な高度組織障害を来した可能性を考慮し、片側下肢虚血マウスモデルも作成し検証している。

以上により今回のマウス下肢虚血再灌流モデルにおいて部分的ながらナファモスタットメシル酸投与に臓器保護作用を有することが示唆されたため、今後は虚血時間やナファモスタットメシル酸投与量の再検討を行いながら頭書の計画に基づき実験を継続していく予定とする。

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------