

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：37111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860134

研究課題名(和文) 禁煙補助薬バレニクリンによる $\alpha 7$ ニコチン受容体を介した心血管イベント発症機序研究課題名(英文) Varenicline aggravates plaque formation through $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors in ApoE KO mice.

研究代表者

古賀 允久 (KOGA, Mitsuhsa)

福岡大学・薬学部・助教

研究者番号：60570801

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)：禁煙補助薬バレニクリンは、 $\alpha 4 \beta 2$ nAChR部分作動、 $\alpha 7$ nAChR完全作動薬であり、画期的で禁煙成功率が高い。しかし、心血管イベントのリスクを増大させると報告された。そこでバレニクリンによる心血管イベントの発症機序を明らかにするため、動脈硬化モデルマウスにバレニクリンを投与し、動脈硬化巣の形成を評価した。

その結果、バレニクリンは動脈硬化巣の形成を促進させた。また、 $\alpha 7$ nAChRの阻害薬の併用により、その動脈硬化巣形成は抑制された。以上のことから、バレニクリンは $\alpha 7$ nAChRを介して動脈硬化巣の形成を促進し、心血管イベントの発症リスクを増大させる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Smoking is an important causative and/or risk factor for the induction and development of cardiovascular disease. Varenicline is one of the most widely used drugs for smoking cessation. However, whether increased risk of serious cardiovascular events is an adverse effect of varenicline remains controversial. In this study, we determined if varenicline increases the risk of cardiovascular events using apolipoprotein E knockout (ApoE KO) mice. ApoE KO mice (8 weeks old) were injected with varenicline 0.5 mg kg⁻¹ day⁻¹ for 3 weeks. Varenicline aggravated atherosclerotic plaque formation in whole aorta from ApoE KO mice compared with vehicle. Methyllycaconitine, an $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) antagonist, inhibited varenicline-induced aggravated plaque formation. Our findings show that varenicline progresses atherosclerotic plaque formation through $\alpha 7$ nAChR, and thereby increases the risk of cardiovascular events.

研究分野：薬理学

キーワード：副作用 心血管イベント バレニクリン

1. 研究開始当初の背景

(1)喫煙は、がんや脳卒中、虚血性心疾患、心筋梗塞だけでなく、気管支炎や肺気腫などの様々な全身疾患を発症、増悪させる危険因子である。喫煙は、喫煙者のみならず、非喫煙者においても受動喫煙による健康被害を惹き起こすため、禁煙に対する医学的、社会的関心も高まり、禁煙外来も設置されるなど医療重点課題として取り組まれている。循環器系疾患における禁煙治療の重要性は、十分に認知されているにもかかわらず、その効果的治療法の選択は狭い。

(2)最近では経口禁煙補助薬であるバレニクリンによる禁煙治療が著しく増加している。バレニクリンは、 $\alpha 4\beta 2$ nAChR 部分作動薬、 $\alpha 7$ nAChR 完全作動薬であり、ヘビースモーカーや度重なる禁煙非成功者、またニコチン含有禁煙補助薬による治療中断者等に対しても禁煙成功率が高い。さらにバレニクリンは、ニコチン代替療法では使用できなかった一部の心疾患・脳疾患患者にも使用可能である。このようにバレニクリンは、画期的で有用性も高い薬である。しかし、バレニクリンの服用により、心血管イベントの危険性が增大するという重篤な副作用が報告された (Singh S et al., CMAJ, 2011)。さらにバレニクリン禁煙療法が実施される患者数、バレニクリン禁煙療法の必要性に迫られる循環器疾患、呼吸器疾患などの患者背景を考慮すれば、この副作用の予防・軽減・回避対策の構築が急務である。しかし、その対策立案に不可欠な発症機序の解明に関する基礎研究は殆どないのが現状である。

2. 研究の目的

そこで、バレニクリンによる心血管イベント発症の機序を解明し、この有害作用の予防・軽減・回避対策の構築、また新たな経口禁煙補助薬の開発へと連結することを目的として本研究を企てた。具体的には、動脈硬化モデルマウスを用いて「バレニクリンが、 $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) を介して動脈硬化症の発症・進展、不安定化を惹起し、心血管イベントを発症させる。」という仮説を検証し、その発症機序を追究した。

3. 研究の方法

本研究では、動脈硬化モデルマウスである apolipoprotein E knockout (ApoE KO) マウスを用いた。

(1)8 週齢時より高脂肪食の負荷を開始し、それと同時に生理食塩水に溶解したバレニクリン $0.05\text{mg} / \text{kg} / \text{day}$ (低用量)、 $0.5\text{mg} / \text{kg} / \text{day}$ (高用量) をそれぞれ 3 週間連続で皮下投与した。コントロール群として、生理食塩水を同様に投与した。11 週齢時に組織を回収して評価を行った。

(2)8 週齢時より高脂肪食の負荷を開始し、それと同時にバレニクリン ($0.5\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$) を皮下投与した。また、 $\alpha 7$ nAChR のアンタゴニストである MLA ($5\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$) を腹腔内投与し、バレニクリンと併用した。それぞれ 3 週間連続投与し、同様に 11 週齢時に組織を回収して評価を行った。

組織の評価方法

全大動脈: ApoE KO マウスから取り出した全大動脈を開き、血管内腔に形成される動脈硬化巣を oil red-O 染色で特定し、動脈硬化巣面積を比較した。

大動脈起始部: 4% PFA 固定後に $6\mu\text{m}$ 厚の凍結切片を作成し、大動脈起始部における動脈硬化巣を oil red-O 染色で特定した。oil red-O 陽性の動脈硬化巣面積を測定し、画像解析を行った。

(3) 血中総コレステロール測定

11 週齢時の動物を殺す前日から絶食を行い、心臓から採取した血液を遠心分離 (3000rpm , 15 分, 4℃) した。その上清の血漿サンプルを用いてコレステロール E-テストワコー (和光純薬工業, 大阪) のキットを用い、血中総コレステロール値を測定した。

4. 研究成果

(1) バレニクリンによる動脈硬化形成

大動脈を摘出し全大動脈における動脈硬化巣の面積を oil red-O 染色を用いて確認した。赤は動脈硬化巣を示す (図 1A)。生理食塩水のみを投与したコントロール群 ($5.4 \pm 2.0\%$)、低用量バレニクリン群 ($4.7 \pm 1.0\%$) と比較すると、高用量バレニクリン投与群 ($8.3 \pm 3.4\%$) の方が oil red-O 陽性面積の割合がより大きく、高用量バレニクリン投与群において動脈硬化巣の形成が有意に増加していた (図 1B)。

一方、コントロール群と低用量バレニクリン投与群との両群間では動脈硬化巣面積の割合に差はなかった (図 1B)。

大動脈弓の部分においても同様に、高用量バレニクリン投与群においてコントロール群、低用量バレニクリン群と比較して動脈硬化巣の形成が有意に増加しており、コントロール群と低用量バレニクリン投与群の両群間では有意差はなかった (図 1C)。

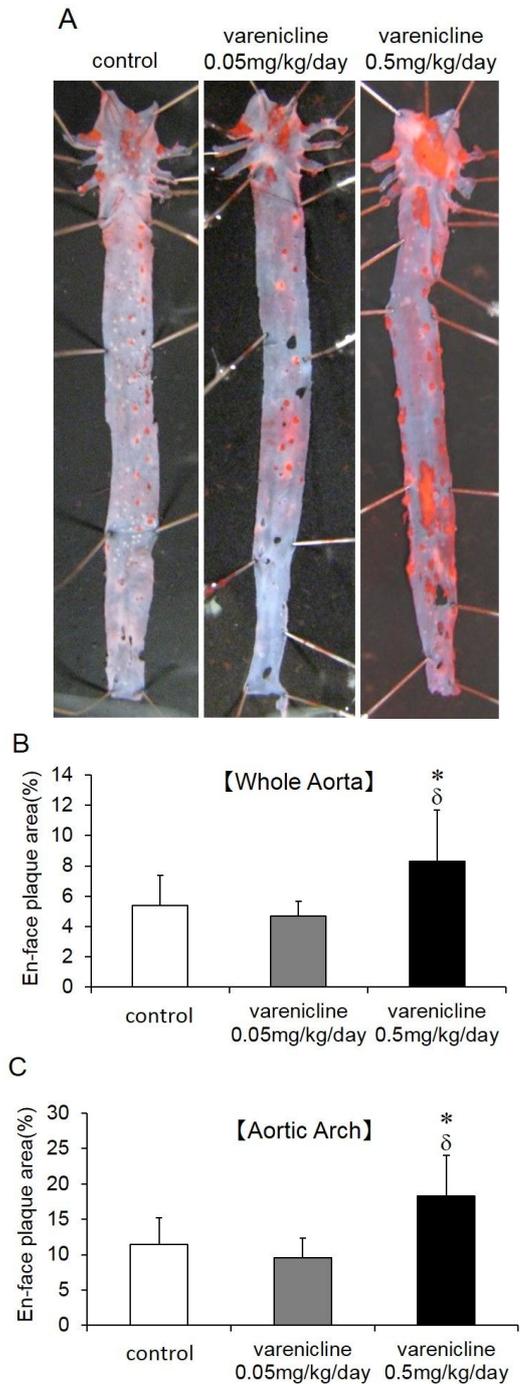


図1 . バレニクリンによる動脈硬化形成促進

(2) バレニクリンによる $\alpha 7$ nAChR を介した動脈硬化形成

大動脈を摘出し全大動脈における動脈硬化巣を oil red-O 染色を用いて特定した(図2 A)。動脈硬化巣面積の割合は、バレニクリン投与群では $8.91 \pm 6.48\%$ であり、生理食塩水のみを投与したコントロール群($4.96 \pm 2.10\%$)と比較して有意に増大していた。また、MLA の併用投与によりバレニクリンによる動脈硬化巣の形成を抑制した($3.33 \pm 2.10\%$)(図2 A, B)。

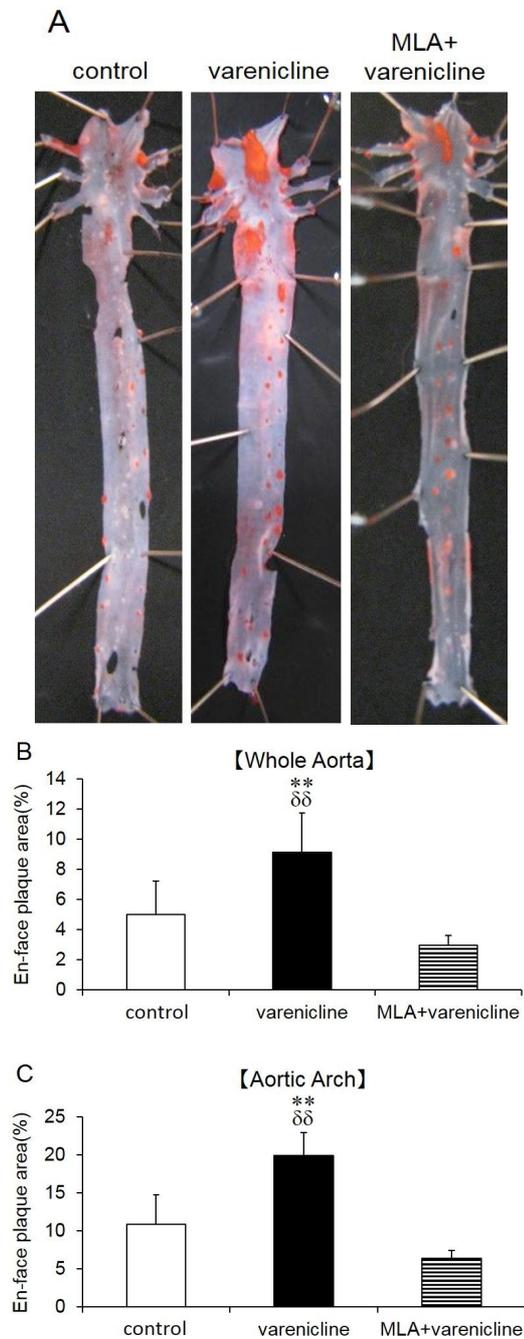


図2 . 全大動脈における MLA によるバレニクリン動脈硬化形成の抑制

大動脈弓の部分においても同様に、動脈硬化巣面積の割合は、バレニクリン投与群ではコントロール群と比較して有意に増大しており、MLA の併用投与によりバレニクリンによる動脈硬化巣の形成を抑制した(図2 C)。さらに、ApoE KO マウスの大動脈起始部においても、バレニクリン(0.5mg/kg/day)の3週間投与により、コントロール群と比較して、動脈硬化巣の形成が有意に増大した(図3)。また、MLA を併用することによりバレニクリンによる動脈硬化巣の形成が抑制された(図3)。

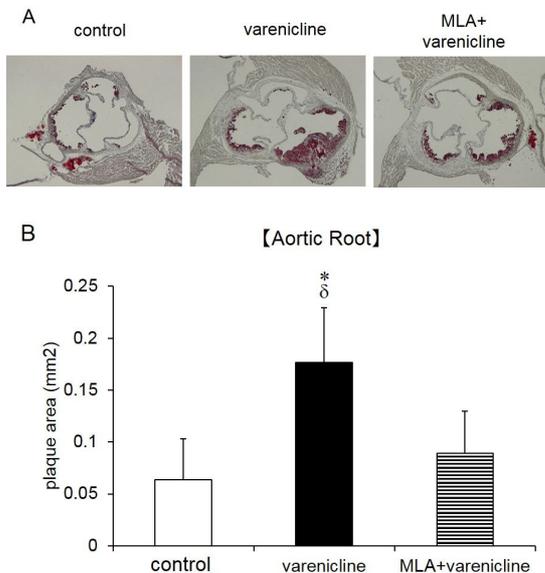


図3 . 大動脈起始部における MLA によるバレンिकリン動脈硬化形成の抑制

(3) バレンिकリンによる体重、総コレステロールに及ぼす影響
バレンिकリン、MLA を投与した ApoE KO マウスにおける体重、血中総コレステロールを測定した。コントロール群、バレンिकリン (0.5mg/kg/day) 投与群、MLA + バレンिकリン併用群において、体重、血中総コレステロール値に変化はなかった (表 1)。

	control	varenicline	MLA + varenicline
体重, g	18.4 ± 2.6	18.4 ± 1.9	18.7 ± 2.6
総コレステロール, mg/dl	1952 ± 306	1920 ± 374	1997 ± 454

以上、本研究では禁煙補助薬バレンिकリンによる心血管イベント発症における有害作用を動脈硬化形成により、評価・検討した。体重、血中総コレステロール値に影響を及ぼすことなく、バレンिकリンは動脈硬化の形成を促進させた。また 7 nAChR のアンタゴニスト (MLA) の併用により、バレンिकリンによる動脈硬化の形成促進を抑制した。このことから、バレンिकリンは 7 nAChR を介して動脈硬化の形成を促進させ、心血管イベントを発症させる可能性が示唆された。

<引用文献>

Singh S, Loke YK, Spangler JG, Furberg CD. Risk of serious adverse cardiovascular events associated with varenicline: a systematic review and meta-analysis. CMAJ, 183 巻、2011、1359-1366

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 1 件)

Koga M, Kanaoka Y, Ohkido Y, Kubo N, Ohishi K, Sugiyama K, Yamauchi A, Kataoka Y. Varenicline aggravates plaque formation through $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors in ApoE KO mice. Biochem Biophys Res Commun. 査読有、455 巻、2014、194-197
doi:10.1016/j.bbrc.2014.10.150.

〔学会発表〕(計 2 件)

金岡祐輝、古賀允久、大石かおる、杉山慶太、江島優佳、久永真美、山内淳史、片岡泰文、バレンिकリンによる $\alpha 7$ nAChR を介する動脈硬化形成の増悪作用、第 135 回日本薬学会、2015 年 3 月 28 日、デザイン・クリエイティブセンター神戸 (兵庫県、神戸市)

金岡祐輝、古賀允久、大石かおる、杉山慶太、江島優佳、久永真美、山内淳史、片岡泰文、禁煙補助薬バレンिकリンによる心血管系有害事象、第 67 回日本薬理学会西南部会、2014 年 11 月 23 日、産業医科大学 (福岡県、北九州市)

〔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：
出願年月日：
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

古賀 允久 (KOGA, Mitsuhisa)

福岡大学・薬学部・助教

研究者番号：6 0 5 7 0 8 0 1

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：