

Effects of an endothelin receptor antagonist TAK-044 on myocardial energy metabolism in ischemia/reperfused rat hearts

| | |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 飯室, 優 メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/10271/1165 |

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

| | | | |
|-------|--|---------|-------------|
| 学位記番号 | 医博第 312号 | 学位授与年月日 | 平成12年 3月27日 |
| 氏名 | 飯室 優 | | |
| 論文題目 | <p>Effects of an endothelin receptor antagonist TAK-044 on myocardial energy metabolism in ischemia / reperfused rat hearts (ラット虚血再灌流心におけるエンドセリン受容体拮抗剤 TAK-044の心筋エネルギー代謝に対する効果)</p> | | |

博士(医学) 飯室 優

論文題目

Effects of an endothelin receptor antagonist TAK-044 on myocardial energy metabolism in ischemia/reperfused rat hearts

(ラット虚血再灌流心におけるエンドセリン受容体拮抗剤TAK-044の心筋エネルギー代謝に対する効果)

論文の内容の要旨

[はじめに]

エンドセリン-1 (ET-1)は、急性心筋梗塞や狭心症患者で上昇していることが報告されており、心筋虚血再灌流傷害の増悪因子の一つとして、その作用を抑制することにより心筋傷害を軽減できる可能性が考えられている。我々は、心筋虚血再灌流傷害に対するET_A・ET_Bレセプター拮抗剤TAK-044の効果、心機能および³¹P-核磁気共鳴(NMR)法を用い高エネルギーリン酸代謝および細胞内pHを測定することにより検討した。さらに、エンドセリンとフリーラジカルの関連を明らかにするために、過酸化水素投与による心機能および高エネルギーリン酸代謝障害に対するTAK-044の効果を検討した。

[材料ならびに方法]

動物はラットを用い、心臓をLangendorff法にて12ml/分の定流量で灌流した。心臓は300/分でペーシングし、左房から左室内に挿入したラテックスバルーンを介して左室内圧を測定した。左室発生圧(LVDP)、左室圧一次微分(±dP/dt)、左室拡張末期圧(LVEDP)により心機能を評価した。³¹P-NMR法を用いて、クレアチン燐酸(PCr)、アデノシン三燐酸(ATP)、無機燐酸(P_i)、細胞内pHを測定した。冠灌流液中のクレアチンフォスホキナーゼ(CPK)を再灌流後5分間ごとに測定し、再灌流後60分間の流出量を算出した。虚血プロトコールではTAK-044の投与方法により次の3群に分類した。対照群(n=11)は、35分間の全虚血を行なった後60分間再灌流した。TAK-I群(n=11)は、TAK-044を虚血開始前20分にbolus投与(3 mg/kg body weight)し、その後100nmol/lで持続投与した。TAK-R群(n=9)は、再灌流直後にTAK-044をbolus投与(3 mg/kg body weight)し、その後100nmol/lで投与した。過酸化水素プロトコールでは、対照群(n=8)は過酸化水素(200 μmol/l)を30分間投与した。TAK-044群(n=9)は、過酸化水素投与開始20分前にTAK-044をbolus投与(3 mg/kg body weight)し、その後100nmol/lで持続投与した。

[結果]

- (1) 虚血中の心機能は3群間で有意な差を認めなかった。再灌流60分間後のLVDPの回復は、対照群10±5%に対しTAK-I群51±12%、TAK-R群61±12%とTAK-044投与群で有意に良好であった(p<0.01)。再灌流60分後のLVEDPの上昇は、対照群38±3 mmHgに対しTAK-I群22±5 mmHg、TAK-R群24±5 mmHgとTAK-044投与群で有意に抑制された(p<0.01)。再灌流後の心機能の改善の程度は、TAK-I群とTAK-R群では有意な差を認めなかった。
- (2) 再灌流60分間後のATPの回復は、対照群13±3%に対しTAK-I群33±5%、TAK-R群28±4%とTAK-044投与群で有意に良好であった(p<0.01)。再灌流後のATPの回復はTAK-I群とTAK-R群では

有意な差を認めなかった。

- (3)再灌流60分後のLVDPの回復とATPの回復の間に、有意な正の相関を認め($r=0.77$, $p<0.05$)、再灌流60分後のLVEDPの上昇とATPの回復の間に、有意な負の相関を認めた($r=0.71$, $p<0.05$)。
- (4)虚血35分後の細胞内pHは、TAK-I群(5.93 ± 0.13)において対照群(5.52 ± 0.13)およびTAK-R群(5.48 ± 0.17)に比べ有意に高値を示した($p<0.01$)。一方、再灌流後の細胞内pHは、3群間に有意な差を認めなかった。
- (5)再灌流60分間のCPK流出量は、対照群($13.8\pm 3.9\text{IU/g wet wt./60 min}$)に対しTAK-I群($3.3\pm 1.5\text{IU/g wet wt./60 min}$)、TAK-R群($3.5\pm 2.5\text{IU/g wet wt./60 min}$)で有意に減少した($p<0.01$)。
- (6)30分間の過酸化水素投与による心機能、高エネルギーリン酸の低下は、対照群とTAK-044群では有意な差を認めなかった。

[考察]

我々の実験では、TAK-044の虚血前からの投与と再灌流直後からの投与とでは、再灌流後の心機能と高エネルギーリン酸代謝の回復に有意な差を認めなかった。このことから、TAK-044の心筋保護効果は主に再灌流後に作用していることが考えられた。TAK-044の作用機序としては、主に再灌流時における冠血流の改善と虚血再灌流心筋における Ca^{2+} 動態に対するET-1の作用の阻害が考えられた。虚血中、TAK-044投与により細胞内pHの低下が軽減されたが、再灌流後の心機能と高エネルギーリン酸代謝の回復に有意な差を認めず、主な作用機序とは考えられなかった。また、過酸化水素投与による心機能と高エネルギーリン酸代謝の低下をTAK-044は軽減しなかったことから、TAK-044の心筋保護効果はフリーラジカルの障害を抑制したためではないと考えられた。

[結論]

$\text{ET}_A \cdot \text{ET}_B$ レセプター拮抗剤TAK-044は、虚血再灌流時の高エネルギーリン酸代謝を改善させ心機能を保持したことが示唆された。また、TAK-044は、再灌流時の投与でも虚血前における投与と同様の効果が認められ、TAK-044の心筋保護効果は主に再灌流後に作用していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

血中エンドセリン濃度が、急性心筋梗塞や狭心症患者で上昇しており、心筋虚血再灌流傷害の増悪因子の一つと考えられている。そこで申請者は、心筋虚血再灌流傷害に対するエンドセリンの役割を検討する目的で $\text{ET}_A \cdot \text{ET}_B$ レセプター拮抗剤TAK-044を用い、虚血再灌流時の心機能と、 ^{31}P -核磁気共鳴(NMR)法により高エネルギーリン酸代謝、細胞内pHを測定した。さらに、再灌流傷害におけるエンドセリンと活性酸素種の関連を明らかにするために、過酸化水素投与による心機能および高エネルギーリン酸代謝障害に対するTAK-044の効果を検討した。

[材料ならびに方法]

実験はラット心臓を用い、定流量灌流によるLangendorff法で行った。心機能は左房から左室内に挿入したラテックスバルーンにより、左室発生圧(LVDP)、左室圧一次微分($\pm dp/dt$)、左室拡張末期圧(LVEDP)により評価した。高エネルギーリン酸代謝は ^{31}P -NMR法を用いて、クレアチンリン酸(PCr)、ア

デノシン三リン酸(ATP)、無機リン酸(Pi)を測定し、さらに細胞内pHも測定した。また、冠灌流液中のクレアチンフォスホキナーゼ(CPK)も測定した。

実験は35分間の虚血を行った後、60分間の再灌流をした。TAK-044の投与方法により次の3群に分類した。TAK-I群(n=11)は、TAK-044を虚血開始前20分にbolus投与(3 mg/kg body weight)し、その後100nmol/lで持続投与した。TAK-R群(n=9)は、再灌流直後からTAK-044をTAK-I群と同様な方法で投与した。対照群(n=11)は何も投与しなかった。

また、エンドセリンと活性酸素種の関連を検討するために対照群(n=8)として過酸化水素(200 μmol/l)を30分間持続投与した。TAK-044群(n=9)は、過酸化水素投与開始20分前にTAK-044をbolus投与(3 mg/kg body weight)し、その後100nmol/lで持続投与した。

[結果]

- (1)心機能においては虚血中3群間で有意な差を認めなかった。再灌流60分後の心機能の回復は、対照群に比べTAK-044投与群で有意に良好であり、TAK-I群とTAK-R群では有意な差を認めなかった。
- (2)再灌流60分後における高エネルギーリン酸代謝の回復は、対照群に比べTAK-044投与群で有意に良好であり、TAK-I群とTAK-R群では有意な差を認めなかった。
- (3)虚血35分後の細胞内pHは、TAK-I群では対照群およびTAK-R群に比べ有意に高値を示した。一方、再灌流後の細胞内pHは、3群間に有意な差を認めなかった。
- (4)再灌流60分間のCPK流出量は、対照群に比べTAK-044投与群で有意に減少した。
- (5)過酸化水素投与による心機能および高エネルギーリン酸代謝障害はTAK-044投与で改善できなかった。

以上の結果から、TAK-044は虚血再灌流時の高エネルギーリン酸代謝を回復させ心機能を改善したこと、またTAK-044の心筋保護効果は主に再灌流後にみられると申請者は結論した。

審査員は今回の研究の中で再灌流傷害におけるエンドセリンの役割を心機能と同時に高エネルギーリン酸代謝を測定することで検討し、その結果、高エネルギーリン酸代謝の改善が心機能改善に貢献していることを見つけたことや、特に再灌流時にエンドセリンが関与していることを明確に示したことを高く評価した。

本論文内容の説明の後、論文内容と関連の深い以下の点について申請者との間に質疑応答がなされた。

- 1) ET_AとET_B受容体の細胞内情報伝達と生理機能
- 2) 心筋梗塞時にエンドセリンが上昇するメカニズムとその生理的意義
- 3) 心筋におけるエンドセリンの作用
- 4) エンドセリンの産生部位
- 5) 冠血流圧の測定について
- 6) 虚血再灌流傷害におけるエンドセリン関与の割合
- 7) 虚血中の細胞内pHをエンドセリン拮抗剤が改善した理由
- 8) エンドセリン拮抗剤と過酸化水素の用量設定の根拠
- 9) この実験条件でエンドセリン濃度は上昇するのか
- 10) 虚血時間の設定根拠

- 11) 高エネルギーリン酸代謝を指標とした理由
- 12) ランゲンドルフ法における定流量灌流の特徴

以上の質問に対する申請者の解答は概ね適切であり、問題点も十分理解しており、本論文は博士(医学)の学位授与にふさわしい内容を備えていると審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 梅 村 和 夫
副査 数 井 暉 久 副査 渡 邊 裕 司