

# 丹野翔伍 学位論文審査要旨

主 査 西 村 元 延  
副主査 山 本 一 博  
同 久 留 一 郎

## 主論文

Protective effects of topiroxostat on an ischemia-reperfusion model of rat hearts

(ラット心臓の虚血再灌流モデルに対するトピロキシスタットの保護効果)

(著者：丹野翔伍、山本堅志郎、倉田康孝、足立真彩、井上裕美子、大谷直由、

三島睦夫、山本康孝、桑原政成、荻野和秀、三明淳一郎、二宮治明、白吉安昭、  
岡田太、山本一博、久留一郎)

平成30年 Circulation Journal 82巻 1101頁～1111頁

## 参考論文

1. Carvedilol suppresses apoptosis and ion channel remodelling of HL-1 cardiac myocytes expressing E334K cMyBPC

(カルベジロールはE334K変異型ミオシン結合タンパク質Cを発現するHL-1心筋細胞においてアポトーシス及びイオンチャネルのリモデリングを抑制する)

(著者：遠藤涼、Udin Bahrudin、野津智美、丹野翔伍、大野原岳史、山口幸子、  
池田信人、Budhi Surastri、中山祐二、二宮治明、白吉安昭、稲垣喜三、  
山本一博、吉田明雄、久留一郎)

平成28年 Drug Research 66巻 126頁～129頁

# 学 位 論 文 要 旨

## Protective effects of topiroxostat on an ischemia-reperfusion model of rat hearts

### (ラット心臓の虚血再灌流モデルに対するトピロキソスタットの保護効果)

急性心筋梗塞は冠動脈の閉塞により生じる虚血性疾患であり、急性期において行われる種々の再灌流療法により救命率が向上している。しかし、再灌流療法自身が残存する心筋細胞に傷害を与える虚血再灌流障害により心機能低下や致死性不整脈が生じることがあり、この制御が課題となっている。虚血再灌流障害の主な原因として活性酸素種 (ROS) や組織中エネルギーバランス異常が考えられており、ROSの生成源としてxanthine oxidase (XO) などが注目されている。

好気性条件下の組織で消費されたATPの多くはリン酸化され再利用されるが、虚血時の組織では再利用できずAMPが蓄積された結果、ヒポキサンチンへ分解される。生体内ではプリン塩基の再利用のため、ヒポキサンチンからIMPを介してアデニンヌクレオチドを合成するサルベージ経路が存在しているが、過剰に蓄積したヒポキサンチンは組織中のXOによりキサンチン、尿酸へと代謝され、その際にROSが発生する。

アロプリノールはXO阻害作用によりROSの生成を抑え、再灌流障害が抑制されるとの報告や、XO阻害作用によりサルベージ経路が優位になりエネルギーバランスが改善することで再灌流障害が抑制されるとの報告がなされている。しかし、XO阻害作用以外にも様々な効果を有する薬剤のため、XO阻害が直接的に再灌流障害を抑制しているかは不明な点が多い。

今回本研究ではXO以外の核酸代謝酵素を阻害しない選択的XO阻害薬であるトピロキソスタットを用いてXO阻害作用が直接的に虚血再灌流障害に対する抑制効果を発揮するか検討し、XO阻害が虚血再灌流障害を抑制し、その機序としてROSによる酸化ストレスの抑制が関与することを明らかにしたので報告する。

## 方 法

雄のLewisラットをコントロール (Cont) 群、トピロキソスタット (Topi) 群 (0.3  $\mu$ M、3  $\mu$ M、30  $\mu$ M)、アロプリノール (Allo) 群 (7  $\mu$ M、70  $\mu$ M、1 mM)、N-アセチルシステイン (NAC) 群 (500  $\mu$ M) に分けた。各群のラットから心臓を単離し、ランゲンドルフ灌流装置で各種薬剤を灌流した後、45分間灌流を停止して虚血状態を作製、その後30分間再灌流を行った。虚血直前と再灌流終了時に心機能を測定し、さらに、再灌流後に生じる不整脈

が洞調律に復帰するまでに要する時間を測定した。また、再灌流中に細胞障害マーカーとしてCPK、LDHを経時的に測定し、再灌流後の心筋組織中のXO活性、TBARSによる酸化ストレス、HPLCによるアデニンヌクレオチドを定量した。さらに、トピロキシスタット (3  $\mu\text{M}$ ) を虚血前のみ及び再灌流後30分間のみ灌流した群と虚血前から再灌流後30分間を通して灌流した群において、再灌流後心機能及び不整脈時間を比較した。

## 結 果

Cont群では虚血前に比べて再灌流後における左室拡張末期圧 (LVEDP) が上昇し、最小左室圧変化 (LV dp/dt min) が低下したが、Topi群 (0.3  $\mu\text{M}$ 、3  $\mu\text{M}$ 、30  $\mu\text{M}$ )、Allo群 (1 mM)、NAC群でLVEDPの上昇が有意に抑制された。Topi群 (3  $\mu\text{M}$ )、Allo群 (1 mM)、NAC群でLV dp/dt minの低下が有意に抑制され、再灌流後の不整脈時間が有意に短縮した。さらに、CPK及びLDHの逸脱が抑制された。また、心筋組織中のXO活性は、Topi群 (3  $\mu\text{M}$ 、30  $\mu\text{M}$ )、Allo群 (1 mM) で有意に抑制され、さらに酸化ストレスはこれらの群とNAC群で有意に減少した。しかし、心筋組織中のATP、ADP、AMPは各種薬剤によって増加せず、エネルギーバランスの明らかな改善は認められなかった。また、トピロキシスタット (3  $\mu\text{M}$ ) を虚血前のみまたは再灌流後30分間のみ灌流した群では、有意な心機能の悪化抑制効果及び不整脈短縮効果は認められなかった。

## 考 察

虚血再灌流後の心機能低下及び不整脈には、これまでの報告と同様にROSによる酸化ストレスが主に関与していることが確かめられ、選択的XO阻害薬であるトピロキシスタットがその改善効果を示すことが認められた。以上からトピロキシスタットがXO活性を抑制することで虚血再灌流後の心筋に生じる酸化ストレスを軽減させ、虚血再灌流障害の抑制に繋がることが確かめられた。アロプリノールは有効血中濃度である7  $\mu\text{M}$ では無効であり、高濃度の1 mMでのみ虚血再灌流障害抑制効果が認められた。一方でトピロキシスタットでは有効血中濃度に相当する3  $\mu\text{M}$ で効果が認められたことから、トピロキシスタットは臨床使用濃度で心臓の虚血再灌流障害を抑制する可能性が示された。

## 結 論

トピロキシスタットは有効血中濃度で心筋XO活性を抑制し、酸化ストレスを軽減させることで虚血再灌流後の心機能改善ならびに不整脈の抑制に寄与することが明らかとなった。