

Title	Amelioration of Ischemia-and Reperfusion-induced Myocardial Injury by the Selective Estrogen Receptor Modulator, Raloxifene, in the Canine Heart
Author(s)	扇田, 久和
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43837">https://hdl.handle.net/11094/43837</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	おとうぎ た ひさ かず 扇 田 久 和
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 7 5 8 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 15 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学 位 論 文 名	Amelioration of Ischemia- and Reperfusion-Induced Myocardial Injury by the Selective Estrogen Receptor Modulator, Raloxifene, in the Canine Heart (選択的エストロゲン受容体調節薬ラロキシフェンはイヌ心臓において虚血・再灌流障害を改善する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 堀 正二 (副査) 教 授 倉智 嘉久 教 授 松田 暉

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [ 目 的 ]

閉経後女性の心血管疾患罹患率は女性ホルモン補充療法により減少するとの報告がある。しかし、エストロゲンには乳癌や子宮内膜癌、静脈血栓症の発症リスクを上昇させる恐れがある。近年、骨・心血管系へ選択時に作用し性腺への刺激がほとんどない選択的エストロゲン受容体調節薬ラロキシフェンが開発され、新しいホルモン補充療法薬として注目されている。今回、我々はビーグル成犬を用いた虚血・再灌流モデルでラロキシフェンが心筋梗塞サイズを縮小する効果を持つかどうか、また、再灌流時の不整脈を抑制する効果があるかどうかを検討した。

#### [ 方 法 ]

麻酔開胸ビーグル成犬において、体外循環チューブを用いて左総頸動脈から左冠動脈前下行枝を選択的に灌流し、体外循環チューブを閉鎖・開放することにより 90 分虚血・6 時間再灌流モデルを作成した。薬剤は、閉鎖前 10 分前及び開放直後から 60 分間冠動脈に注入した。側副血流量は虚血 80 分後にマイクロスフェア法にて計測し、心筋梗塞サイズはエバンスブルーで梗塞危険領域を染色後 TTC にて二重染色し計測した。群設定としては、1. 対照 (生食投与) 群、2. Vehicle (0.1% DMSO) 投与群、3. ラロキシフェン低用量 (0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) 投与群、4. ラロキシフェン高用量 (5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) 投与群、5. ラロキシフェン高用量 + L-NAME (一酸化窒素合成酵素阻害薬) 投与群、6. ラロキシフェン高用量 + カリブドトキシン (カルシウム活性化カリウムチャネル開口阻害薬) 投与群、7. ラロキシフェン高用量 + L-NAME + カリブドトキシン投与群の 7 群にて検討した。さらに、ラロキシフェンの虚血心筋に対する分子メカニズムを検討するため、ラロキシフェン投与有無による心筋での MAP キナーゼ活性の変化および、梗塞危険領域もしくは非危険領域でのミエロペルオキシダーゼ酵素活性を測定した。

#### [ 成 績 ]

心筋梗塞サイズは、ラロキシフェン高用量投与群において対照群と比較して縮小効果を認めた ( $6.8 \pm 4.2\%$  vs  $40.9$ )

±3.9%,  $p < 0.01$ )。また、ラロキシフェン高用量+L-NAME 投与群 (梗塞サイズ:  $22.8 \pm 5.4\%$ ,  $p < 0.05$  vs ラロキシフェン高用量投与群または対照群)、ラロキシフェン高用量+カリブドトキシン投与群 (梗塞サイズ:  $23.5 \pm 5.1\%$ ,  $p < 0.05$  vs ラロキシフェン高用量投与群または対照群) においてはラロキシフェンの心筋梗塞サイズ縮小効果がそれぞれ部分的に消失した。さらに、ラロキシフェン高用量+L-NAME+カリブドトキシン投与群 (梗塞サイズ:  $37.7 \pm 5.8\%$ ,  $p < 0.01$  vs ラロキシフェン高用量投与群) ではラロキシフェンの心筋梗塞サイズ縮小効果は完全に消失した。なお、Vehicle 投与群 (梗塞サイズ:  $37.4 \pm 4.8\%$ ) 及びラロキシフェン低用量投与群 (梗塞サイズ:  $38.3 \pm 2.0\%$ ) においては心筋梗塞サイズの縮小は認められなかった。

再灌流時の心室細動出現頻度は、ラロキシフェン高用量投与群において対照群と比較して低下し ( $44\%$  vs  $11\%$ ,  $p < 0.05$ )、この効果は、L-NAME またはカリブドトキシンの一方をラロキシフェンと投与することによりそれぞれ部分時に抑制され、両障害薬を共にラロキシフェンと投与することにより消失した。

15分虚血により p38 MAP キナーゼ活性は上昇したが、ラロキシフェン高用量投与によりその活性上昇が抑制された。また、ラロキシフェン高用量投与群では梗塞危険領域におけるミエロペルオキシダーゼ活性の上昇はなく、対照群と比較して酵素活性は有意に抑制された。

#### [ 総 括 ]

ラロキシフェンが心筋梗塞サイズ縮小効果を有し、再灌流時における心室細動の発生頻度を低下させることを示したが、この機序としては、一酸化窒素及びカルシウム活性化カリウムチャネル開口を介する系が考えられた。まず、ラロキシフェンが一酸化窒素を介するメカニズムとしては、第1に一酸化窒素が心筋細胞膜での  $Ca^{2+}$  流入を抑制することにより、筋小胞体からの  $Ca^{2+}$  放出を抑制し心筋細胞内での  $Ca^{2+}$  過負荷を制御し心筋障害を軽減している可能性がある。第2に、一酸化窒素が活性酸素由来のラジカル産生を抑制することにより、心筋保護に働いている可能性がある。実際に、ヒト臍帯静脈内皮細胞を用いた *in vitro* での無酸素・再酸素化実験において、ラロキシフェンが一酸化窒素の産生を増加させることが報告されている。次に、カルシウム活性化カリウムチャネル開口を介した心筋保護効果については、カルシウム活性化カリウムチャネル開口により細胞膜電位の過分極が生じ細胞内への  $Ca^{2+}$  流入が抑制され、虚血・再灌流障害時に心筋細胞での  $Ca^{2+}$  過負荷抑制が生じるためと考えられた。

ラロキシフェン高用量投与群では対照群と比較してミエロペルオキシダーゼ活性を有意に抑制していたことより、ラロキシフェンの急性作用の一つとして白血球活性化抑制作用が関与している可能性が考えられた。また、虚血心筋に対するラロキシフェンの分子メカニズムとして、p38MAP キナーゼ活性抑制により急性の虚血・再灌流障害抑制効果を発揮していると推測された。

#### 論文審査の結果の要旨

閉経前女性においては心筋梗塞をはじめとする心血管イベントの発生は同年代の男性と比較して極めて少なく、逆に閉経後女性では心血管障害が急速に進展することからエストロゲンが心保護作用を有していることが推測される。しかし、近年、虚血性心疾患の2次予防に対してホルモン補充療法が有効でなかったこと、また、1次予防に関してもホルモン補充療法施行群において逆に虚血性心疾患の発症率が増加したとの報告により虚血性心疾患予防を目的としたホルモン補充療法の施行については否定的な意見が多い。このような現況から、近年、性腺刺激作用がほとんどない選択的エストロゲン受容体調節薬が開発され新しいホルモン補充療法薬として注目されている。

本研究では、この選択的エストロゲン受容体調節薬の一つであるラロキシフェンが、心筋虚血・再灌流時に心保護作用を有するかどうかを検討した。麻酔開胸犬を用いて左冠動脈前下行枝を90分虚血・6時間再灌流することにより心筋梗塞モデルを作成した。心筋梗塞サイズは、ラロキシフェン冠動脈投与群において、対照群と比較して有意に心筋梗塞サイズ縮小効果を認めた。再灌流時における心室細動出現頻度もラロキシフェン冠動脈投与群において対照群よりも有意に低下した。これらの効果は、一酸化窒素合成酵素阻害薬 L-NAME または、カルシウム活性化カリウムチャネル開口阻害薬カリブドトキシンの投与によりそれぞれ部分的に打ち消され、さらに、両障害薬を共に同時に

ラロキシフェンと投与することにより完全に消失した。また、ラロキシフェン投与群においては虚血時の p38 MAPキナーゼ活性上昇が抑制され、これが虚血・再灌流障害を軽減する分子メカニズムの一つである可能性が示唆された。以上の結果より、当論文は、近年急増している女性の虚血性心疾患に対する新しい治療法の開発及び臨床応用に関して極めて意義深い知見を提示しており、学位授与に値すると認める。