

氏名	稲垣 宏一
学位(専攻分野)	博士 (医学)
学位記番号	医博第2196号
学位授与の日付	平成12年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科分子医学系専攻
学位論文題目	Anti-Ischemic Effect of a Novel Cardioprotective Agent JTV 519 Is Mediated Through Specific Activation of δ -Isoform of Protein Kinase C in Rat Ventricular Myocardium (新しい心筋保護薬 JTV 519 はプロテインキナーゼ C δ アイソフォームの活性化により抗虚血作用を示す)

論文調査委員 (主査) 教授 乾 賢一 教授 北 徹 教授 藤田 潤

論文内容の要旨

【背景と目的】 先行する短時間の虚血が引き続き生じる長時間の虚血に対し強力な心筋保護作用をもつ現象は、プレコンディショニングと呼ばれ、急性冠動脈疾患治療へのアプローチの1つとして期待されている。プレコンディショニングの機序については、現在、プロテインキナーゼC (PKC) の活性化が重要な役割を果たしていることが示唆されている。

一方、1-4ベンゾチアゼピン誘導体 JTV-519 はカテコールアミンによる心筋障害を抑制する物質として開発され、その強力な心筋障害保護効果が注目されている。

本研究において、JTV 519 の虚血 / 再灌流心筋に対する障害抑制効果とその機序について、PKC の関与の有無を含めて検討した。

【方法】 ラット摘出冠灌流心を用い、冠灌流遮断による完全虚血30分+再灌流30分を行った。対照群、TV 519 虚血前投与群、JTV 519 再灌流時投与群、PKC 拮抗薬 (0.5 μ M GF 109203 X) + JTV 519 0.3 μ M, アドレナリン α 1 受容体拮抗薬 (1 μ M prazosin) + JTV 519 0.3 μ M, アデノシン A1 受容体拮抗薬 (30 nM DPCPX) + JTV 519 0.3 μ M, プラディキニン B2 受容体拮抗薬 (10 nM HOE 140) + JTV 519 0.3 μ M の虚血前同時投与群 (各 n = 5) において経時的に等容左室圧 (LVP) を測定し、再灌流時心筋逸脱酵素 CPK, LDH の測定を行った。また immunoblot 法と免疫蛍光染色法を用い JTV 519 投与前後の PKC isoforms の細胞内局在変化を観察した。

成熟ラット単離心室筋細胞に対し、Phorbol 12-myristate 13-acetate (10 nM, PMA) 単独投与、PMA (10 nM) + δ V₁₋₁ (PKC δ 阻害剤, 150 μ g/mL) 投与、PMA (10 nM) + ϵ V₁₋₂ (PKC ϵ 阻害剤, 150 μ g/mL) 投与、JTV 519 (0.3 μ M) 単独投与、JTV 519 (0.3 μ M) + δ V₁₋₁ (150 μ g/mL) 投与、JTV 519 (0.3 μ M) + ϵ V₁₋₂ (PKC ϵ 阻害剤, 150 μ g/mL) 投与を行い、免疫蛍光染色を施行した。標本は共焦点顕微鏡を用いて観察し、PKC δ , PKC ϵ の細胞質から細胞膜への転移を評価した。

【結果】 虚血前 JTV 519 投与群は、用量依存的に再灌流後の左室機能を保持し (対照に対する LV 発生圧比, 0.3 μ M 147%; 1.0 μ M 158%; 3.0 μ M 175%, 各濃度とも p < 0.05), CPK, LDH の逸脱も抑制した。再灌流時 JTV 519 投与群でも、対照群に比し有意な心筋障害抑制が示された。JTV 519 の心筋保護効果は α 1, A1, B2 拮抗薬では影響されなかったが、PKC 拮抗薬前投与により完全に抑制された。また、JTV 519 は PKC δ の細胞質から細胞膜への転位を特異的に誘導した。

【考察】 本研究において、JTV 519 は急性虚血 / 再灌流心筋に対して、虚血前投与、再灌流時投与のいずれにおいても心筋障害を抑制した。JTV 519 は特異的に PKC δ を活性化した。また、JTV 519 の心筋保護作用は PKC 阻害薬により完全に抑制された。従って、JTV 519 の虚血 / 再灌流に対する心筋保護作用は PKC δ の活性化によるものであることが示された。JTV 519 は、プレコンディショニングに類似した細胞内機序により急性冠動脈疾患に対し心筋保護作用を示す新しい領域に属す

る治療薬と考えられ、その臨床応用が期待される。

論文審査の結果の要旨

1.4 ベンゾチアゼピン誘導体 JTV 519 ラット摘出冠灌流心において抗虚血作用を示し、またその作用はプロテインキナーゼ C 阻害薬により抑制された。また、JTV 519 により、心筋組織内プロテインキナーゼ C δ アイソフォームの細胞質から細胞膜への転位が認められた。すなわち、JTV 519 はプロテインキナーゼ C δ アイソフォームを活性化し、虚血・再灌流障害に対し心筋保護効果を示すことを見出した。ラット心筋におけるプレコンディショニングの心筋保護作用において、プロテインキナーゼ C δ アイソフォームの関与について既にいくつかの報告があり、臨床応用が期待されている。しかし、選択的にプロテインキナーゼ C δ アイソフォームを活性化する薬剤は未だ知られておらず、JTV 519 の薬理学的作用は新たな発見であり、また、直接的に心筋細胞を保護する新たな急性冠動脈疾患の治療薬としての可能性を示した。

以上の研究は心筋保護作用をもつ JTV 519 の薬理学的機序の発見により、特異的プロテインキナーゼ C の活性化が急性冠動脈疾患の新たな治療法となる可能性を示唆するものと考えられる。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 12 年 1 月 24 日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。