

氏 名 鈴 木 好 幸
 学位(専攻分野) 博 士 (薬 学)
 学位記番号 論 薬 博 第 588 号
 学位授与の日付 平 成 10 年 5 月 25 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
 学位論文題目 Na^+ -, Ca^{2+} -overload抑制作用と Ca^{2+} 拮抗作用を併有する薬物の虚血心筋保護作用に関する薬理学的研究

(主査)

論文調査委員 教授 佐藤公道 教授 赤池昭紀 教授 佐治英郎

論 文 内 容 の 要 旨

細胞内 Ca^{2+} -overloadは、虚血性心筋細胞傷害の主な原因と考えられている。 Ca^{2+} -overloadは、先行する Na^+ -overloadから $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchangerを介して生じるものとされていることから、虚血心筋保護には Na^+ -overloadの抑制が有効と考えられる。 Na^+ -overloadを引き起こすメカニズムの一つとして、虚血により Na^+ channelの不活性化過程が障害されて生じるnon-inactivating Na^+ currentが想定されている。一方、diltiazem等の Ca^{2+} 拮抗薬は Na^+ -, Ca^{2+} -overloadを抑制できないが、主に循環動態を介した心筋酸素需要供給バランスの改善により抗虚血効果を示すと言われている。したがって、 Na^+ -, Ca^{2+} -overload抑制作用と Ca^{2+} 拮抗作用を同時に発現させ得れば、より強力な抗虚血効果が期待できる。

そこで筆者は、 Na^+ -, Ca^{2+} -overload抑制作用と Ca^{2+} 拮抗作用を併有する薬物の創製を試み、新規心筋保護薬CP-060Sを見出した。本論文では、CP-060Sの Na^+ -, Ca^{2+} -overload抑制作用および Ca^{2+} 拮抗作用、さらにその虚血心筋保護作用に関する薬理学的研究を行った。

第1章 CP-060Sの Na^+ -, Ca^{2+} -overload抑制作用および Ca^{2+} 拮抗作用

Non-inactivating Na^+ current誘発作用を持つveratridineをラット単離心筋細胞に処理すると細胞内 Na^+ および Ca^{2+} は急激に上昇し、ほぼ全ての細胞が拘縮した。CP-060Sは、 $0.3 \mu\text{M}$ 以上の前処理でほぼ完全にこの細胞拘縮を抑制した。また、 $1 \mu\text{M}$ の前処理でほぼ完全に細胞内 Na^+ -, Ca^{2+} -overloadを抑制した。これらの結果からCP-060Sは、non-inactivating Na^+ current阻害を機序として Na^+ -, Ca^{2+} -overloadを抑制することが示唆される。一方、CP-060Sは濃度依存的にイヌ摘出冠動脈標本の KCl 収縮を弛緩させた ($\text{IC}_{50}=0.35 \pm 0.07 \mu\text{M}$)。したがって、CP-060Sの Na^+ -, Ca^{2+} -overload抑制作用と血管弛緩作用は、ほぼ同じ濃度域で作用することが示唆される。なお、CP-060Sの血管弛緩作用機序については、ラット摘出大動脈標本の CaCl_2 収縮反応曲線を濃度依存的に右方へ平行移動させ競合的拮抗作用を示したことから、さらに Ca^{2+} ionophoreであるA-23187による収縮に対して全く弛緩作用を示さなかったことから、電位依存性 Ca^{2+} channel阻害が考えられる。

次に、CP-060Sの Ca^{2+} 拮抗作用の特性を明らかにする目的で、3種類に分類されている Ca^{2+} 拮抗薬のL-type Ca^{2+} channel上のbinding siteとの相互作用を、受容体結合実験により検討した。CP-060Sは、 $[^3\text{H}]$ PN200-110 (dihydropyridine類)、 $[^3\text{H}]$ D888 (phenylalkylamine類) および $[^3\text{H}]$ diltiazem (benzothiazepine類) のラット心臓膜標品への結合を濃度依存的に完全に阻害した。また、 $[^3\text{H}]$ PN200-110および $[^3\text{H}]$ D888の結合に関しては、 B_{max} を変化させず K_{d} 値を有意に増大させた。一方、CP-060Sはこれら三種類のligandの解離速度を有意に増加させた。これらの結果から、CP-060SはL-type Ca^{2+} channel上の3種類に分類されているbinding siteのどれとも負のアロステリック相互作用を示す新規なbinding siteに結合することが示唆される。

さらに、in vivoにおけるCP-060Sの Ca^{2+} 拮抗作用の特徴を明らかにするために、麻酔下開胸イヌの心機能および心筋酸素消費量に対する作用を検討した。CP-060Sは、心収縮力および心仕事量にほとんど影響を与えずに、降圧および心拍数減少作用を示した。また、冠動脈血流量を増加し心筋への酸素供給を増加させ、心筋酸素消費量を減少させた。これらの作用

は、質的にdiltiazemと同様であり、循環動態を介した抗虚血効果はdiltiazemと類似しているものと考えられる。

第2章 Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用と Ca^{2+} 拮抗作用の協力効果によるCP-060Sの虚血心筋保護作用

イヌ心筋虚血再灌流モデルを用い、CP-060Sの心筋壊死抑制効果をdiltiazemと比較検討した。Diltiazemの心筋壊死抑制効果は、主に虚血中の心筋酸素需要の減少作用によるものと考えられている。CP-060Sは、虚血中の心筋酸素需要をdiltiazemと同程度減少させたが、心筋壊死抑制効果はdiltiazemよりも明らかに強力であった。したがって、CP-060Sの心筋壊死抑制効果への Ca^{2+} 拮抗作用以外のメカニズム、おそらく Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用の協力的な寄与が示唆される。

次に、ラット虚血再灌流誘発不整脈モデルを用い、CP-060Sの不整脈抑制効果をdiltiazemおよびCP-060Sと同様にnon-inactivating Na^+ current阻害を機序とし Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用を示すR56865と比較検討した。CP-060Sは、diltiazemよりも循環動態に影響の少ない用量で不整脈を抑制した。さらに、diltiazemの不整脈抑制効果にはR56865との協力効果が認められたが、CP-060Sでは認められなかった。したがって、CP-060Sの不整脈抑制効果は Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用と Ca^{2+} 拮抗作用の協力効果によるものと考えられる。

以上、筆者は新規心筋保護薬CP-060Sが Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用と Ca^{2+} 拮抗作用と併有すること、さらに、 Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用と Ca^{2+} 拮抗作用の協力効果で、単独の作用より強力な虚血心筋保護作用を示すことを明らかにした。これらの知見は、より優れた虚血心疾患治療薬開発に有用と考えられる。

論文審査の結果の要旨

虚血性心疾患において重大な問題である虚血性あるいは虚血再灌流性の不可逆的心筋障害の主たる原因は細胞内 Ca^{2+} -overloadである。これは、虚血による Na^+ チャネルの不活性化過程の障害によりnon-inactivating Na^+ 電流が発生した結果 Na^+ -overloadが先ず起こり、これに続く $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange機構の作動によって生じると推定されている。従って、 Na^+ -overloadの抑制は心筋細胞保護に有効と考えられる。一方、 Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用を持たないdiltiazemなどの Ca^{2+} 拮抗薬は主に循環動態を介した心筋酸素需要供給バランスの改善により抗虚血効果を発揮すると考えられている。著者は、 Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用と Ca^{2+} 拮抗作用とを併有する薬物の創製を試みCP-060Sを見出し、その薬理作用を詳細に検討した。

第1章 CP-060Sの Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用および Ca^{2+} 拮抗作用

CP-060Sは、non-inactivating Na^+ 電流誘発作用を持つveratridineによるラット単離心筋細胞の拘縮および細胞内 Na^+ 、 Ca^{2+} -overloadを $1 \mu\text{M}$ 以下の濃度でほぼ完全に抑制した。また、同程度の濃度範囲で、イヌ摘出冠動脈標本のKCl収縮を、電位依存性 Ca^{2+} チャネル阻害を介する機序により、抑制した。この電位依存性 Ca^{2+} チャネル阻害作用が、L型 Ca^{2+} チャネル上の3種類に分類されている従来の Ca^{2+} 拮抗薬の結合部位のどれとも負のアロステリック相互作用を起こす新規な結合部位への結合を介して発現することを示した。さらに、麻酔下開胸イヌを用いたin vivo実験により、心機能および心筋酸素消費量に対する作用はdiltiazemと質的に同様であることを確認した。これらの成績は、CP-060Sが、虚血によって活性化されるnon-inactivating Na^+ 電流の阻害に基づく心筋細胞内 Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用と電位依存性 Ca^{2+} チャネルの阻害を機序とする血管弛緩作用を併有していることを示唆している。

第2章 Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用と Ca^{2+} 拮抗作用の協力効果によるCP-060Sの虚血心筋保護作用

イヌ心筋虚血再灌流モデルおよびラット虚血再灌流誘発不整脈モデルにおいてCP-060Sとdiltiazemの作用を比較検討したin vivo実験によって、CP-060Sの心筋壊死抑制効果および不整脈抑制効果が、 Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用と Ca^{2+} 拮抗作用の協力効果によるものであることを示した。

以上、新たに見出されたCP-060Sが、non-inactivating Na^+ 電流の阻害に基づく心筋細胞内 Na^+ 、 Ca^{2+} -overload抑制作用と新規の結合部位への結合を介する Ca^{2+} 拮抗作用を併有していること、さらに、これら2つの作用の協力効果により、どちらか一方の作用を持つ薬物よりも有意に強力な虚血心筋保護作用を示すことを明らかにした。これらの知見は、より優れた虚血性心疾患治療薬開発に有用なヒントを与えるものと考えられる。

よって、本論文を博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

さらに、平成10年5月7日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。