

201114002B

厚生労働科学研究費補助金

医療技術実用化総合研究事業

(臨床研究推進研究事業)

高齢者に向けた心不全治療薬の開発

平成21－23年度 総合研究報告書

研究代表者 石川義弘

平成24（2012年）年5月

厚生労働科学研究費補助金

医療技術実用化総合研究事業

(臨床研究推進研究事業)

高齢者に向けた心不全治療薬の開発

平成 21 - 23 年度 総合研究報告書

主任研究者 石川義弘

平成 24 (2012 年) 年 5 月

目 次

I. 総括研究報告

高齢者に向けた心不全治療薬の開発 ----- 1

石川 義弘

II. 分担研究報告

高齢者に向けた心不全治療薬の開発（薬理学の検討） ----- 13

奥村 敏

高齢者に向けた心不全治療薬の開発（動物モデルの検討） ----- 25

上地 正美

高齢者に向けた心不全治療薬の開発（化学合成の検討） ----- 61

井上誠一

高齢者に向けた心不全治療薬の開発（心機能効果の検討） -----222

南沢享

高齢者に向けた心不全治療薬の開発（細胞学の検討） -----227

田中光

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 265

IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----274

[ I ]

# 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）

（総括担）研究報告書

高齢者に向けた心不全治療薬の開発研究

主任研究者 石川義弘 横浜市立大学大学院・教授

研究要旨

心不全はすべての心臓病の末期像であり、我が国民の3大死因のひとつである。心不全治療の世界標準指針は慢性的に亢進した交感神経活動の抑制であり、RA系阻害剤とベータアドレナリン受容体遮断薬（ベータ遮断薬）はその代表薬として使用されている。然るにベータ遮断剤導入に当たっての最大の副作用は一過性の心機能抑制であり、とくに高齢者には大きな妨げとなる。さらに呼吸機能抑制もあり、肺気腫などの合併症の多い高齢者では大きな問題である。ベータアドレナリン受容体の働きは細胞内アデニル酸シクラーゼ酵素を活性化し、細胞内cAMP濃度を高めて心機能を調節することであり、ベータ遮断薬の薬理効果はアデニル酸シクラーゼ活性の抑制に他ならない。ベータ遮断薬による呼吸機能抑制の本質は、肺気管支にもベータアドレナリン受容体が発現するため、ベータ遮断薬によって気管支の収縮が起こることである。ベータアドレナリン受容体は3つのサブタイプしかないが、アデニル酸シクラーゼには9つのサブタイプが知られており、心臓型とよばれるサブタイプは心臓に特異的に発現する。従って心臓型アデニル酸シクラーゼを選択的に阻害することが出来れば、呼吸器抑制を起こさずにベータ遮断剤と同等の心不全治療ができるはずである。これまでの我々の遺伝子操作動物や薬理実験結果から、心臓型サブタイプを欠損させた動物では、定常状態の心機能低下はないが、心不全など様々な病態生理下ではむしろ心筋保護作用を示すことがわかった。これは心臓型サブタイプがcAMPの基礎産生には関与しないが、交感神経の亢進時に反応するためと考えられる。さらに80万種類以上の薬剤をコンピュータモデルにて検討した結果、心臓型サブタイプを選択的に抑制できる化合物が複数同定された。とりわけ抗ウイルス剤として長年臨床で用いられてきた薬剤の一部に心臓型サブタイプの選択的抑制効果があり、マウスだけでなく大型動物であるイヌを含めた心不全動物モデル実験では心機能保護を有する結果が得られた。このことは心臓型サブタイプ抑制剤が心不全治療薬として有用であることを意味する。さらに心不全以外の不整脈などの心疾患に対する適応も検討された。本申請は学際的プロジェクトであり、アデニル酸シクラーゼの研究者が化学合成の専門家と協力し、細胞実験のみならず獣医循環器専門医の協力を得て動物実験を行い、心臓型サブタイプの選択的な抑制剤を、高齢者にも安心して使える心不全治療薬として開発することを目的とした。

## 分担研究者氏名・所属機関名及び所

### 属機関における職名

奥村敏 横浜市立大学 准教授

上地正美 日本大学 教授

井上誠一 横浜国立大学 特任教授

南沢享 早稲田大学 教授

田中光 東邦大学 教授

## 石川 義弘 (研究代表者)

### A. 研究目的

心不全治療の世界標準指針は慢性的に亢進した交感神経活動の抑制であり、レニンアンジオテンシン系阻害剤とベータアドレナリン受容体遮断薬(ベータ遮断薬)はその代表薬として使用されている。然るにベータ遮断剤導入に当たっての最大の副作用は一過性の心機能抑制であり、とくに高齢者には大きな妨げとなる。ベータアドレナリン受容体の働きは細胞内アデニル酸シクラーゼ酵素を活性化し、細胞内cAMP濃度を高めて心機能を調節することであり、ベータ遮断薬の薬理効果はアデニル酸シクラーゼ活性の抑制に他ならない。ベータアドレナリン受容体は3つのサブタイプしかないが、アデニル酸シクラーゼには9つのサブタイプが知られており、心臓型とよばれるサブタイプ(5型)は心臓に特異的に発現する。従って心臓型アデニル酸シクラーゼを選択的に阻害することが出来れば、呼吸器抑制を起こさずにベータ遮断剤と同等の心不全治療ができるはずである。本研究は学際的プロジェクトであり、心臓型サブタイプの選択的な抑制剤を、高齢者にも安心して使える心不全治療薬として開発することを目的とする。

### B. 研究方法ならびに結果

#### 抗ヘルペス薬の心不全治療薬としての開発

心不全治療薬としての研究は横浜市立大学 奥村敏ならびに早稲田大学南沢享が小型動物(マウス)を用いて様々な心不全マウスモデルを作製し、心臓型アデニル酸シクラーゼ特異的抑制作用をもつ抗ヘルペス薬(ビダラビン)の心不全治療薬としての有用性について検討した(平成21年度—平成23年度)。奥村は心臓型アデニル酸シクラーゼ欠損マウスを作製して、同マウスが心不全発症ストレスに対して抵抗性である研究を行い、その研究成果を一流欧文雑誌に報告している(Circ Res 2003, PNAS 2003, Circulation 2007)。一方南沢は心臓型アデニル酸シクラーゼの重要な役割である心筋細胞内カルシウム調節タンパクの制御機構についての研究成果を一流欧文誌に報告している(Cell 1997, JCI2006)。以上の心臓型アデニル酸シクラーゼ欠損マウスならびにカルシウム関連タンパクの遺伝子変異マウスとビダラビン投与マウスの基礎薬理データの結果を比較検討し、ビダラビンは既存のベータ遮断薬と同等の心不全治療効果がありかつベータ遮断薬にみられる導入初期の重篤な心機能低下や呼吸機能抑制のない化合物になるという基礎薬理学的データが得られた。

日本大学の上地正美は、ビダラビンの心不全治療薬としての新規適応取得のためビーグル犬を用いたペーシング誘発性イヌ心不全モデルを使用して実験した(平成21—23年度)。イヌペーシングモデルは数週間で顕著な心不全を来すことが知られているが、ビダラビンはペーシング誘発による心不全からの回復時間を顕著に促進させることを明らかにした。心機能の回復がどの程度行われるかの検討を行った。とりわけ平成23年度は、将来の臨床応用を念頭に、心不全をイヌモデルにおいて完成させてから、心臓型サブタイプ阻害剤を投与し、心機能の回復がどの程度行われるかの

検討を行った。

#### 抗ヘルペス薬の不整脈治療薬としての開発

2001年にACC/AHA/ESCで共同で心房細動治療に対するガイドラインでは予防効果についてベータ遮断薬は第1選択薬として、また停止効果についてもナトリウムチャンネル阻害薬とともにその有用性が示唆されている。また心臓バイパス術後の心房細動の発症率は30-40%であり心臓外科領域では重篤な合併症であるものの確立された治療方針がなかった。しかしながら2004年にACC/AHAから提出されたガイドラインでは術前あるいは術直後早期からのベータ遮断薬の投与が推奨されて以降はベータ遮断薬の予防的投与が心臓外科領域での標準的な治療となってきた。横浜市立大学 奥村と東邦大学 田中はビダラビンの抗不整脈作用についてin vivoならびにin vitroの検討を行った。奥村はマウスを用いた経食道誘発性心房細動モデルならびにカテコラミン誘発性心室性不整脈マウスモデル（カルセクエストリン欠損マウス）を用いて、ビダラビンはベータ遮断薬と同等の心房細動発症予防効果を有することを明らかにした。発作性心房細動発症には肺静脈心筋の自動能亢進が指摘され、心臓細動に対しての肺静脈心筋のカテテル焼却術の治療効果の有用性については確立されている。東邦大学薬学部の田中光はイソプロテレノールで誘発されたモルモット肺静脈心筋細胞自発電位はビダラビンによってその発症が抑制され、心房細動に対する有用性がin vitroの実験からも実証された。

以上の実験データから横浜市立大学付属病院倫理委員会にてヒトに対するビダラビンの抗不整脈作用についての臨床治験が承認され（B110512007）現在臨床治験が進行中である。

#### 新規化合物の開発

横浜国立大学の井上誠一は既存の心臓型サブタイ

プ阻害剤（ビダラビン）だけでなく、より生体適合性の高い新規化合物の設計を行い、合成をおこなった。合成された化合物については、横浜市立大学の奥村が中心となり生体組織（脳、心臓、肺など）のアデニル酸シクラーゼ活性に対する抑制効果を検討した。さらに心不全における心筋保護効果だけでなく、不整脈治療における効果についても検討した。その結果中枢移行性がなくビダラビンに匹敵する心不全ならびに不整脈の治療効果を持つ化合物が確認された。

#### D. 結論

心臓型サブタイプの阻害剤であるビダラビンで心臓保護効果を示すと考えられた。そのような薬剤は既に抗ウイルス剤として市販されており、安全性も確認されているため、臨床応用が可能であるとも考えられる。

助成期間内（平成21年—23年）に我々は抗ヘルペス薬（ビダラビン）の心不全ならびに不整脈治療薬としての新規適応取得について基礎薬理学的データを蓄積した。

一般に新薬の開発に当たっては、動物実験などの前臨床試験よりも、ヒトにおける臨床試験にかかる費用と時間がはるかに大きい。このため臨床試験の対象疾患が長期投与を必要とすると、時間及び費用は莫大なものとなる。そこで廉価な臨床試験で済む疾患で当初は認可を得て、販売実績を積んだ後に大きな臨床試験への移行する戦略が考えられる。RAS阻害剤のように、当初の適応を高血圧治療薬で取得し、販売実績を積み重ねながら心不全への適応へと発展していった実例がある。

そこで我々は抗ヘルペス剤（ビダラビン）を抗不整脈薬として新規適応を取得し、販売実績を積み重ねながら心不全への適応を取得することにした。そこで平成23年5月12日に行われた横浜市立大学倫理委員会では、「ビダラビンによる不整脈治療」と題してヒト

臨床治験を申請して、厳しい審査をへて11月11日に承認された (B110512007)。現在術後心房細動に対するビダラビンの抗不整脈効果については心臓外科で、心室性不整脈を合併する帯状疱疹入院に対しては、ビダラビンによる帯状疱疹の治療を行うとともに、ホルター24時間心電図を用いて心室性不整脈に対する治療効果について臨床治験が進行中である。

大規模ヒト臨床試験を始めるにあたっては、中型動物などを対象とした前臨床試験を行い、治療効果を実証しておく必要があると考えられた。その目的のために、ペーシング誘発型心不全モデルは適切であると考えられ、

また新規化合物においてはビダラビンと同等のアデニル酸シクラーゼ活性を抑制効果を有してかつ中枢移行性のない化合物が同定された。このことは、心臓を標的にした新規化合物が我々の手で開発できる可能性を示唆する。また心不全に対する予防効果だけでなく、心房細動や心室性不整脈など、ベータ遮断剤が有効とされる疾患に対して、ビダラビンと同程度に新規心臓型アデニル酸シクラーゼ阻害剤の有効性が示された。このことは同薬剤が、ベータ遮断剤を取って変わる可能性を意味している。

アデニル酸シクラーゼは9つのサブタイプを持つため、それぞれのサブタイプが創薬の対象となり、既に世界各国で薬剤開発が行われ、英国では睡眠障害を対象として脳型サブタイプの阻害剤開発が進んでいる。心臓型サブタイプ抑制剤の開発は、高齢者に向けた副作用の少ない薬としてだけでなく、の長年の研究成果に裏付けされたコンピュータによる予測技術を含めて、次世代の創薬手法の代表例となることが考えられ、わが国に普及を目指していきたい。

#### F. 健康危険情報

特記すべきこと無し。

平成 21 年度

#### G. 研究発表

論文発表

英文

1. Ebina T, **Ishikawa Y**, Uchida K, Suzuki S, Imoto K, Okuda J, Tsukahara K, Hibi K, Kosuge M, Sumita S, Mochida Y, Ishikawa T, Uchino K, Umemura S, and Kimura K. A case of giant coronary aneurysm and literature review. *J. Cardiol.*53,293-300
2. Jiao Q, Bai Y, Akaike T, Takeshima H, **Ishikawa Y**, and Minamisawa S. Sarcalumenin is essential for maintaing cardiac function during endurance exercise training. *J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*297,H576-582,2009
3. Akaike T, Jin MH, Yokoyama U, Izumi-Nakaseko H, Jiao Q, Iwasaki S, Iwamoto M, Nishimaki S, Sato M, Yokota S, Kamiya Y, Adachi-Akahane S, **Ishikawa Y** and Minamisawa S. T-type Ca<sup>2+</sup> channels promote oxygenation-induced closure of the rat ductus arteriosus not only by vasoconstriction but also by neointima formation. *J. Biol. Chem.*284,24025-24034,2009
4. Hu CL, Chandra R, Ge H, Pain J, Yan L, Babu G, Depre C, Iwatsubo K, **Ishikawa Y**, Sadoshima J, Vatner SF, Vatner DE. Adenylyl cyclase Type 5 protein expression during cardiac development and stress. *Am J Physiol Heart CircPhysiol.*297,H1776-1782,2009
5. Baljinnyam E, Iwatsubo K, Kurotani R, Wang X, Ulucan C, Iwatsubo M, Lagunoff D and **Ishikawa Y**. Epac Increases Melanoma cell migration by Heparan Sulfate-Related Mechanism. *Am.J. hysiol. Cell Physiol.*297,C802-803,2009
6. Sato M, Honda T, Jiao Q, Kurotani R, Toyota E, Okumura S, Lanier SM, and **Ishikawa Y**. An involvement of activator of G protein signaling 8 on hypoxia-induced apoptosis of cardiomyocytes and its interaction with connexin 43. *J. Biol. Chem.*284,31431-31440,2009



## 学会発表

1. Minamisawa S, Akaike T, Yokoyama U, Ozawa M, Iwasaki S, **Ishikawa I**: Oxygenation Promotes Smooth Muscle Cell Migration in the Rat Ductus Arteriosus. BCVS Conference-Molecular Mechanisms of Cardiovascular Diseases. Nevada, 2009,6.
2. Sato M, Honda T, Jiao Q, Kurotani R, Toyota E, Lanier SM, **Ishikawa Y**: Requirement of Receptor-Independent G-Protein Activator, Activator of G-Protein Signaling 8 for Hypoxia-Induced Apoptosis of Cardiomyocytes. 36th International Congress of Physiological Sciences, Kyoto, 2009, 7.
3. Jiao Q, Sato M, Suzuki H, Kurotani R, **Ishikawa Y**: Alterations of cardiac connexin 43 under hypoxic stress: roles of Activator of G protein Signaling 8 and Gbetagamma. 36th International Congress of Physiological Sciences, Kyoto, 2009, 7.
4. Ozawa M, Akaike T, Katayama A, Yokoyama U, **Ishikawa Y**, Minamisawa S: Oxygen Promotes Calcium-dependent Smooth Muscle Cell Migration in the Rat Ductus Arteriosus. The 36<sup>th</sup> Congress of the International Union of Physiological Sciences, Kyoto, 2009, 7.
5. Katayama A, Yokoyama U, Tang T, Akaike T, Hammond HK, Minamisawa S, **Ishikawa Y**: Adenylyl Cyclase Type 2 and 6 Differentially Promote Vascular Tone and Remodeling in Ductus Arteriosus. The 36<sup>th</sup> Congress of the International Union of Physiological Sciences, Kyoto, 2009, 7.
6. Sato M, Jiao Q, Hiraoka M, Kurotani R, Toyota E, Lanier SM, **Ishikawa Y**: Roles of Ischemia-inducible G-protein Activator in Hypoxia-Induced Apoptosis of Cardiomyocytes and its Regulation of Connexin 43. American Heart Association's Scientific Sessions, Orlando, 2009, 11.
7. Okumura S, Jin M, Bai Y, Suzuki S, Xuan X, Cai W, Hidaka Y, Kurotani R, Yokoyama U, **Ishikawa Y**: Epa1 Protects Heart From Lipopolysaccharide-induced Cardiac Dysfunction By Inhibiting The Toll-like Receptor 4 Signaling Pathway. American Heart Association Scientific Sessions, Orlando, 2009, 11.

平成22年度

論文発表

英文

1. Otsu K, Toya Y, Oshikawa J, Kurotani R, Yazawa T, Sato M, Yokoyama U, Umemura S, Minamisawa S, Okumura S, and **Ishikawa Y**: Caveolin gene transfer improves glucose metabolisms in diabetic mice. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2010, **298**(3): C450-456.
2. Guellich A, Vatner DE, Gao S, Hong C, Yan L, Wagner TE, Dhar S, Ghaleh B, Hittinger L, Iwatsubo K, **Ishikawa Y**, and Vatner SF: Effect of cardiac overexpression of type 6 adenylyl cyclase affects on the response to chronic pressure overload. *Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol.* 2010, **299**(3): H707-712.
3. Yokoyama U, Minamisawa S, Katayama A, Tang T, Suzuki S, Iwatsubo K, Iwasaki S, Kurotani R, Okumura S, Sato M, Yokota S, Hammond HK, **Ishikawa Y**: Differential regulation of vascular tone and remodeling via stimulation of type 2 and type 6 adenylyl cyclases in the ductus arteriosus. *Circ Res*, 2010, **106**(12): 1882-1892.
4. Suzuki S, Yokoyama U, Abe T, Kiyonari H, Yamashita N, Kato Y, Kurotani R, Sato M, Okumura S, **Ishikawa Y**: Differential roles of Epac in regulating cell death in neuronal and myocardial cells. *J Biol Chem.* 2010, **285**(31): 24248-24259.
5. Yokoyama U, Minamisawa S, and **Ishikawa Y**: Regulation of vascular tone and remodeling of the ductus arteriosus. *J Smooth Muscle Res.*, 2010, **46**(2): 77-87.
6. Kheirbek MA, Beeler JA, Chi W, **Ishikawa Y**, and Zhuang X: A molecular dissociation between cued and contextual appetitive learning. *Lern. Mem.*, 2010, **17**: 148-154.
7. Sato M and **Ishikawa Y**: Accessory proteins for heterotrimeric G protein: Implication in the cardiovascular system. *Pathophysiology*, 2010, **17**: 89-99.
8. Sato M, Hiraoka M, Suzuki H, Bai Y, Kurotani R, Yokoyama U, Okumura S, Cismowski MJ, Lanier SM, and **Ishikawa Y**: Identification of transcription factor E3(TFE3) as a receptor-independent activator of G $\{\alpha\}$ 16:Gene regulation by nuclear G $\{\alpha\}$ subunit and its activator. *J. Biol. Chem.*, in press 2011
9. Jin MH, Yokoyama U, Sato Y, Shioda A, Jiao Q, **Ishikawa Y**, and Minamisawa S: DNA micro array profiling identified a new role of growth hormone in vascular remodeling of rat ductus arteriosus. *J. Physiol. Sci.*, in press 2011

和文

1. **石川義弘**: 心不全の治療標的としてのアデニル酸シクラーゼ. *医学の歩み*, 2010, **232**; 577-581.
2. **石川義弘**: 高齢者に向けた心不全治療薬の開発. *平成21年度厚生労働科学研究費研究成果等普及啓発事業 医療技術実用化総合研究 基礎研究成果の臨床応用推進研究 トランスレーショナル研究成果発表会要旨集*, 2010, 23-24.
3. **石川義弘**: 新規磁性体薬剤化合物の画像診断への応用. *平成21年度厚生労働科学研究費研究成果等普及啓発事業 医療機器開発推進研究ナノメデイシン研究成果発表会要旨集*, 2010, 33-34.
4. **石川義弘**: cAMP シグナルを標的にしたヒアルロン酸産生制御メカニズムの研究. *コスメトロジー研究振興財団 研究業績中間報告集*, 2010, **19**: 68-81.
5. **石川義弘**, 佐藤元彦, 奥村敏, 横山詩子, 岩坪耕策: cAMP シグナルとニコチン受容体. *平成21年度喫煙科学研究財団研究年報*, 2010, 109-114.

6. 黒谷玲子, 福村英信, 佐藤 格, 江口晴樹, 石川義弘: 磁性体を利用した薬剤送達法. *磁気と健康*, 2010, 23: 10-13.
7. 石川義弘: 高齢者に向けた心不全治療薬の開発. *平成22年度厚生労働科学研究成果等普及啓発事業 医療技術実用化総合研究: 基礎研究成果の臨床応用推進研究 トランスレーショナル研究成果発表会要旨集*, 2011, 123-124

学会発表

1. Minamisawa S, Akaike T, Yokoyama U, Iwasaki S, **Ishikawa Y**: Oxygenation promotes migration of smooth muscle cell in the rat ductus arteriosus. *Developmental Vascular Biology Workshop IV*, Monterey, California, 2010, 2.
2. Yokoyama U, Minamisawa S, Katayama A, Tang T, Iwasaki S, Hammond HK, **Ishikawa Y**: Differential regulation of vascular tone and remodeling via stimulation of type 2 and type 6 adenylyl cyclases in the ductus arteriosus. *Developmental Vascular Biology Workshop IV*, Monterey, California, 2010, 2.
3. Minamisawa S, Yokoyama U, Akaike T, Hammond K, **Ishikawa Y**: Counteracting regulation of vascular remodeling via stimulation of type 2 and type 6 adenylyl cyclases in the ductus arteriosus. *The 16<sup>th</sup> International Vascular Biology Meeting*, Los Angeles, 2010, 6.
4. Yokoyama U, Shioda A, Kato Y, Asou T, Aoki H, Nakamura T, Minamisawa S, **Ishikawa Y**: Prostaglandin EP4 signaling negatively regulates vascular elastic fiber assembly. *The 84<sup>th</sup>, American Heart Association*, Chicago, 2010, 11.
5. Sato M, Hiraoka M, Suzuki H, Bai Y, Okumura S, Cismowski MJ, Lanier SM, **Ishikawa Y**. Novel transcription regulation in the hypertrophied myocardium via nuclear G $\alpha$ 16 subunit and activator of G-protein signaling (AGS). *The 84<sup>th</sup> American Heart Association*, Chicago, 2010, 11.
6. Kato Y, Yokoyama U, Okumura S, Sata M, Minamisawa S, **Ishikawa Y**: Epacl1 plays a critical role in advancing vascular remodeling after mechanoinjury in vivo. *The 74<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society*, Kyoto, 2010, 3.
7. Sato M, Toyota E, Lanier SM, **Ishikawa Y**: Ischemia-inducible G-protein activator, activator of G-protein signaling 8 (AGS8), regulates hypoxia-induced apoptosis of cardiomyocytes via G $\beta$  $\gamma$  and connexin 43. *The 74<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society*, Kyoto, 2010, 3.
8. Okumura S, Bai Y, Tsunematsu T, Jin M, Jiao Q, Suzuki S, Kurotani R, Yokoyama U, Sato M, Iwatsubo K, **Ishikawa Y**: Pharmacological activation of type 5 adenylyl cyclase stabilizes heart rate under microgravity induced by parabolic flight. *The 74<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society*, Kyoto, 2010, 3.
9. Sato M, Hiraoka M, Jiao Q, Suzuki H, Kurotani R, Lanier SM, **Ishikawa Y**: Connexin 43 was regulated by Ischemia-inducible G-protein activator and G $\beta$  $\gamma$  under hypoxic stress. *The 83<sup>rd</sup> Annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society*, Osaka, 2010, 3.
10. Jin M, Yokoyama U, Akaike T, Qibin J, Yokota S, Minamisawa S, **Ishikawa Y**: The Role of basic fibroblast growth factor in vascular remodeling in rat ductus arteriosus. *The 113<sup>th</sup> Annual Meeting the Japan Pediatric Society*, Morioka, 2010, 4.
11. Jin M, Okumura S, Cai W, Hidaka Y, **Ishikawa Y**: Disruption of Epacl1 gene preserves cardiac function against pressure overload and chronic catecholamine stress. *The 87<sup>th</sup> Annual Meeting of the Physiological Society of Japan*, Morioka, 2010, 5.
12. Sato M, Hiraoka M, Jiao Q, Suzuki H, Kurotani R, **Ishikawa Y**: Regulation of connexin 43 by activator of G protein signaling 8 and Gbetagamma. *The 87<sup>th</sup> Annual Meeting of the Physiological Society of Japan*, Morioka, 2010, 5.

13. 福村英信, 高橋 晃, 黒谷玲子, 石川義弘, 齋藤知行: 磁性体粒子を用いた新しい温熱化学療法の開発. 第 43 回日本骨軟部腫瘍学会, 東京, 2010, 7.
14. Kurotani R, Fukumura H , Sato I, Kamide T, Kawamata F, Kezuka K, Eguchi H, **Ishikawa Y**: Controlled drug delivery system using a novel magnetic material. 第 33 回日本分子生物学会, 第 83 回日本生化学会合同大会, 神戸, 2010, 9.
15. Fukumura H, Kurotani R, Sato I, Eguchi H, Saito T, **Ishikawa Y**: Development of simultaneous hyperthermo-chemotherapy using a drug with novel magnetic properties. 第 33 回日本分子生物学会年会 第 83 回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010, 9.
16. 青木理加, 横山詩子, 岩崎志穂, 西巻滋, 横田俊平, 石川義弘: ラット動脈管閉鎖における低浸透圧センサーTransient Receptor Potential Melastatin 3 (TRPM3) チャネルの役割. 第 55 回未熟児新生児学会学術集会, 神戸, 2010, 11.
17. Shioda A, Yokoyama U, Kato Y, Asou T, Aoki H, Nakamura T, Minamisawa S, **Ishikawa Y**: Prostaglandin EP4 signaling negatively regulates vascular elastic fiber assembly. The 33<sup>th</sup> Annual Meeting of the Molecular Biological Society of Japan , Kobe, 2010, 12.

平成23年度  
論文発表

英文

1. Yokoyama U, Ishiwata R, Jin M-H, Kato Y, Suzuki O, Jin H, Ichikawa Y, Kumagaya S, Katayama Y, Fujita T, Okumura S, Sato M, Sugimoto Y, Aoki H, Suzuki S, Masuda M, Minamisawa S, and Ishikawa Y: Inhibition of EP4 signaling attenuates aortic aneurysm formation. *Plos One*. 7(5):e36724, 2012.
2. Umemura M, Ho D, Nozawa N, Nalginnyam E, Iwatsubo K, Saito T, Endo T, Ishikawa Y, Umemura S, and Kimura K: Acute pulmonary embolism induced by renal obstruction with benign prostatic hyperplasia . Case Report *in press* 2012
3. Jiao Q, Takeshima H, Ishikawa Y, and Minamisawa S. Sarcalumenin plays a critical role in age-related cardiac dysfunction due to decreases in SERCA2a expression and activity. *Cell Calcium* . 51(1):31-39, 2012.
4. Iwatsubo K, Bravo C, Uechi M, Baljinnyam E, Nakamura T, Umemura M, Lai L, Gao S, Yan L, Park M, Qiu H, Okumura S, Iwatwsubo M, Vatner DE, Vatner SF, and Ishikawa Y: Prevention of heart failure in mice by an antiviral agent that inhibits type 5 cardiac adenylyl cyclase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. *in press* 2012
5. Fukumura H, Sato M, Kezuka K, Sato I, Feng X, Okumura S, Fujita T, Yokoyama U, Eguchi H, Ishikawa Y, and Saito T: Effect of ascorbic acid on reactive oxygen species production in chemotherapy and hyperthermia in prostate cancer cells. *J. Physiol. Sci.*62(3): 251-257, 2012.
6. Kobayashi Y, Hirawa N, Tabara Y, Muraoka H, Fujita M, Miyazaki N, Fujiwara A, Ichikawa Y, Yamamoto Y, Ichihara N, Saka S, Wakui H, Yoshida S, Yatsu K, Toya Y, Yasuda G, Kohara K, Kita Y, Takei K, Goshima Y, Ishikawa Y, Ueshima H, Miki T, and Umemura S. Mice Lacking Hypertension Candidate Gene ATP2B1 in Vascular Smooth Muscle Cells showSignificant Blood Pressure Elevation. *Hypertension* 59(4):854-860,2012.
7. Umemura M, Ho D, Nozawa N, Balginnyam E, Iwatsubo K, Saito T, Endo T, Ishikawa Y, Umeura S, and Kimura K. Acute pulmonary embolism induced by renal obstruction with benign prostatic hyperplasia ; Case Report *Journal of Cardiology Cases*, 5: e39-343, 2012
8. Matsusaki M, Kadowaki K, Adachi E, Sakura T, Yokoyama U, Ishikawa Y, and Akashi M: Morphological and Histological Evaluations of 3D-Layered Blood Vessel Constructs Prepared by Hierarchical Cell Manipulation. *J. Biomaterials Sci.* 23; 63-79, 2012.

## 和文

1. 石川義弘 高齢者に向けた心不全治療薬の開発 平成22年度厚生労働科学研究費研究成果等普及啓発事業 医療技術実用化総合研究：基礎研究成果の臨床応用推進研究 トランスレーショナル研究成果発表会要旨集 123-124、2011
2. 石川義弘、佐藤元彦、奥村敏、横山詩子、岩坪耕策 cAMP シグナルとニコチン受容体 平成22年度喫煙科学研究財団研究年報 166-171, 2011

## 著書

1. 総監訳 泉井亮 監訳 河南洋、久保学 訳 青木史暁、赤池紀生、石川義弘、石山延吉、上田陽一、上野伸哉、大野忠雄、河原克雅、河南洋、北村竜一、久保川学、桑木共之、小島至、佐々木和彦、高瀬堅吉、槌田成紀、照井直人、中村晃、花森隆充、福田康一郎、藤原広明、船橋利也、山崎将生、山田聡子、山本頼綱、泉井亮。14-24章 ボロン・ブルーペーパー 生理学 2005、西村書店、2011

## 学会発表

1. Okumura S, Jin M, Kawamata F, Jin H-L, Cai W, Bai Y, Suita K, Hidaka Y, Tsunematsu T, Ishikawa Y: Epac Activation protects heart from interleukin-6-induced cardiac dysfunction by inhibiting STAT/iNOS signaling. The 85<sup>th</sup> American Heart Association, Orlando. 2011, 11.
2. Motohiko Sato, Masahiro Hiraoka, Yukiko Yamane, Xianfeng Feng, Yoshihiro Ishikawa: Cardiac protection from hypoxic injury by a novel synthetic peptide targeting the activator of G-protein signaling 8-mediated G $\beta$  signal. The 85<sup>th</sup> American Heart Association, Orlando. 2011, 11.
3. Kato Y, Yokoyama U, Okumura S, Minamisawa S, Sata M, Miyajima E, Ishikawa Y: Epac1 Deficiency Inhibit Neointima Formation after Vascular Injury *in vivo*. The 85<sup>th</sup> American Heart Association, Orlando. 2011, 11.
4. Ishiwata R, Yokoyama U, Kadowaki K, Matsusaki M, Akashi M, Ishikawa Y, Minamisawa S: Three dimensional cellular multi-layer technology utilized evaluation of elastic fiber formation and phenotype of rat vascular smooth muscle cells. The 7<sup>th</sup> Japan-China-Korea Pediatric Heat Forum, Fukuoka, 2011.7.
5. 市川泰広, 青木理加, 横山詩子, 岩本眞理, 南沢享, 石川義弘: 出生後の血清浸透圧低下は動脈管収縮を促進させる。第47回日本小児循環器学会総会・学術集会, 福岡, 2011, 7.
6. Okumura S, Cai W, Jin M, Bai Y, Tsunematsu T, Hidaka Y, Kurotani R, Ishikawa Y: Disruption of Epac1 Protects Heart from Catecholamine-mediated Cardiac Fibrosis. 第75回日本循環器学会学術集会, 横浜, 2011,8.
7. 加藤 優子, 横山 詩子, 奥村 敏, 南沢 享, 佐田 政隆, 宮島 栄治, 石川 義弘: Epac1は血管障害時の内膜肥厚形成を促進する。第53回日本平滑筋学会, 東京, 2011, 8.
8. okoyama U, Kato Y, Suzuki S, Masuda M, Asou T, Aoki H, Sugimoto Y, Nakamura T, Minamisawa S, Ishikawa Y: Prostaglandin EP4 Signaling Negatively Regulates Vascular Elastic Fiber Assembly. The 2<sup>nd</sup> Molecular Cardiovascular Conference II, 北海道, 2011, 9.
9. 市川泰広, 横山詩子, 石川義弘: PDE3阻害薬の動脈管拡張薬としての検討。厚生労働省科学研究費成果発表会, 横浜, 2011, 9.
10. 金美花, 横山詩子, 石渡遼, 南沢享, 石川義弘: 酸素による動脈管リモデリング。第10回心臓血管発生研究会, 郡山, 2011, 10.
11. 青木理加, 横山詩子, 市川泰広, 南沢享, 石川義弘: 動脈管閉鎖における低浸透圧センサー-Transient Receptor Potential Melastatin 3 (TRPM3)チャネルの役割。心血管イオンチャネル・トランスポーター研究の新展開 --基礎研究と臨床研究の融合。生理学研究所研究会, 岡崎, 2011, 11.
12. 青木理加, 横山詩子, 岩崎志穂, 関 和男, 西巻滋, 横田俊平, 石川義弘: 動脈管収縮における出生後の血清浸透圧低下の役割。第56回日本未熟児新生児学会学術集会, 東京, 2011, 11.
13. 奥村 敏, 川又史佳, 金慧玲, 蔡 文倩,

金美花, 日高祐子, 吹田憲治,  
岩坪耕策, 石川義弘: 心臓型アデニル酸  
シクラーゼ選択的抑制薬を用いた新しい  
心不全治療.

第6回高血圧と冠動脈疾患研究会,  
東京, 2011, 12. (奨励賞受賞)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

- ・アデニル酸シクラーゼの活性調節剤

特願 2010-240301

- ・ビダラビンによる心房細動治療

特願 2011-222421

- ・アデニル酸シクラーゼの活性調節剤

PCT/JP2011/74098

国際公開番号 W02012/056976

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし



[ II ]

# 分担研究報告

## 奥村敏（研究分担者）

### A. 研究目的

一般にベータアドレナリン受容体は3つのサブタイプしかないが、アデニル酸シクラーゼには9つのサブタイプが知られており、心臓型とよばれるサブタイプ(5型)は心臓に特異的に発現する。心臓には5型と6型が、心臓型グループを形成して、他臓器に比較して優位に発現することが知られている。とりわけ6型は胎児心臓に優位に発現し、5型は成人心臓に優位に発現することが知られている。従って5型である成人型の心臓型アデニル酸シクラーゼを選択的に阻害することが出来れば、呼吸器抑制を起こさずにベータ遮断剤と同等の心不全治療ができるはずである。

平成21年度は心臓型アデニル酸シクラーゼ阻害作用を有する抗ヘルペス薬（ビダラビン）ならびに中枢移行性がなく脂溶性を減弱させた薬剤（V2E）の心不全治療薬としての有用性について平成21-22年度は検討した。平成23年度は同薬剤の不整脈治療としての有用性について検討を行い、十分な基礎薬理学的データの蓄積を行い、平成23年11月11日は横浜市立大学付属病院での倫理委員会でヒト対象にした同薬剤の臨床試験が承認され現在心臓外科ならびに皮膚科で、ビダラビンの抗不整脈作用としてのヒトを対象にした臨床試験が実

施されている。本研究は学際的プロジェクトであり、心臓型サブタイプの選択的な抑制剤を、高齢者にも安心して使える心不全ならびに不整脈治療薬として開発することを目的し、小動物（マウス）を用いたin vivoならびにin vitroの薬理学的実験を中心に施行した。

### B. 研究方法ならびに結果

ビダラビンのイソプロテレノール刺激状態での心機能抑制効果は、野生種では認められないが、心臓型サブタイプ過大発現マウスでは高度であり、またPDE阻害剤に対する反応性は不変であったことから、同阻害剤の生体での作用点は、心臓型アデニル酸シクラーゼ酵素であることが確認された。

#### 1) ビダラビンならびに新規化合物の心不全抑制効果についての検討（平成21年度）

イソプロテレノールによる慢性カテコラミン負荷によって、コントロール群では心筋肥大とともに心機能の顕著な低下がみられたが、ビダラビンならびに横浜国立大学井上誠一らが合成した新規心臓型アデニル酸シクラーゼ阻害剤（2位保護体）は、慢性カテコラミン刺激による心機能低下を有意に抑制した（図1）。

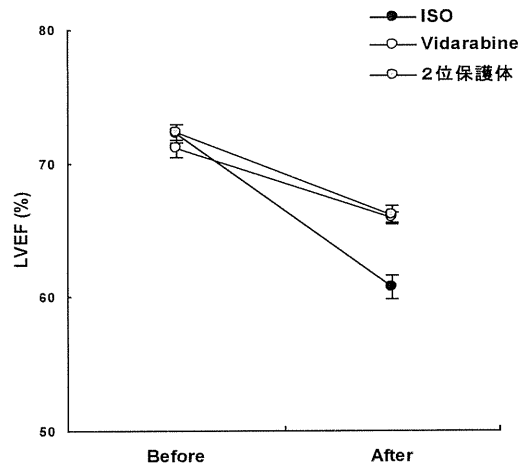


図1 : 慢性カテコラミン刺激 (15mg/kg/day 7days) 後の心機能 Vid: ビダラビン、2位保護体:

新規化合物

同様に心筋の繊維化を比較したところ、同阻害剤投与群において顕著な心筋細胞死の減少 (図2) と、心筋繊維化の抑制が見られた。

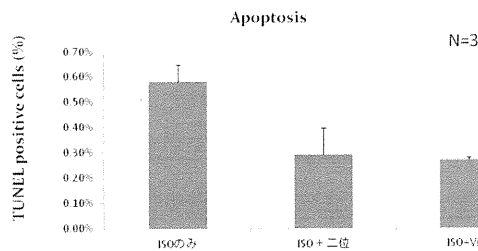


図2 : 慢性カテコラミン刺激 (15mg/kg/day 7days) 後のTUNEL陽性心筋細胞の割合 Vid: ビダラ

ビン、2位保護体: 新規化合物

2) ビダラビンならびに新規ビダラビン化合物のカテコラミン刺激による心筋細胞アポトーシスに対する保護効果

ビダラビンならびに横浜国立大学の井上誠 一らが合成した新規化合物について、心不

全発症に最も重要なカテコラミン刺激下での心筋細胞のアポトーシス発症に対する抑制作用についてラット胎児心筋細胞を用いて検討した（図3）。

イソプロテレノールを用いて $10^{-5}M$ で48時間刺激を行うとイソプロテレノール単独と比較して、ビダラビンあるいは新規化合物

存在下ではアポトーシス陽性心筋細胞の割合がほぼ同程度に有意に低下した。以上の結果は中枢移行性のない新規化合物はビダラビンとほぼ同程度に心不全発症を抑制することが示唆された。

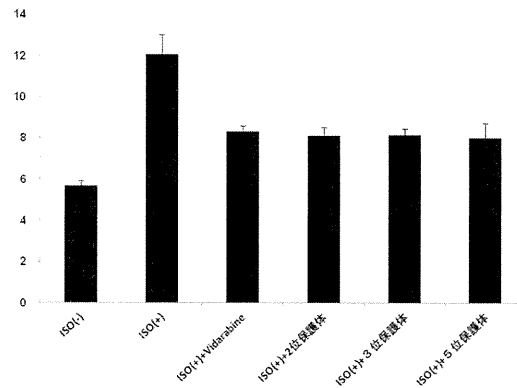


図3：ラット胎児心筋細胞をイソプロテレノール刺激後(10<sup>-5</sup>M:48hr)のアポトーシス陽性心筋細胞の割合

### 3) ビダラビンならびに新規化合物の抗不整脈作用

心房細動 (AF) および心室性期外収縮 (VPC) 発症におけるビダラビンの役割を検討したところ予備実験で有望な結果が得られた。

すなわち、マウスの食道からの心房ペー

シングによるAF誘発モデルにおいて、野生型マウスでは30-60秒のAFが惹起されるのに対し、ビダラビンをあらかじめ投与していたマウス (15mg/kg/day 7日間) マウスではAFの持続時間が有意に減少していた (図