

氏 名 (生年月日)	なせらとうん ねっさ Naseratun Nessa (1987 年 12 月 21 日)
学 位 の 種 類	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	博 薬 第 197 号
学位授与の日付	2020 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	Comparison of the effect of cilnidipine and amlodipine on post-infract cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats (高血圧モデルラットにおける心筋梗塞後リモデリングに対するシルニジピンとアムロジピンの効果の比較)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 中 田 徹 男 (副査) 教 授 田 中 智 之 (副査) 教 授 秋 葉 聡

## 論文内容の要旨

### Introduction

Hypertension is a major risk factor for cardiovascular diseases, such as myocardial infarction (MI) and stroke, and the number of patients with hypertension is increasing in aging societies. Calcium channel blockers (CCBs) are commonly used in the treatment of hypertension. The voltage-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  channels are divided into the L, N, T, P/Q and R types based on their electrophysiological characteristics. Among anti-hypertensive drugs of CCBs, amlodipine blocks the L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels, and cilnidipine blocks L- and N-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels therefore, cilnidipine suppresses the ischemia/reperfusion-induced cardiac arrhythmia and protects against renal diseases due to inhibition of vascular sympathetic neurotransmitters.

The mortality following MI is highly associated with progressive post-infarct cardiac remodeling and dysfunction. After MI, angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors are generally used to control the blood pressure because these drugs suppress post-infarct cardiac remodeling and improve the survival rate. On the other hand, nifedipine, a short acting CCB, increases the mortality rate of patients with acute MI. Recently, long acting CCB amlodipine was reported to improve the prognosis of post-infarct cardiac remodeling in normotensive animals. However, the effects of long acting CCBs on post-infract cardiac remodeling in hypertensive animals are still unclear. To clarify these effects, we investigated whether hypertension management with cilnidipine and amlodipine attenuates cardiac remodeling after MI in spontaneously hypertensive rats (SHRs).

### Chapter 1: Effects of CCBs on post-infarct cardiac function.

To assess the effects of CCBs on post-infarct cardiac remodeling in SHRs, we administered 10 mg/kg/day of cilnidipine and amlodipine, orally by gavage 1 week before surgery and continued for 5 weeks. MI was introduced by 30 minutes of coronary artery occlusion followed by reperfusion, and MI rats were sacrificed 4

weeks after surgery. After MI surgery, both CCBs reduced systolic blood pressure to a similar extent. At the end of the experimental period, the ratios of heart weight to body weight and left ventricular (LV) weight to body weight significantly decreased in the cilnidipine-treated group but not in the amlodipine-treated group. In addition, rats in the cilnidipine-treated group had a slightly lower heart rate.

We assessed cardiac function by measuring LV fractional shortening (LVFS) and  $+dP/dt_{\max}$  as LV systolic functions and tau as LV diastolic functions in all groups. Severity of the heart failure was assessed by LV end diastolic pressure (LVEDP). Cilnidipine but not amlodipine significantly attenuated the LVFS reduction, the LVEDP increase, and tau prolongation after MI. Thus, treatment of hypertension after MI using cilnidipine improves post-infarct LV function in hypertensive animals.

## **Chapter 2: Effects of CCBs on post-infarct morphological remodeling and gene expression.**

Morphological examinations after MI were carried out using hematoxylin-eosin (HE), Sirius red, and Masson's trichrome staining. The myocardial infarct size, which is one of the important factors affecting post-infarct cardiac function, was similar with or without CCB treatment. Myocyte hypertrophy and interstitial fibrosis in the non-infarct region are major histological changes in post-infarct cardiac remodeling. After MI, both CCBs exhibited comparable suppression of myocyte hypertrophy. Interstitial fibrosis was also inhibited by both CCBs, but cilnidipine reduced interstitial fibrosis more than amlodipine. The mRNA expression of brain natriuretic peptide (BNP), an indicator of myocyte hypertrophy, was increased in the untreated MI group, and was reduced by both CCBs to a similar extent. Increases in collagen III mRNA expression, a major component of cardiac fibrosis after MI was also suppressed by cilnidipine but not amlodipine.

## **Chapter 3: Mechanism of differences between amlodipine and cilnidipine.**

The mRNA expression and activity of ACE, a key regulator of the renin–angiotensin system and potent activator of TGF  $\beta$ , in the non-infarct region increased in the untreated MI group. Cilnidipine but not amlodipine significantly suppressed the ACE increase. Consistent with post-infarct cardiac failure, the cardiac interstitial noradrenaline concentration, measured by micro-dialysis method, in the non-infarct region significantly increased in the untreated MI group. Cilnidipine also suppressed the increases in cardiac interstitial noradrenaline concentrations after MI by inhibiting N-type  $Ca^{2+}$  channels in sympathetic neuro-terminals, which may inhibit the renin angiotensin system.

## **Conclusion:**

This study suggested that the long-acting CCBs, cilnidipine and amlodipine, attenuated LV remodeling after MI in SHR. Cilnidipine reduced cardiac noradrenaline concentrations and inhibited the tissue renin–angiotensin system, which attenuated post-infarct remodeling more than amlodipine in hypertensive rats.

## 審査の結果の要旨

### 《緒言》

高齢化に伴い高血圧患者数は増加の一途をたどっている。高血圧は心筋梗塞の危険因子であり、L型チャネル遮断薬を用いたCa拮抗薬(CCBs)による降圧治療が広く行われている。一方、N型チャネル遮断作用を併せ持つシルニジピンは、交感神経終末からのノルアドレナリン(NA)離抑制作用を示し、高血圧性腎障害を抑制することが報告されている。心筋梗塞後の降圧治療には、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬及び $\beta$ 遮断薬が予後を改善することから一般に用いられているが、長時間作用型CCBsの高血圧動物心筋梗塞後リモデリング抑制効果は明らかにされていない。そこで今回はL型チャネル遮断薬アムロジピンと、N型チャネル遮断作用を併せ持つシルニジピンを自然発症高血圧モデルラット(SHR)に心筋梗塞作製前後で継続投与し、心筋梗塞後リモデリングに対する効果を検討した。

### 《審査結果の要旨》

#### 【第一章：長時間作用型CCBsの心筋梗塞後心機能に対する検討】

SHRを4群に分け、偽手術群、心筋梗塞(MI)群、MI+シルニジピン投与群、MI+アムロジピン投与群を作製した。薬剤投与開始1週後に左冠動脈を30分結紮後再灌流して心筋梗塞を作製し、その後4週間観察した。血圧は両薬剤投与群で同程度の低下を認めた。心臓超音波検査や心室内圧測定において、MI群では心室リモデリングの特徴とされる顕著な左心室の拡大及び収縮能、拡張能の低下を認めた。シルニジピン投与はこれらの変化を軽減したが、アムロジピン投与による改善は認めなかった。これらの結果より、同等の降圧効果を示す両薬剤投与下で、シルニジピンのみが心筋梗塞後の心機能低下を軽減することが明らかとなった。

#### 【第二章：CCBsの心筋梗塞後の組織学的リモデリング及び関連遺伝子発現に関する検討】

心筋梗塞後の組織学的検討において、MI群では特徴とされる非梗塞部の「心筋細胞肥大」と「間質線維化」を認めた。この心筋細胞肥大は、両薬剤投与により同程度に改善されたが、間質の線維化抑制作用はシルニジピン投与群で勝っていた。同部位におけるB型ナトリウム利尿ペプチド(BNP)、3型コラーゲンのmRNA発現は、心筋細胞肥大の指標とされるBNPが両薬剤で同程度に、線維化の構成因子とされる3型コラーゲンはシルニジピン投与群で有意に抑制されており、組織学的検討と合致した結果であった。以上より、両薬剤は降圧度に合わせ非梗塞部の心筋細胞肥大を同程度に緩和したが、間質の線維化はシルニジピンによる効果が勝ることが示された。

#### 【第三章：CCBsの心筋梗塞後リモデリングに対する効果の機序の検討】

前二章で示した、心筋梗塞後リモデリングに対するシルニジピンの優位性の機序を検討した。MI群において認めた非梗塞部における間質NA濃度と、NAにより刺激されるレニン・アンジオテンシン(RA)系の主酵素であるACEの上昇をシルニジピンは有意に抑制したが、アムロジピンにこの効果は認められなかった。さらに、アンジオテンシンIIによる線維化促進作用に関わるTGF- $\beta$ をシルニジピンのみ有意に軽減した。

### 《審査の結論》

高血圧動物において心筋梗塞発症前から継続的にCCBsを用いた治療を行うことは、心筋梗塞後リモデリングを軽減し、その作用はアムロジピンと比べ、シルニジピンでより優れていることが明らかと

なった。また、その機序にはN型Caチャネル遮断を介したNA遊離の抑制及び組織RA系の賦活化軽減が関与していることが示された。

本論文は、心筋梗塞後心不全患者が増加することが危惧されている我が国において、N型Caチャネル遮断効果をもつCCBsを降圧療法に用いることの有用性を初めて明らかにしたものである。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士（薬学）の学位論文としての価値を有するものと判断する。