

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）
分担研究報告書

動物モデルを用いた筋壊死と尿中代謝物の関連の実証
（心筋症モデルでの心筋壊死と薬物投与効果および尿中代謝物の関係）

分担研究者：岩田裕子 国立循環器病研究センター研究所分子生理部 室長

【研究要旨】

拡張型心筋症は、その発症機序が不明であり予後も不良であることから、新たな治療法の確立が求められている。分担研究者は、Duchenne 型筋ジストロフィーにおいて骨格筋における病態進行とプロスタグランジンD₂ 産生が相関するとの知見に基づき、心筋組織においても同様に、筋壊死に伴う病態進行とPGD₂ 産生の亢進が関連している可能性を検証した。また、拡張型心筋症モデルハムスターにHPGDS 阻害薬を投与することにより、拡張型心筋症病態の進行が抑制される可能性が示された。

A. 研究目的

拡張型心筋症は、その発症機序が不明であり予後も不良であることから、新たな治療法の確立が求められている。これまでに、Duchenne型筋ジストロフィーの病態進行と造血器型PGD合成酵素（HPGDS）によるプロスタグランジン（PG）D₂産生が相関することが強く示唆されている。そこで研究分担者は、心筋組織においても同様に、筋壊死に伴う病態進行とPGD₂産生の亢進が関連している可能性を検証するため、拡張型心筋症のモデル動物（ハムスター、マウス）を用いた解析を行った。

B. 研究方法

δ- sarcoglycan を欠損した拡張型心筋症モデルハムスターを用いた。対照として、同週齢の野生型動物を用いた。10週齢の心筋症ハムスターにHPGDS阻害薬(30mg/kg/day)または溶媒(PBS)を3週間、皮下投与し、組織の繊維化と心機能を指標に、薬効を評価した。繊維化はマッソントリクローム染色により確認した。心機能は、小動物用超音波高解像度イメージングシステム(VISUALSONICS)を用いて、麻酔下で非侵襲的に評価した。

PGD₂ 産生量の変動を評価するため、

代謝ケージを用いて暗期（12時間）に採尿し、PGD₂の尿中安定代謝物 11,15-Dioxo-9-hydroxy-2, 3, 4, 5-tetranorprostan-1, 20-dioic acid (tetranor-PGDM)を液体クロマトグラフィ・タンデムマススペクトロメトリを用いて測定した（LC: 資生堂、MS/MS: AB Sciex）。

（倫理面への配慮）

実験動物を用いる研究については、国立循環器病研究センター動物実験指針に準拠して実施した。本研究計画は動物実験委員会の承認を得ている。また、麻酔使用等により動物愛護上の倫理的配慮を行い、適切な環境のもとで飼育管理を行った。

C. 研究結果

拡張型心筋症モデルハムスターでは、野生型動物に比べ、心臓組織でのHPGDS蛋白質の発現量が2 - 5倍程度増加していた。また、両者から単離した心筋細胞の比較においてもHPGDSの発現増加が示された。心臓及び心筋細胞を用いた免疫染色の結果から、HPGDSの介在板近傍への強い集積が認められた。これらの知見は、心筋症病態の進行に伴い、同週齢の野生型動物に比べ、尿中tetranor-PGDM量が高値を示すことと一致する。

拡張型心筋症モデルハムスターへのHPGDS阻害薬の投与（30mg/kg/day）により、尿中tetranor-PGDMが減少することを確認した。心臓組織の繊維化を定量したところ、溶媒投与群に比べて、HPGDS阻害薬の投与群では、繊維化の進行に抑制傾向が観察された。小動物用超音波高解像度イメージングシステムにより、心機能を評価したところ、溶媒投与群に比べ、HPGDS阻害薬の投与群では、左室内径短縮率(%FS)の低下に抑制傾向が見られた。

D. 考察

拡張型心筋症モデルハムスターにおいて、尿中tetranor-PGDM量が高値を示す症例が認められた。そこで、HPGDS阻害薬投与による薬効評価を行ったところ、心臓組織の繊維化進行、および心機能の低下を軽減させる傾向が示された。したがって、HPGDSにより産生されたPGD₂がハムスターの拡張型心筋症病態の進行に重要な役割を持つ可能性が示された。

拡張型心筋症のモデルマウスでも、尿中tetranor-PGDM量が高値を示すことから、今後これらの動物モデルを用いて、心筋組織におけるPGD₂産生と病態進行の関連性を明らかにする必要がある。

拡張型心筋症は、その発症機序が不

明であり予後も不良であることから、新たな治療法の確立が求められている。HPGDS 阻害薬の投与実験を行うことで、新規治療法開発の可能性を検証できる。また、治療対象の決定や薬剤効果を評価できるマーカーが必要であるが、尿中の安定代謝物である tetranor-PGDMがその候補として期待される。

E. 結論

HPGDS 阻害薬が拡張型心筋症の病態進行を抑制できる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Maekawa K, Hirayama A, Iwata Y, Tajima Y, Nishimaki-Mogami T, Sugawara S, Ueno N, Abe H, Ishikawa M, Murayama M, Matsuzawa Y, Nakanishi H, Ikeda K, Arita M, Taguchi R, Minamino N, Wakabayashi S, Soga T, Saito Y. Global metabolic analysis of heart tissue in a hamster model for dilated cardiomyopathy. **J. Mol. Cell Cardiol.**, 59: 76-85,2013
- 2) Iwata Y, Ohtake H, Suzuki O, Matsuda J, Komamura K, Wakabayashi S. Blockade of sarcolemmal TRPV2 accumulation inhibits progression

of dilated cardiomyopathy.

Cardiovas. Res., 99: 760-768, 2013

2. 学会発表

- 1) 第 86 回日本生化学会大会
(2013 年 9 月 11-13 日、横浜)
鎌内慎也、岩田裕子、若林繁夫
「Prostaglandin D₂ metabolites are elevated in the urine of animal models of dilated cardiomyopathy」

G. 知的財産権の出願・登録条件

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし