

動物モデルを用いた筋壊死と尿中代謝物の相関の実証
(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。これまでに、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造血器型プロスタグランジン(PG)D合成酵素(H-PGDS)によるPGD₂産生が相関することが強く示唆されている。そこで、拡張型心筋症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、心筋症及び心筋変性のモデル動物(ハムスター、マウス)を用いた解析を行ってきた。心筋症等心筋変性モデル動物にH-PGDS阻害薬を投与することにより、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(H-PGDS)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、心筋症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

ムスターおよび糖鎖異常による拡張型心筋症マウスを用いた。対照として、同週齢の野生型動物を用いた。心筋変性マウスモデルはmdxマウスに甲状腺ホルモンのTriiodothyronin(T₃)を2mg/kg/day 3週間投与して作成した。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ー・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)。心筋組織におけるH-PGDSの含量はH-PGDS抗体を用いたイムノプロットにより、局在は組織切片を心筋(cTnI等)、肥満細胞(トリプターゼ等)、マクロファージ(CD11b等)特異的蛋白等の各々抗体とH-PGDS抗体との二重染色により同定及び解析を行なった。(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

心筋症ハムスター及び糖鎖異常心筋症マウス、T3 投与心筋変性マウスでは、野生型動物、T3 非投与マウスに比べ、心臓組織での H-PGDS 蛋白質の発現量の増加が観察された。心筋組織を用いた免疫染色の結果から、H-PGDS は病態心筋組織において心筋細胞というよりは壊れた細胞や炎症細胞の浸潤部位に局在すること、H-PGDS の集積箇所と肥満細胞のマーカ―が一致したことより H-PGDS は肥満細胞に多く存在していることが判明した。これらの知見は、心筋症病態の進行に伴い、尿中 tetranor-PGDM 量が高値を示すことと一致していた。また心筋症及び心筋変性モデル動物において H-PGDS 阻害薬を投与すると、心筋組織の H-PGDS 蛋白質含量の減少と尿中 tetranor-PGDM の減少に伴い、心機能の改善と心筋組織の繊維化の減少が観察された。

D. 考察

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。今回明らかになった心筋症・変性心筋の病態進行に伴う H-PGDS 増加、特に心筋間質に存在する肥満細胞への集積、H-PGDS 阻害薬の心筋病態改善効果などの結果より、H-PGDS を標的にした新規治療法開発の可能性が示唆された。また、治療対象の決定や薬剤効果を評価できるマーカ―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

H-PGDS 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

なし

2. 学会発表

- 1) 第 87 回日本薬理学会年会 (2014 年 3 月 20 日、仙台国際センター) 鎌内慎也、岩田裕子、Cheng-Kun Du、Dong-Yun Zhan、森本幸生、白井幹康、若林繁夫: TRPV2 N 末ドメインの高発現は、トロポニン T 変異を持つ拡張型心筋症モデルマウスの症状を改善する
- 2) 第 87 回日本薬理学会年会 (2014 年 3 月 21 日、仙台国際センター) 岩田裕子、大武仁美、鎌内慎也、若林繁夫: Ca²⁺透過チャネル TRPV2 の細胞膜局在の阻害により拡張型心筋症モデル動物の病態進行が抑制された。
- 3) 第 62 回日本心臓病学会学術集会 (2014 年 9 月 26 日仙台市民会館) 駒村和雄、岩田

裕子：拡張型心筋症の新規治療薬の開発：伸展感受性 Ca 透過型陽イオンチャネル TRPV2 の阻害薬の可能性

- 5) 症の進行が抑制される。
- 6) AHA Scientific Sessions 2014 (2014年11月16日 McCormick Place Chicago /USA) Iwata, Y., Komamura, K.: Tranilast, Transient Receptor Potential Vanilloid 2 Antagonist, Ameliorates End-Stage Heart Failure of Mice With Dilated Cardiomyopathy.

- 4) 第86回日本生化学会大会(2014年10月18日 国立京都国際会館) 岩田裕子、大武仁美：TRPV2 阻害剤によりマウス重症心筋

G. 知的財産権の出願・登録条件

1. 特許取得

- 1) 特許第5644026号 (登録日 平成26年11月14日)

TRPV2 の部分ペプチド 岩田 裕子 若林 繁夫

- 2) 特許第5667223号 (登録日 平成26年12月19日)

TRPV2 阻害剤、疾患の予防又は治療剤、薬剤探索用リード化合物、及び薬剤探索方法
岩田 裕子 若林 繁夫