

PDK4阻害薬のマウスモデルによる心不全治療効果の検証

○日野光貴^{1, 5)}、相澤健一¹⁾、廣瀬友靖²⁾、大村智³⁾、砂塚敏明²⁾、藤生克仁⁴⁾、山下親正⁵⁾、永井良三⁶⁾、藤村昭夫¹⁾

1) 自治医科大学医学部臨床薬理学部門、2) 北里大学北里生命科学研究生物有機化学研究室、3) 北里大学、4) 東京大学大学院医学系研究科健康空間情報学講座、5) 東京理科大学大学院DDS・製剤設計学研究室、6) 自治医科大学

【背景・目的】心不全とは、心臓の血液拍出が不十分で、全身が必要とするだけの循環量を保てない病態である。薬物療法としてはACE阻害薬、アンジオテンシンII受容体拮抗薬 (ARB) 等が挙げられ、非薬物療法としては心臓再同期療法 (CRT) が挙げられるが、急性心不全は依然として死亡率の高い疾患である。ピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼ4 (PDK4) とはTCAサイクル (クエン酸回路) を抑制し、細胞内代謝を糖質から脂質に転換させる酵素で、心不全時に活性が亢進するという報告がされている。しかし代表的なPDK4阻害薬 (PDK4i) であるジクロロ酢酸 (DCA) は活性が低く、有害事象があるため治療薬としての使用が不可能であるため、これらを改善した新規PDK4iの開発が必要である。本研究では新規PDK4iの候補6種類に対しマウスを用いたスクリーニングを行い、薬効の高い新規PDK4iの選定を目的とする。

【方法】雄性8週齢C57BL/6Jマウスを用いて心機能の指標となる左室駆出率 (EF) を測定し、その後手術により心不全モデルマウスを作成した。手術後4週間に再びEFを測定し、その時点より7日間新規PDK4iを投与し、投与完了後に再びEFを測定した。

【結果】手術後4週間のマウスのEFは手術前のマウスのEFと比較して有意な低下が見られた。また投与完了後にはDCA (コントロール) 群に比べて2種類の新規PDK4i群でEFが有意に上昇していた。

【結論】本研究より2種類の新規PDK4iが心不全治療に有用である可能性が示された。

2型糖尿病モデルラット胸部大動脈におけるウロテンシン II 誘発収縮反応の検討

安藤眞、松本貴之、渡邊駿、小林翔太、田口久美子、小林恒雄

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態学研究室

【目的】 Urotensin II (U II) は強力な血管作動性ペプチドである。U II による血管収縮機構については様々な報告により明らかになりつつあるが、2型糖尿病病態下における U II 誘発収縮反応とそのシグナル伝達機構については未だ明らかとなっていない。そこで我々は2型糖尿病モデル動物である Goto-Kakizaki (GK) ラット摘出胸部大動脈を用いて U II 誘発収縮反応およびそれに対する各種阻害薬の影響について検討を行った。【方法】 雄性 GK ラットおよび Wistar ラットより胸部大動脈を摘出し、U II による収縮反応の検討を行った。また Urotensin II receptor (UT) および Rho kinase の阻害薬存在下における U II 誘発収縮反応の検討を行った。さらに Western Blot 法を用いて UT および Rho A、ROCK1、ROCK2、MYPT1、ERK、p38 MAPK のタンパク発現について検討を行った。【結果・考察】 GK群においてU II 誘発収縮反応が認められたが、Wistar 群においては認められなかった。GK 群における U II 誘発収縮反応は UT 拮抗薬 (SB657510) および Rho kinase 阻害薬 (Y27632) の前処置により減弱した。また胸部大動脈での UT 発現は Wistar 群と比較して GK 群において増加しており、U II 刺激 (3×10^{-9} M、20 min) 条件下における Rho A、ROCK1、ROCK2、MYPT1 のタンパク発現は両群間で変化は認められなかった。一方、ERK1/2 および p38 MAPK のリン酸化量は GK 群においてWistar群と比較して有意に増加していた。以上より、GK ラット大動脈における U II 誘発収縮反応は UT の発現上昇や Rho kinase および ERK1/2、p38 MAPK シグナルが関与する可能性が示唆された。

植物由来ポリフェノールのモリンの血管内皮保護効果

長谷川麻美、田口久美子、飛田麻里、松本貴之、小林恒雄

星薬科大学 医薬品化学研究所 機能形態学研究室

【目的】糖尿病は、心血管系疾患など合併症の発症及び進展のリスクを増加させ、患者のQOLを低下させる。また、糖尿病性合併症は血管内皮機能の低下により引き起こされており、内皮機能の改善は糖尿病性合併症を予防する上で重要である。以前、当研究室において、グアバの葉に含まれるポリフェノールであるモリン (MO) をストレプトゾトシン (STZ) 誘発糖尿病モデルマウスに処置すると、減弱していた血管弛緩反応が改善することを報告している。しかしながらその作用機序は明らかになっていなかったため、今回はMOがどのような経路を介して血管弛緩反応を増強させるのか検討を行った。

【方法】STZ 誘発糖尿病モデルマウス (糖尿病群) から摘出した胸部大動脈を用いて、血管弛緩反応や NO_x 測定、各種タンパク発現をコントロールマウス (対照群) と比較した。

【結果】糖尿病群の ACh 誘発内皮依存性弛緩反応は対照群に比べ減弱していたが、MO の前処置により増大が認められた。また、糖尿病群において ACh 刺激時に減少していた NO 産生量は、MO 刺激時に顕著に増加しており、MO 濃度依存性血管弛緩反応も有意な増大を示した。そこで MO 刺激による NO 産生経路の探索を行った。MO 誘発血管弛緩反応において、NO 合成酵素阻害薬である L-NNA や Akt inhibitor を前処置すると、対照群、糖尿病群共に血管弛緩反応の消失が認められた。また、糖尿病群において、MO 刺激により p-Akt および p-eNOS の発現量が増加した。

【考察】MO は血管内皮細胞に作用し、Akt/eNOS 経路を活性化させることで NO 産生量を増加させ、血管を直接弛緩させる作用を持つことが明らかになった。さらに MO のこの作用は、血管内皮機能が低下し NO 産生量が減少している糖尿病時において、レスキュー的に機能を改善する可能性が示唆された。以上より、内皮機能を改善させる新たな治療方法として、MOの有用性が期待される。

新規マウス網膜血管新生異常モデルにおける血管伸長方向性調節機序の解析

○森田 茜¹、松村有希¹、郷古朋美¹、松村麻美¹、牛久保裕子¹、森 麻美¹、坂本謙司¹、石井邦雄^{1, 2}、中原 努¹

¹北里大・薬・分子薬理、²横浜薬大・薬・薬学教育センター

【背景】未熟児網膜症や糖尿病網膜症では、眼内に生じる異常な新生血管が視覚障害および失明の原因となる。正常時とは異なり、病態時に生じる新生血管のすべてが虚血/低酸素部位へ向かうわけではないという事実は、血管伸長の方向性調節機序の多様性を示唆している。本研究では、マウスの網膜血管が出生直後より形成されるという性質を利用して、新生仔マウス網膜において、まだ血管が形成されていない領域（血管未形成領域）と血管内皮成長因子（VEGF）受容体チロシンキナーゼ阻害薬 KRN633 を用いて血管を退縮させた領域（血管退縮領域）を作製し、それら領域への血管新生について検討を行った。

【方法】血管が網膜表層部の半分程度を覆う 4 日齢のマウスに KRN633 (10 mg/kg/day, s. c.) を 2 日間処置した。その後、網膜表層部における血管領域の面積と密度、血管新生芽の数および VEGF 発現分布について 14 日齢まで経時的に評価した。

【結果・考察】KRN633 処置マウスでは、6 日齢の網膜において、血管新生の抑制と著しい毛細血管の脱落が観察された。8 日齢以降の網膜において、再び新生血管が認められたが、それらは先ず血管退縮領域から生じ、次いで血管網先端部から血管未形成領域へ向けて伸長した。8 日齢の網膜では、VEGF は血管未形成領域で強く発現しており、そのレベルは正常よりも KRN633 処置マウスにおいて高かった。血管未形成領域へ向かう血管新生芽の数は VEGF が強く発現している KRN633 処置マウスにおいて少なかった。本実験結果は、新生仔マウスの網膜に血管未形成領域と血管退縮領域が存在する場合、血管未形成領域に大量の VEGF が存在しているにも関わらず、血管新生は血管退縮領域に優先的に生じることを示している。本現象は、血管伸長の方向性の多様性を示す新知見であり、血管伸長の方向性調節機序を明らかにするための有用な実験モデルとなると考えられる。

肥満細胞由来のPGD₂はDP受容体に作用してアナフィラキシーを抑制する

藤原祐樹、中村達朗、山田涼太、濱端大貴、村田幸久
東大・院・放射線動物科学

【背景・目的】重篤なアレルギー反応であるアナフィラキシーは、抗原刺激により活性化した肥満細胞が、血管透過性亢進物質を大量に放出することで引き起こされる。活性化した肥満細胞はプロスタグランジンD₂ (PGD₂) という脂質も大量に放出することが報告されているが、その生理作用は分かっていない。本研究は、アナフィラキシーにおけるPGD₂の役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】PGD₂合成酵素であるH-PGDSの全身 (H-PGDS^{-/-}) もしくは肥満細胞特異的欠損マウス (Mcpt5-Cre⁺ H-PGDS^{f1/f1})、過剰発現マウス (H-PGDS TG)、PGD₂受容体であるDP (DP^{-/-}) またはCRTH2を欠損したマウス (CRTH2^{-/-}) を実験に用いた。マウス耳介に肥満細胞活性化剤 (コンパウンド48/80:C48/80) を皮内投与した後、エバンスブルー色素を静脈内投与して、その漏出量を測定することで血管透過性を評価した。また、C48/80を静脈内投与したマウスの血圧及び体温を測定した。野生型マウス (WT) の耳介におけるH-PGDSの発現細胞を免疫染色で検討した。

【結果】WTの耳介にC48/80を投与すると色素漏出が観察され、静脈内に投与すると血圧及び体温が低下した。H-PGDS^{-/-}ではWTに比べこれらのアナフィラキシー症状が劇的に悪化し、H-PGDS TGでは症状が抑制された。WTの耳介において、肥満細胞がH-PGDSを強く発現していた。Mcpt5-Cre⁺ H-PGDS^{f1/f1}では対照 (Mcpt5-Cre⁻ H-PGDS^{f1/f1}) と比べて血管構造や肥満細胞数に変化はなかったが、アナフィラキシー症状が悪化した。WTに比べDP^{-/-}ではアナフィラキシー症状が悪化した。CRTH2^{-/-}では違いが見られなかった。DP受容体作動薬の処置はWTとH-PGDS^{-/-}のアナフィラキシー症状を抑制した。

【結論】以上の結果から、肥満細胞由来のPGD₂がDP受容体に作用することで血管透過性を抑え、アナフィラキシー症状を抑制することがわかった。