

## 平成20年度 研究戦略プロジェクト事業 研究成果報告書

平成21年6月30日

公立大学法人横浜市立大学  
理事長 様

平成20年度 研究戦略プロジェクト事業 (W20001) で行った研究成果等は下記のとおりです。

記

1 研究者情報	研究代表者氏名 (所属・職位)	横山 詩子 (循環制御医学・助教)			
	2 事業情報	新規・継続の分け			
	研究費の区分	若手人材育成推進費 (自然科学)			
	研究課題名	新しいカテコラミン受容体シグナル、Epac の制御による心臓線維化抑制と慢性心不全治療			
	研究実施期間	平成20年7月1日 ~ 平成21年3月31日			
	研究ユニットの構成 ※研究代表者も含む ※研究計画書と相違のないようにご注意ください。	所属名・企業名等	役職名	氏名	役割
		横浜市立大学医学部 循環制御医学	助教	横山 詩子	研究代表者
3 研究概要					
<p>重症慢性心不全は一年生存率が約50%と極めて予後不良な疾患である。感染や圧負荷等により心筋の脱落や心機能の低下がおこると、代償性に線維芽細胞が増殖し細胞外基質を産生する。心臓は硬直化して心機能が低下し、線維化を原因とする慢性心不全へと進行する。そこで心臓線維化、慢性心不全の進行を抑制することができる治療が求められている。ベータアドレナリン受容体 (<math>\beta</math>-AR) 刺激などを介して産生されるサイクリック AMP (cAMP) が心臓の線維化を抑制することが明らかになった。cAMP により活性化される新しいタンパクとして Epac (exchange protein directly activated by cAMP) が報告されたが、本研究では Epac の心臓線維化と慢性心不全にはたす役割を解明し、Epac が新しい心不全治療のターゲットになりうるかを検討した。本研究を通して心不全モデルとしてアンジオテンシン II 負荷やデオキシコルチコイドを用いたアルドステロン負荷を Epac1 欠損マウス、Epac2 欠損マウスに対して行い、アルドステロン負荷において Epac1 が心臓保護的に働くことを発見した。</p>					

## 4 研究成果

※研究成果については、2,000字程度で記入して下さい。(絵、図入りも可)

※地域貢献促進費の方は課題提案者に提出する報告書(必須)をご提出頂きますので、この欄は記載しないで結構です。その他の方は別紙を用意せず、この枠の中に記入するようにして下さい。(枚数は問いません)

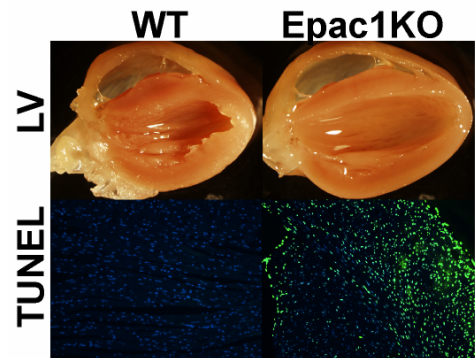
【目的】新たなサイクリックAMPの標的分子であるEpac (Exchange Protein Activated by Cyclic AMP)の慢性心不全に及ぼす役割のを検討する。

【方法】デオキシコルチコイド(DOCA) の錠剤 (50mg) を頸部皮下に埋め込み、同時に1%NaClを飲水させることでアルドステロン+ナトリウム負荷を行った。錠剤は21日徐放剤であり効果は3週間以上続く。マウスは野生型、Epac1欠損、Epac2欠損マウスを使用した。

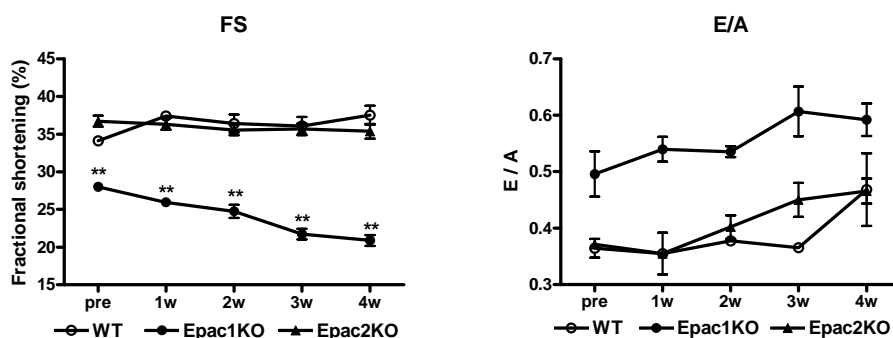
手術前、1週間、2週間、3週間、4週間後にそれぞれ体重測定と心エコーを行い、手術4週後に心臓カテーテル検査、組織学的検討を行った。

### 【結果1】

1. デオキシコルチコイド+ナトリウム負荷を野生型マウスと、Epac1欠損マウスに行ったところ、Epac1欠損マウスでは野生型マウスに比べて著明な心拡大を呈した(左図上段)。
2. アルドステロン負荷により、Epac1欠損マウスの心臓組織でアポトーシスが著明に亢進していたことも見出した(左図下段、アポトーシスを起こしている細胞は緑色に蛍光染色されている)。

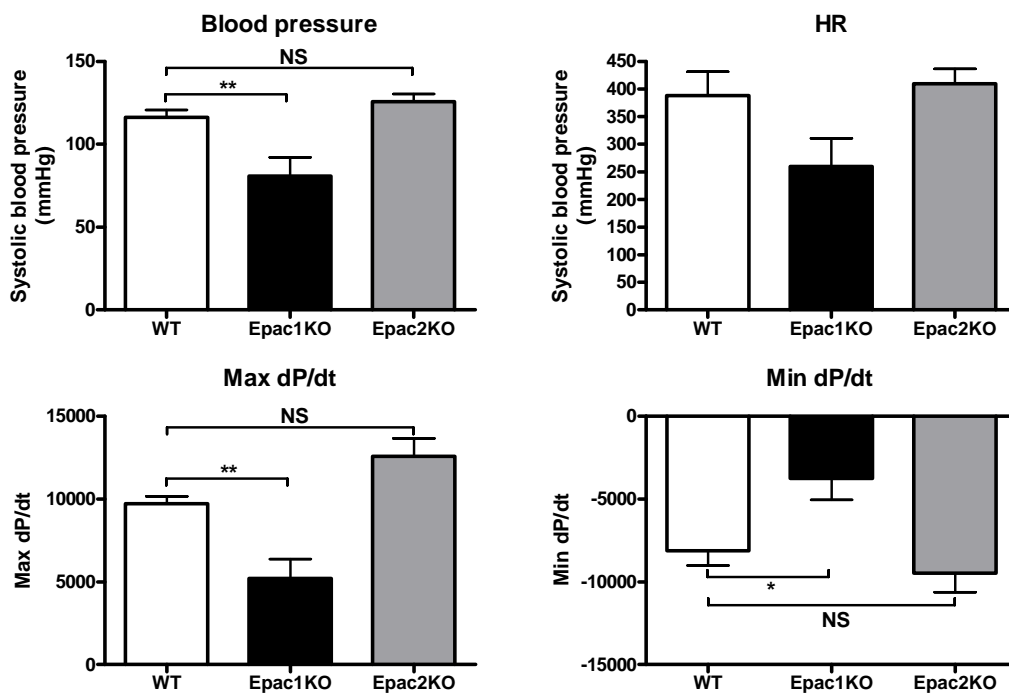


3. デオキシコルチコイド+ナトリウム負荷で、Epac1欠損マウスでは野生型マウスに比べて著明な左心室駆出率(FS: fractional shortening)の低下を認めた(下図FS参照)。
4. 負荷によりEpac1欠損マウスでは心エコーにてE波のA波に対する割合が高くなった。つまりEpac1欠損マウスでは心臓拡張能の低下が示唆された。(下図E/A参照)



5. 負荷後4週間での心臓カテーテル検査でMax dP/dt、Min dP/dtを計測したところ、Epac1欠損マウスでのみ、心室の収縮性の指標であるMax dP/dtの低下、拡張能の低下の指標であるMin dP/dが増加した(次頁図下段)。
6. 同じく負荷後4週間のカテーテル検査でEpac1欠損マウスで血圧の低下と心拍の低下が認められた(次頁上段)。

これらの負荷にてEpac2欠損マウスは各項目において野生型と差が認められなかった。上記の結果よりアルドステロン負荷によりEpac1欠損マウスのみ心臓収縮、拡張障害をきたすことが明らかになり、その原因はアポトーシスの亢進にあることが示唆された。



## 【結果 2】

1. アンジオテンシンII (2mg/Kg/day) をosmotic pumpで2週間投与し、心エコー、心臓カテーテル検査を行ったが、野生型、Epac1欠損、Epac2欠損マウスのグループで心機能に差が認められなかった。
2. 当初の計画であった、心筋炎による心不全モデルを作成するために、EMCV(encephalomyocarditis virus)をATCCから購入し、野生型マウスに感染させた。しかし野生型の死亡率があまりにも高率であったため、このウイルスでのモデルの作成は断念した。
3. EMC-Dを東大農学部の小野寺先生の研究室から分与して感染実験を行った。このウイルスは糖尿病と心筋炎を起こすウイルスのため (BBRC 310、791-795、2003) 心機能と血糖値の変化を観察した。血糖値は高くなったが、心機能は有意な変化がなく、モデルとしての使用を断念した。

## 【結論】

さまざまな心不全モデルを作製し、そのうちデオキシコルチコイド投与によるアルドステロン負荷でEpac1欠損マウスが著明な心不全を呈することを明らかにした。Epacの2つあるアイソフォームのうちEpac2は野生型との差がなかった。つまり、慢性心不全で亢進しているアルドステロンの産生下では、Epac1はアイソフォーム特異的に心臓保護作用を持つことが示唆された。

## 【考察と今後の展望】

慢性心不全でアルドステロンの亢進が重要な役割を担っていることが近年明らかになっており、抗アルドステロン薬が慢性心不全の治療として注目されてきている。本研究を通してEpac1を活性化することが、このアルドステロン過剰な状態で、更なる心不全の改善に寄与できる可能性が明らかになり、慢性心不全の機序解明に寄与したと考えられた。今後はEpac刺激薬を心不全モデルの治療薬として投与し、効果を検討したい。また今回は慢性心不全のモデル作製に多くの時間を費やし、達成できなかった、心臓線維芽細胞、心筋細胞のそれぞれの役割を細胞別に初代培養を行い検討したい。

最後に、貴財団の助成をいただくことができ、留学から帰国直後で資金の調達もままならない状態の中で、スムーズに研究活動を開始でき、今後につながる結果を得られたことを心より感謝いたします。

## 5 研究成果の活用（予定）

例) 平成 22 年度 科学研究費補助金（基盤 S）に申請予定

例) 第〇会 〇〇学会に論文発表予定

例) 研究成果が横浜市〇〇事業に活用され、当該事業の PR イベントが開催された際に広報チラシ等に「横浜市立大学 研究戦略プロジェクト事業」との関連を記載した。

平成 21 年度 科学研究費補助金（基盤 C）獲得

平成 22 年 3 月 日本循環器学会で研究結果発表予定、及び論文発表予定

平成 21 年度 財団法人横浜総合医学振興財団 推進研究助成 応募中

平成 21 年度 興和生命科学振興財団 研究助成 応募中

※ページ数は増えても構いません。

以上