

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08505

研究課題名（和文）グレリンの生理作用を応用した「抗癌剤誘発性心筋症」に対する画期的治療法開発

研究課題名（英文）Development of a novel treatment for "Anticancer drug-induced cardiomyopathy" by utilizing the physiological effects of ghrelin

研究代表者

徳留 健（TOKUDOME, Takeshi）

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：00443474

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：ドキシソルビシン(DOX)は、悪性リンパ腫・乳癌等の治療に用いられている抗癌剤だが、不可逆的な心毒性を来すことがあるため、使用に際しては経時的な心機能評価が必要である。グレリンは胃から産生されるペプチドホルモンであり、摂食亢進作用・成長ホルモンやIGF-1の分泌促進作用を有する。本研究では、ドキシソルビシン誘発性心筋症モデルマウスの心機能に対するグレリン投与の効果を検討した。結果として、3週間のグレリン投与(200 µg/kg/day・皮下注)により、心エコーで評価したドキシソルビシン誘発性心機能低下は抑制された。以上より、グレリンはドキシソルビシン誘発性心筋症予防効果を有する可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、癌薬物療法は飛躍的な発展を遂げた。一方で抗癌剤は様々な頻度・重症度で、心筋障害・心機能低下を引き起こす。このため、昨今「Onco-Cardiology：腫瘍循環器学」という学問分野が立ち上がった。ドキシソルビシン(DOX)は、悪性リンパ腫・乳癌等の治療に用いられている抗癌剤だが、不可逆的な心毒性を来すことがあり、癌ではなく心不全で亡くなる患者が存在する。よってDOX誘発性心筋症に対する画期的な治療法・予防法が望まれている。本研究は生体内で恒常的に産生されているペプチドホルモンであるグレリンが、DOX誘発性心筋症の予防的効果を有する可能性を示したものであり、その学術的・社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：Doxorubicin (DOX) is an anticancer drug used in the treatment of malignant lymphoma and breast cancer. Ghrelin is a peptide hormone synthesized in the stomach and has effects of stimulating feeding and the secretion of growth hormone and IGF-1. In this study, we examined the effects of ghrelin administration on cardiac function in a mouse model of doxorubicin-induced cardiomyopathy. As a result, 3 weeks of ghrelin administration (200 µg/kg/day by subcutaneous injection) suppressed doxorubicin-induced cardiac dysfunction as assessed by echocardiography. These results suggest that ghrelin may have a protective effect against doxorubicin-induced cardiomyopathy.

研究分野：循環器病学

キーワード：抗癌剤誘発性心筋症 心不全 グレリン ペプチドホルモン

1. 研究開始当初の背景

近年、癌薬物療法は飛躍的な発展を遂げた。一方で抗癌剤は様々な頻度・重症度で心筋障害・心機能低下を引き起こす(Cancer therapeutics-related cardiac dysfunction: CTRCD)。CTRCDは癌患者における治療薬選択に影響を及ぼすと共に、予後規定因子になり得る。このため、昨今「Onco-Cardiology: 腫瘍循環器学」という学問分野が世界的に立ち上がった。循環器医と腫瘍医の連携は、抗癌剤による心筋障害・心機能低下の早期発見に大いに貢献している。しかし、CTRCDを根本的に予防・治療することは現在でも大変困難であり、画期的な治療薬が望まれている。右表は各種抗腫瘍薬による左室機能障害の出現頻度を示したものであるが、特にアントラサイクリン系抗癌剤である**ドキソルピシン**と、HER2 (ErbB2) に対するモノクローナル抗体薬である**トラスツズマブ**で頻度が高い。**ドキソルピシン**は幅広いスペクトラムを有し、悪性リンパ腫・白血病・乳癌などに対して、現在でも主要な治療薬として用いられている。

< 各種抗腫瘍薬による左室機能障害の頻度 >

抗腫瘍薬	頻度 (%)
アントラサイクリン系	
ドキソルピシン(累積投与量)	
400 mg/m ²	3~5
550 mg/m ²	7~26
700 mg/m ²	18~48
アルキル化薬	
シクロフォスファミド	7~28
微小管重合阻害薬	
バクリタキセル	<1
モノクローナル抗体薬	
トラスツズマブ	1.7~20.1
(アントラサイクリン系との併用)	20~28
ペバシズマブ	1.6~4

「腫瘍循環器ガイド」メディカルレビュー社より改変引用

代表者は、ラット胃から発見された摂食亢進ホルモンである「グレリン」の、心筋梗塞・心肥大・心不全モデルに対する治療的効果について研究し、多くの論文・総説を発表した。グレリンは寒川賢治博士らによって1999年にラットの胃から発見されたペプチドホルモンである(右: 図1)。グレリンは摂食亢進作用・成長ホルモンやIGF-1の分泌促進作用・骨格筋量増加作用等を有する。IGF-1は、ドキソルピシン誘導性心筋細胞アポトーシスを抑制することが報告されている(Circ. Res, 1998)。また代表者らはグレリンが心臓交感神経活性を抑制し、心臓副交感神経活性を賦活化することを報告したが(Endocrinology 2008, Hypertension 2015)、心臓交感神経活性化による酸化ストレス増大や、心臓副交感神経活性化による酸化ストレスおよび炎症の軽減・アポトーシスの抑制・ミトコンドリア合成の促進が示唆されている。



図1. グレリンは28残基のアミノ酸からなるペプチドホルモンである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ドキソルピシン誘導性心筋障害・心筋機能不全をグレリンが抑制できるか検討することにより、「グレリンの生理作用を応用した、抗癌剤による心臓合併症の画期的治療法を開発すること」である。

3. 研究の方法

ドキソルピシン誘発性心筋症モデルマウス作製法については様々な報告があるが、1週間に1回投与を4-5週間行うものと、1回だけ比較的多めの投与を行うという2つのパターンがある。そこでヒトで認められる拡張型心筋症様の表現型を呈するマウスモデルを構築するため、複数の方法でドキソルピシンを野生型マウスに投与し、最もヒトの病態に近いモデルに対してグレリン投与を行って治療的効果を確認することにした。用いたマウスは野生型マウス(C57BL6/J)である。ドキソルピシンは腹腔内、グレリンは皮下に投与した。

4. 研究成果

(1) 13週齢野生型マウスに、生理食塩水に溶解したドキソルピシン 5mg/kg を週1回、合計5回投与した(n=20)。対照群には生理食塩水を投与した(n=10)。投与終了後、4週間の観察期間をもうけ、その後心エコーにて心機能評価を行った。注射時には毎回体重測定を行

った。生理食塩水群では、投与開始時の体重が平均 27.02g であり、ドキシソルピシン群では平均 27.21g であった。投与終了時の体重は、生理食塩水群では平均 29.23g、ドキシソルピシン群では 25.80g であり、やはり有意にドキシソルピシン群で体重が軽かった。観察期間終了時の体重は、生理食塩水群では平均 31.12g、ドキシソルピシン群では 25.83g であり、有意にドキシソルピシン群で体重が軽かった。投与中および観察期間中に死亡したマウスはいなかった。イソフルラン吸入麻酔下で行った心エコーの結果、左室内径短縮率には二群間で有意差を認めず、左室拡張末期径・左室収縮末期径・左室壁厚にも有意差を認めなかった。既報論文では今回の投与量よりも少ない量で一部のマウスが死亡し、左室機能が低下したといった結果が報告されているが、今回得た結果はそれらと異なるものであった。この結果を受け、ドキシソルピシンの投与量を 2 倍に増やした上で、同様の検討を行うこととした。

(2) ドキシソルピシン投与量を前年度の約 2 倍に増やし、8 mg/kg・週 1 回腹腔内注射を 5 回行った(n=20)。対照群(n=10)には生理食塩水を投与した。投与開始時の生食群の体重は 24.5 g・ドキシソルピシン群の体重は 24.17 g であり、両群間に有意差を認めなかった。投与終了後の体重は、生食群: 26.55 g・ドキシソルピシン群: 20.89 g であり、両群間に $p<0.001$ の有意差を認めた。薬剤投与期間中に死亡したマウスは認めなかった。その後約 9 週間の観察期間を設けた。この間に、ドキシソルピシン群では 9 匹のマウスが死亡した。観察期間終了後の体重は、生食群: 29.14 g・ドキシソルピシン群: 19.59 g であり、両群間に $p<0.001$ の有意差を認めた。心エコーで心機能を評価したところ、左室内径短縮率が生食群: 28.37%・ドキシソルピシン群: 22.08% であり、両群間に $p<0.05$ の有意差を認めた。また心室中隔壁厚は生食群: 0.905 mm・ドキシソルピシン群: 0.686 mm、左室後壁壁厚は生食群: 0.842mm・ドキシソルピシン群: 0.611 mm であり、ともに両群間に $p<0.05$ の有意差を認めた。なお、左室拡張末期径および収縮末期径には、両群間に有意差を認めなかった。左室収縮能がドキシソルピシン群で低下していたが、sacrifice して臓器重量を測定したところ、脛骨長で補正した臓器重量は心臓以外の肝臓・脾臓・腎臓も顕著に低下しており、多臓器不全の様相を呈していた。このため、より患者病態に近いドキシソルピシンの投与量・投与回数設定が必要と判断した。

(3) ヒトの病態を反映するマウスモデル確立のため、DOX を 4 mg/kg/week で 5 回腹腔内投与・8 mg/kg/week で 5 回腹腔内投与を行ったが、エコーで評価した心機能はやや低下したものの、心臓のみならず肝臓・腎臓・脾臓の萎縮も顕著であり、DOX 複数回投与でのモデル確立は困難と判断した。そこで文献報告を参考に DOX1 回投与法を試してみた。9 週齢野生型オスマウス(C57BL6/J)に、20 mg/kg で DOX を 1 回腹腔内投与した。対照群には生食を投与した。投与後 5 週間体重測定を行ったが、DOX 投与群 20 匹のうち、3 匹が途中で死亡した。最終的な体重は、対照群:26.9g に対し DOX 群:20.5g($P<0.0001$)と、DOX 群で顕著に低下した。心エコーデータは、DOX 群において対照群に比べ左室後壁厚が有意に薄くなり、左室内径短縮率が有意に低下した。臓器重量は、心臓のみならず肝臓・腎臓・脾臓重量が DOX 群で有意に低下していた。本モデルを使い、グレリン投与が DOX 投与による体重減少、左室壁厚減少・心機能低下を抑制できるか検討することにした。グレリンは 200 μ g/kg/day で 3 週間毎日 1 回皮下注した。結果、グレリン投与は DOX 投与による体重減少を全く抑制できなかった。しかし心エコーのデータは、グレリン投与群において、DOX による左室中隔および左室後壁厚の低下が抑制され、左室内径短縮率の低下も抑制されていた。以上のことから、グレリンはドキシソルピシンによる抗癌剤誘発性心筋症の病態を改善させ得る可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tokudome T, Otani K, Mao Y, Jensen LJ, Arai Y, Miyazaki T, Sonobe T, Pearson JT, Osaki T, Minamino N, Ishida J, Fukamizu A, Kawakami H, Onozuka D, Nishimura K, Miyazato M, Nishimura H.	4. 巻 79
2. 論文標題 Endothelial natriuretic peptide receptor 1 play crucial role for acute and chronic blood pressure regulation by atrial natriuretic peptide	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Hypertension	6. 最初と最後の頁 1409-1422
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.18114	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 徳留 健
2. 発表標題 ナトリウム利尿ペプチド研究～基礎から臨床へ～
3. 学会等名 第50回日本心臓血管作動物質学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徳留 健
2. 発表標題 Cardioprotective effects of natriuretic peptides as autocrine factors
3. 学会等名 第86回日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------