

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860628

研究課題名(和文) 心筋梗塞における心筋細胞保護の分子機構解析と治療

研究課題名(英文) Treatment with the molecular mechanism analysis of myocardial cell protection in myocardial infarction

研究代表者

馬渡 一寿 (Mawatari, Kazutoshi)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：00461434

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ERK1/2の抑制因子であるSprouty4が急性心筋梗塞の病態においてどのような役割を果たすのか検討を行った。結果Sprouty4は心筋梗塞後の病態において発現が上昇するものの、ERK1/2の活性に影響は与えていなかった。また野生型とSprouty4遺伝子欠損マウスでは、急性心筋梗塞後のリモデリングや梗塞範囲、血管新生の評価において有意差は認めなかった。以上のことからSprouty4は急性心筋梗塞の病態において重要な役割を担っていないと考えられた。

研究成果の概要(英文)：It has been shown that ERK1/2 signaling pathway has protective role in the development of left ventricular (LV) remodeling after acute myocardial infarction (AMI). However, little is known about the role of negative regulator of ERK1/2 signaling pathway in the process of LV remodeling after AMI. We have shown that Sprouty4 (Spry4) is an intrinsic negative regulator of ERK1/2 signaling pathway in pathophysiology including angiogenesis. In this study, we determined whether ERK1/2 suppressor Spry4 would play a role in the development of LV remodeling after AMI.

The ERK1/2-Spry4 pathway is activated in the development of LV remodeling after AMI. The ERK1/2 phosphorylation and the LV remodeling after AMI are not different between Spry4-KO and WT mice. This study suggests that ERK1/2 suppressor Spry4 does not play an important role in the development of LV remodeling after AMI.

研究分野：心不全

キーワード：Sprouty4

### 1. 研究開始当初の背景

Ras-Raf-ERK キナーゼ経路の異常な活性化は、例えば発癌など、生体にとって危険信号である。したがって、この経路の制御機構は極めて重要であるが、疾患との関連についての研究はようやく始まったばかりである。同様に Sprouty/Spreed の心血管病における生理機能や病態との関連もほとんど不明のままである。

急性心筋梗塞(AMI)後に起こる心筋リモデリングは、心不全の促進因子となる。AMI 後心筋リモデリングを抑制するためには、梗塞後早期の心筋壊死の抑制と血管新生促進が重要と考えられている。いくつかの増殖因子は心筋の生存を促進し、血管新生を促進することにより AMI 後の心筋リモデリングを抑制することが報告されている。

Sprouty4(Spry4)は FGF や VEGF 等の増殖因子によって発現が誘導され、MAP キナーゼである ERK 経路を遮断することにより、増殖因子の活性を負に制御するネガティブフィードバック因子と考えられている。例えば、Sprouty4 を眼球で過剰発現させると、網膜の血管新生が抑制されることが報告され、Spry4 が血管新生を調節する分子であることが示唆されている。しかしながら、AMI 後心筋リモデリングの病態において、増殖因子の活性が Sprouty4 によって、どのように調節

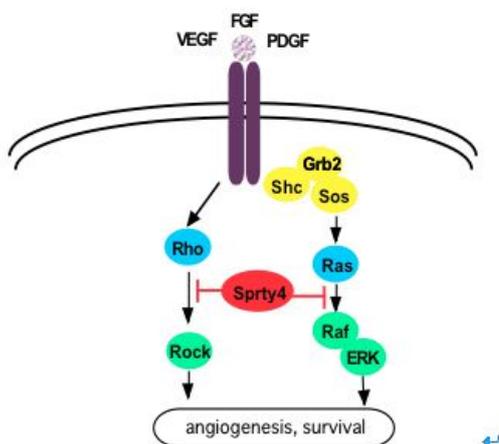


図1 Spry4による増殖因子シグナルの制御

され、病態に関与しているかは明らかでない。

AMI の病態において、ERK 経路が活性化され、この活性化が心筋細胞の生存や血管新生に重要であることが示されており、ERK 経路の活性化を抑制することで増殖因子の機能を調節する Spry4 が、AMI の病態において何らかの役割を果たしていると考えられた。

### 2. 研究の目的

虚血再灌流障害や心筋梗塞後心筋リモデリングにおいて Ras-Raf-ERK キナーゼ経路の活性化と Sprouty/Spreed ファミリー遺伝子の発現の関連性を明らかにし、この経路においてどのような作用が最も効果的に虚血再灌流障害や心筋梗塞後心筋リモデリングを防ぐことができるか検討する。

その解析結果からさらに心筋虚血に対する治療実験を行う。

### 3. 研究の方法

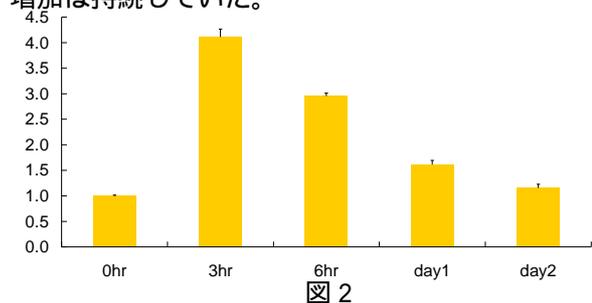
野生型マウスと Spry4 遺伝子ノックアウト (Spry4KO) マウスにそれぞれ、心筋梗塞後心筋リモデリングモデルを作成し、組織学的、Western Blot や PCR により比較評価し、作用機序の解明を行う。

同時に高分子ナノミセルを利用した治療を試みる。

### 4. 研究成果

#### (1) 結果

野生型マウス心筋梗塞組織における Spry4 の時間経過を real-time PCR で調べた。梗塞前に比べ、梗塞 3 時間後に Spry4 は約 4 倍に発現が上昇し、梗塞 24 時間後まで発現増加は持続していた。



野生型マウス心筋梗塞組織における Spry4 の局在を insituhybridization を用いて評価、心筋細胞や血管内皮細胞に発現していた。

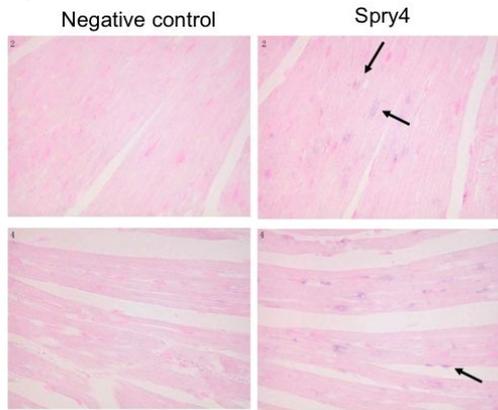


図 3

野生型マウス心筋梗塞組織におけるリン酸化 ERK の発現を western blot で評価、2 日後まで発現が抑制されており、Spry4 の発現と逆相関していると考えられた。

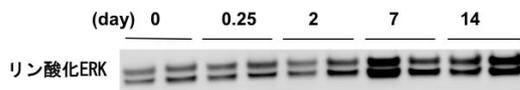


図 4

野生型マウスと Spry4KO マウスの急性心筋梗塞後 7 日目の心エコー検査において、左室径(図 4)や左室収縮能(図 5)に有意差は認めなかった。

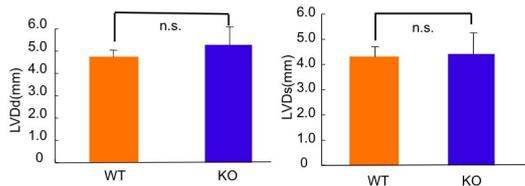


図 4 左室径

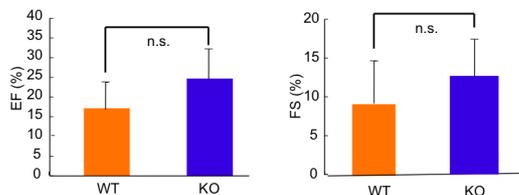


図 5 左室収縮能

野生型マウスと Spry4KO マウスの急性心筋梗塞後 7 日目において、心筋梗塞の範囲に有意差は認めなかった。(図 6)

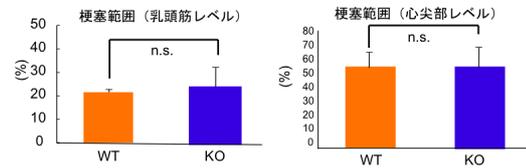


図 6

野生型マウスと Spry4KO マウスの急性心筋梗塞後のリン酸化 ERK の発現に有意差は認めなかった。

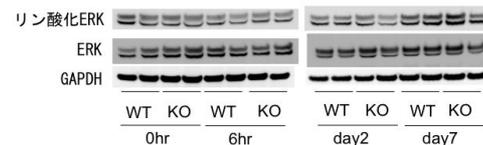


図 7

野生型マウスと Spry4KO マウスの急性心筋梗塞後 7 日目における心筋梗塞境界域の血管新生を CD31 により評価、有意差は認めなかった。

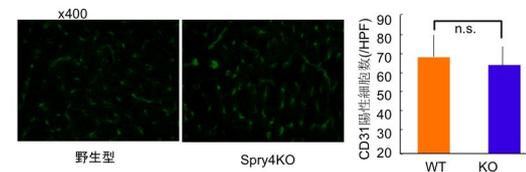


図 8

## (2) まとめ

- ・MI 後の ERK のリン酸化は、day7 以降に上昇する。
- ・Spry4 の発現は、AMI 後 3 時間をピークに day2 まで上昇する。
- ・Spry4 は心筋細胞や血管内皮細胞に発現する。
- ・AMI 後の野生型と Spry4KO とを比較して、心エコーデータ、梗塞範囲、ERK のリン酸化、血管新生に有意差は認めない。

## (3) 結論

ERK1/2 の阻害因子である Spry4 は、心筋梗塞後に発現が上昇するが、ERK の活性化に影響せず、心筋梗塞後心筋リモデリングの病態において重要な役割は担っていないと考えられた。

## 5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計 1 件)

馬渡一寿

ERK1/2 Suppressor Sprouty4 Does Not Play an Important Role in the Development of

Left Ventricular Remodeling After Acute  
Myocardial Infarction

第 31 回国際心臓研究学会日本部会

2014 年 11 月 28 日

ウインクあいち(愛知県名古屋市)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

馬渡一寿 (Mawatari, Kazutoshi)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号 : 00461434

(2)研究協力者

安川秀雄 (YASUKAWA, Hideo)

大場豊治 (OBA, Toyoharu)