

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19390

研究課題名(和文)血管新生因子に対するインクレチン関連薬の効果

研究課題名(英文) DPP4 inhibition ameliorates cardiac function by blocking the cleavage of HMGB1 in diabetic mice after myocardial infarction

研究代表者

中村 裕一 (Yuichi, Nakamura)

福島県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：10745798

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病ではDPP4活性が亢進しHigh mobility group box 1(HMGB1)分解が促進されることにより血管内皮増殖因子を介したHMGB1の血管新生作用が障害されること、またDPP4活性を阻害することによってDM状態でもHMGB1の機能が保たれることが判明した。これらの結論から、DPP4は糖尿病合併の虚血性心疾患における新たな治療ターゲットとなり得る可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：DPP4 activity was increased in the diabetic state and blocked by anagliptin administration. The HMGB1 plasma levels were reduced in the diabetic TG compared with the non-diabetic TG mice, but DPP4 inhibition with anagliptin increased HMGB1 plasma levels in the diabetic TG mice. The infarct area was significantly larger in the diabetic TG than in the non-diabetic TG mice, and was reduced by DPP4 inhibition. Cardiac function, angiogenesis, and VEGF expression were impaired in the diabetic TG mice, but ameliorated by the DPP4 inhibition to levels similar to those found in the non-diabetic TG mice. The DPP4 inhibitor ameliorated cardiac function by inhibiting the inactivation of HMGB1 in diabetic mice after MI.

研究分野：Cardiology

キーワード：DPP4 inhibitor Myocardial infarction HMGB1 cardiac remodeling angiogenesis

1. 研究開始当初の背景

急性心筋梗塞(MI)は冠動脈の急性閉塞により惹起される疾患であり、医療技術や薬物療法の進歩した現在においても死亡率は高い。High mobility group box 1 (HMGB1)は転写因子として機能する核内タンパク質であるが、我々は以前、HMGB1が壊死心筋細胞から細胞外へ分泌され梗塞周辺領域での血管新生を促進し心保護的に作用することを報告した(Nakamura Y, et al. *J Atheroscler Thromb* 22, 570-581, 2015)。糖尿病(DM)合併 MI は予後不良である。糖尿病治療のターゲットである dypeptidyl peptidase 4 (DPP4)がインクレチンの他にも様々な生体内生理活性物質を基質としていることが明らかになってきた。そこで我々は DM 合併 MI において DPP4 活性阻害が HMGB1 の分解を抑制することによって梗塞後の心機能改善に関与するかを検討した。

2. 研究の目的

HMGB1 は DNA 結合タンパクであり、組織障害時に細胞外に放出され、炎症細胞に作用しサイトカイン様の働きを示す。血管内皮増殖因子(VEGF)などを介し組織修復を担うことが報告されている。また、DPP4 はインクレチンを分解する酵素であるが、高血糖状態で活性が亢進している。近年 DPP4 はインクレチンのみならず、VEGF やエリスロポエチンなどの血管増殖因子を抑制することが報告されている(Biochem Biophys Res Commun. 2010; 401: 7-12)。本研究では HMGB1 過剰発現マウスに高血糖状態に暴露させ、心筋梗塞後の HMGB1 と DPP4 の関連について明らかにする。そして HMGB1 を標的とした新しい治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

心筋特異的 HMGB1 過剰発現マウス(TG)と野生型マウス(WT)を用いた。DM はストレプトゾトシン(STZ)を 50 mg/kg/day を連続 5 日間腹腔内投与することで作成した。また、non-DM マウスは生理食塩水を連続 5 日間腹腔内投与した。腹腔投与 19 日後から DPP4 阻害剤(DPP4I)としてアナグリプチン 300 mg/kg/day を投与開始し、TG マウスと WT マウスそれぞれについて non-DM、DM、DPP4I 投与 DM の 3 群を作成した(WT 群、WT-DM 群、WT-DM-DPP4I 群、TG 群、TG-DM 群、TG-DM-DPP4I 群)。腹腔内投与 24 日後にマウスの左前下行枝を結紮し MI を作成した。血中 HMGB1 濃度、心エコーでの心機能、梗塞サイズ、梗塞後心機能、血管新生の程度について 6 群間で比較した(図 1)。

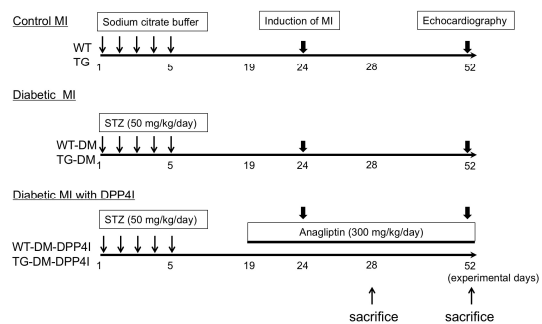


図1 研究プロトコール

4. 研究成果

(1) DPP4 活性

血中の DPP4 活性は STZ 投与前、投与後 14 日後、DPP4I 投与 5 日後、MI 作成 4 週間後に測定した。WT マウス、TG マウスともに DPP4 活性は DM により上昇し、DPP4I 投与により約 90%抑制されていることを確認した(図 2)。

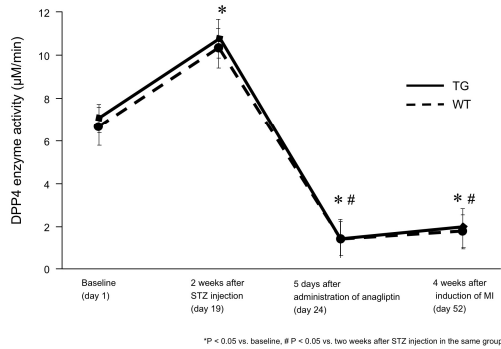


図 2 血中 DPP4 活性の推移

(2) 血中 HMGB1 濃度

梗塞 4 日後の HMGB1 血中濃度を ELISA により測定した。HMGB1 血中濃度は TG 群が WT 群より高値であったが (15.7 ± 3.8 ng/ml vs. 8.4 ± 1.6 ng/ml, $P < 0.05$)、TG-DM 群では有意に低下し (5.5 ± 1.4 ng/ml, $P < 0.05$)、TG-DM-DPP4I 群は TG 群と同程度まで改善した (10.1 ± 2.2 ng/ml) (図 3)。

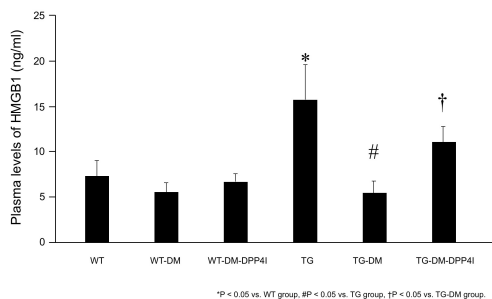


図 3 血中 HMGB1 濃度

(3) 心エコー評価

MI 作成 4 週間後に心エコーを施行した。TG 群で WT 群に比し、左室内径短縮率 fractional shortening (FS) は高値であった ($15.5 \pm 0.84\%$ vs. $11.3 \pm 0.91\%$)。しかし、DM にすると悪化するが ($11.9 \pm 0.64\%$, $P < 0.05$)、DPP4 投与で改善を認めた ($14.2 \pm 0.44\%$, $P < 0.05$)。

(4) 組織学的検討

組織学的検討では、WT 群と比較し TG 群の梗塞サイズは抑制されていたが ($44.8 \pm 2.4\%$ vs. $55.2 \pm 2.6\%$, $P < 0.05$)、TG-DM 群は TG 群と比べて有意に大きく ($56.3 \pm 2.4\%$, $P < 0.05$)、TG-DM-DPP4I 群は TG 群と同程度に抑制された ($41.8 \pm 3.4\%$, $P < 0.05$) (図 4)。

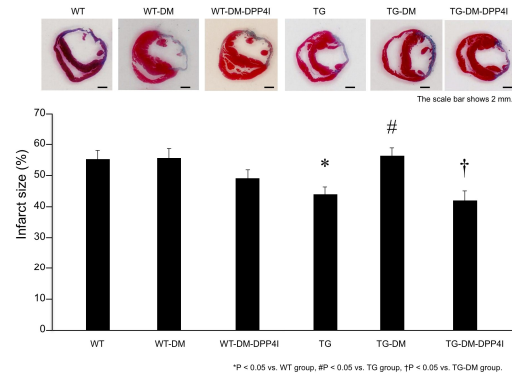


図 4. 梗塞サイズ

梗塞周辺領域の血管新生を、抗 Platelet endothelial cell adhesion molecule 抗体と平滑筋アクチン抗体を用いた免疫染色で評価した。血管新生の程度は、TG 群は WT 群と比較し有意に高いが、TG-DM 群では抑制され、TG-DM-DPP4I 群で TG 群と同程度まで改善した。

(5) 心筋血管内皮増殖因子(VEGF)濃度

MI 作成 4 日後の心筋内の VEGF 濃度を Western blotting により測定した (図 5)。HMGB1 は VEGF を介して血管新生を促進させることが報告されており、本実験でも WT 群と比べ TG 群では VEGF の発現の上昇を認めた。しかし TG-DM 群では VEGF 発現は低下し、TG-DM-DPP4I 群で改善が認められた。以上の結果から DM では DPP4 活性が亢進し HMGB1 分解が促進されることにより HMGB1 の血管新生作用が障害されること、また DPP4 活性を阻害することによって DM 状態でも HMGB1 の機能が保たれることが示唆された。

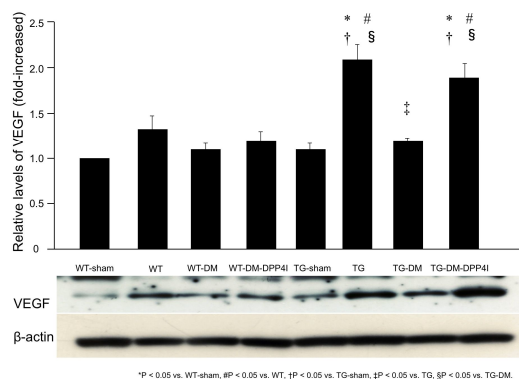


図 5. VEGF 濃度

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)

[雑誌論文](計 2 件)

1. Nakamura Y, Suzuki S, Shimizu T, Miyata M, Shishido T, Ikeda K, Saitoh S, Kubota I, Takeishi Y: High mobility group box 1 promotes angiogenesis from bone marrow-derived endothelial progenitor cells after myocardial infarction. *J Atheroscler Thromb* 22, 570-581
2. A Sato, S Suzuki, S Watanabe, T Shimizu1, Y Nakamura, T Misaka, T Yokokawa, T Shishido, S Saitoh1, T Ishida1, I Kubota, Y Takeishi: DPP4 inhibition ameliorates cardiac function by blocking the cleavage of HMGB1 in diabetic mice after myocardial infarction. *Int Heart J* (in press)

[学会発表](計 1 件)

A Sato, S Suzuki, S Watanabe, T Shimizu1, Y Nakamura, Y Takeishi, The DPP4 Inhibition Ameliorates Cardiac Function by Inhibiting the Cleavage of HMGB 1 in Diabetic Mice after Myocardial Infarction. 第 81 回日本循環器学会学術集会(2017.3.17-3.19, 金沢)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

中村 裕一 (NAKAMURA, Yuichi)
福島県立医科大学・循環器内科学講座・博士研究員
研究者番号: 10745798

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号:

(4)研究協力者

()