

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：32669

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08114

研究課題名(和文) 犬の僧帽弁におけるコルチゾールのタンパク質異化作用の影響

研究課題名(英文) Effects of cortisol on catabolism of canine mitral valve

研究代表者

原 康 (Hara, Yasushi)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・教授

研究者番号：00228628

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：小動物臨床領域において、クッシング症候群は犬で好発することが認識されている。クッシング症候群の犬は高コルチゾール血症により、様々な全身性の変化を引き起こす。その中で心血管系における影響は、左心室肥大や心機能障害が認められることが知られており、心不全へと至るリスクを有している。しかし、クッシング症候群がどのようにこれらの変化を引き起こすのか、特に病理学的な変化について詳細な原因は解明がなされていない。本研究では慢性化した高グルココルチコイド血症が心筋に対して与える影響を経時的に評価し、病理組織学的を比較・検討することで、心筋肥大の原因が心筋の線維化により引き起こされている可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

クッシング症候群が循環器におよぼす影響として心筋の肥大が起きることが知られていたが、その原因のひとつが心筋の線維化である可能性が示された。さらに心筋の線維化を引き起こす因子として、グルココルチコイドレセプターのダウンレギュレーションが同定され、同時にミネラルコルチコイドレセプターのアップレギュレーションも関与している可能性が示された。今後さらなる検討が行われることにより、心筋の線維化のメカニズムがより明らかになり、心機能低下を防ぐことに応用されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In the small animal medicine, it is recognized that Cushing's syndrome is common disease in dogs. Dogs with Cushing's syndrome cause various systemic changes due to hypercortisolemia. Among them, it is known that the effects on the cardiovascular system include left ventricular hypertrophy and cardiac dysfunction, and there is a risk of leading to heart failure. However, how Cushing's syndrome causes these changes, particularly the detailed causes of pathological changes, has not been revealed. In this study, the effect of chronic hyperglucocorticoidemia on myocardium was evaluated, and we showed that myocardial hypertrophy may be caused by myocardial fibrosis.

研究分野：脳神経外科

キーワード：クッシング症候群 高コルチゾール血症 心筋肥大 心筋線維化 グルココルチコイド受容体

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

小動物臨床領域において、クッシング症候群は犬で好発することが認識されており、私は僧帽弁閉鎖不全を併発する症例が少なくない点について着目した。犬のクッシング症候群は、高コルチゾル血症により多飲多尿、多食、脱毛などの皮膚病変、腹部膨満、パンティングなど全身性の変化を引き起こす。ヒトのクッシング症候群の患者においては循環器系におよぼす影響として、心筋肥大や拡張機能障害の存在が報告されており、血栓塞栓症や心不全のリスク因子になると考えられている。近年では、獣医療においても実験的に作成された高用量プレドニゾン投与犬やクッシング症候群罹患犬において、左室肥大や心機能障害が認められたことが報告されている。しかし、我々の知る限り、心筋の病理組織学的な変化を認めたとする報告はない。すなわち、犬における高グルココルチコイド血症が心筋肥大や心機能障害を引き起こす原因は解明されていない。高グルココルチコイド血症による心血管系への影響を抑え、合併症のリスクを軽減するにはこのような原因を解明することが必要であり、そのために病理学的な検討を実施する必要があると考えた。

### 2. 研究の目的

犬の長期的な高グルココルチコイド血症が心筋に対して形態的・機能的に与える影響を血液検査や心エコー図検査により経時的に評価し、これらのパラメータと病理組織像を比較・検討することによって、犬における心筋肥大や心機能障害の原因を調査することとした。

### 3. 研究の方法

健康なビーグル犬 6頭にプレドニゾン 2 mg/kg を 12 時間ごとに 84 日間、経口的に投与し、高容量プレドニゾン投与群を作成した。投与開始前、7、28、56、84 日後において、血液検査および超音波検査を実施した。実験動物のガイドラインにしたがって安楽死を実施し、心臓の摘出をした。またその他の目的で安楽死した健康なビーグル犬の心臓を再材し、比較材料として用いた。ヘマトキシリン・エオジン染色、PATH 染色、マッソン・トリクローム染色、グルココルチコイドレセプターおよびミネラルコルチコイドに対する免疫染色を実施した。それぞれの病理切片を画像解析ソフトウェアによって解析を行った。

### 4. 研究成果

心エコー図検査では左室自由壁および心室中隔において、投薬前と比較して、有意な肥大が認められ ( $p < 0.05$ )。ヘマトキシリン・エオジン染色および PATH 染色では有意な変化は認められなかった。左心室心筋と心室中隔心筋のマッソン・トリクローム染色において、膠原線維の割合が、コントロール群と比較してプレドニゾン投与モデル群の方が有意に増加していた ( $p < 0.05$ ) (表 1)。

群	左室壁心筋	右室壁心筋	心室中隔心筋	大動脈
コントロール群 (n=6)	0.16 %	0.76 %	0.15 %	21 %
高容量プレドニゾン投与群 (n=6)	0.56 % *	0.47 %	0.32 % *	25 %

表 1 : 膠原線維の割合

また、左心室心筋、右心室心筋および心室中隔心筋において、グルココルチコイドレセプターの陽性核の割合は有意に減少していた ( $p < 0.05$ ) (表 2)。

	左室壁心筋	右室壁心筋	心室中隔心筋	大動脈
コントロール群 (n=6)	3.30 %	4.20 %	3.90 %	$6.0 \times 10^{-4}$ %
高容量プレドニゾン投与群 (n=6)	0.61 % *	0.65 % *	0.31 % *	$2.4 \times 10^{-4}$ %

表 2 : グルココルチコイドレセプター陽性核の割合

さらに左心室心筋および右心室心筋において、ミネラルコルチコイドレセプターの陽性核の割合は有意に増加していた ( $p < 0.05$ )。

以上のことから、高用量のプレドニゾロンを継続的に投与した高コルチコイド血症の犬においては、主に左心室に心筋壁の肥厚および心筋の線維化が発生することが明らかとなった。また、高グルココルチコイド血症が持続している犬では、心筋線維症の発症に影響を与える因子として、GRのダウンレギュレーションが同定され、MRのアップレギュレーションも関与していることが示唆された。これらの研究結果から、自然発症のクッシング症候群や高用量プレドニゾロン投与犬で報告されている左室肥大や心機能障害は、左心室壁や心室中隔におけるコラーゲン線維の増加を特徴とする線維化によって生じていることが示唆された。

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 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yasushi, Hara	4. 巻 11
2. 論文標題 Transsphenoidal Surgery in Canines: Safety, Efficacy and Patient Selection.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Veterinary Medicine: Research and Reports	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.2147/VMRR.S175995">https://doi.org/10.2147/VMRR.S175995</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中 祥代、渋谷 比斗美、鈴木 周二、神野 信夫、余戸 拓也、原田 恭治、佐藤 朝香、原 康
2. 発表標題 健康ビーグル犬に対する高用量プレドニゾロン長期投与が心形態に及ぼす影響
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渋谷 比斗美、田中 祥代、鈴木 周二、神野 信夫、余戸 拓也、原田 恭治、佐藤 朝香、原 康
2. 発表標題 健康ビーグル犬に対する高用量プレドニゾロン長期投与が心筋組織に及ぼす影響
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----