

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2008～2010

課題番号：20249045

研究課題名(和文) 血管再生障害からみた糖尿病性心筋症の基礎解析と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Role of diseased angiogenesis in diabetic cardiomyopathy and its significance for the invention of novel therapeutic strategy.

研究代表者 室原豊明 (TOYOAKI MUROHARA)

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号：90299503

研究成果の概要(和文)：

本研究ではまず血管再生障害からみた糖尿病性心筋症の基礎解析を行った。糖尿病心筋組織標本における心筋毛細血管密度低下には心筋毛細血管に局在するアミノペプチダーゼの活性亢進を介して血管新生関連分子 SDF-1 α 濃度が低下し、その結果 Akt・eNOS シグナリング活性低下による血管新生低下が生じることが明らかとなった。以上より、心筋組織におけるアミノペプチダーゼ活性制御は糖尿病性心筋障害の新たな治療方法となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Mismatch between cardiomyocyte growth and reduced coronary angiogenesis promotes maladaptive cardiac remodeling including diabetic cardiomyopathy. Diabetes enhances cardiac aminopeptidase activity which promotes degradation in angiogenic chemokine SDF1- α , leading to reduced coronary angiogenesis and resultant cardiac remodeling. Our data suggest that regulation of cardiac aminopeptidase activity may be essential for therapeutic strategy of maladaptive cardiac remodeling in diabetes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	12,700,000	3,810,000	16,510,000
2009年度	11,500,000	3,450,000	14,950,000
2010年度	11,500,000	3,450,000	14,950,000
年度			
年度			
総計	35,700,000	10,710,000	46,410,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：(1)糖尿病 (2)糖尿病性心筋症 (3)血管新生

1. 研究開始当初の背景

糖尿病患者では、しばしば冠動脈の動脈硬化性病変が少ないにもかかわらず、心機能の低下した症例を見かける。このような症例では、心臓組織内の毛細血管密度の低下や心筋組織の線維化に代表される、「糖尿病性心筋障害」と呼ば

れる病態が存在するが、その機序や診断法は未確立である。本研究では、「糖尿病性心筋症」においては、血管新生能の低下のために十分な酸素と栄養が心筋細胞に伝達されずその結果心筋リモデリング・心機能不全が生じると仮説し、それを検証するとともに分子メカニズムを

解析し新規治療法開発における意義を明らかにすることを試みた。

2. 研究の目的

糖尿病性心筋症における血管新生能の低下のために心筋毛細血管密度の低下が生じ、これにより十分な酸素と栄養が心筋細胞に伝達されずその結果心筋リモデリング・心機能不全が生じると仮説しこれを検証・解析することによって新規治療法開発への応用を目指した病態意義を明らかにする。

3. 研究の方法

ストレプトゾトシン誘発により糖尿病(DM)化したラットを作成した。8週間高血糖暴露後、同一週令の非糖尿病化コントロール群含むラット心筋組織標本に対して、①抗CD31抗体及び抗dystrophin抗体を用いた免疫二重染色による心筋毛細血管密度・心筋細胞サイズ変化、②in situ および in vitro での心筋アミノプロテアーゼ活性の検出③免疫蛍光染色による心筋アミノプロテアーゼの局所発現の共焦点顕微鏡による観察④血管新生関連分子の活性変化に関する生化学的評価を行った。

4. 研究成果

DMラットは心筋毛細血管密度低下・心筋細胞サイズの低下、心筋間質線維化及び組織低酸素の増強を認めた(図1)。DM(+)ラットではin situ および in vitro ともに心筋アミノプロテアーゼ活性亢進を認めた。免疫蛍光染色により心筋組織におけるアミノプロテアーゼ発現は心筋毛細血管内皮に局在した。DMラット心筋では、血管新生ケモカイン SDF-1 α 含有量が有意に低下していたが、異なる血管新生ケモカイン VEGF 含有量には差はなかった(図2)。心筋 Akt/eNOS 活性はDMラット心筋で低下を認めたが、先天的に心筋アミノプロテアーゼ活性が欠損しているラットを糖尿病化し得た心

筋を用いて心筋 Akt/eNOS 活性を同様の方法で評価したところ、これら活性低下は糖尿病化によっても認められなかった(図3)。

心エコーによる心機能評価では、DMラット心筋では心拡張能の低下を認めたが、収縮能は保たれていた。先天的に心筋アミノプロテアーゼ活性が欠損しているラットを糖尿病化し心機能評価したところ、心拡張能の低下は認められなかった。

図1 DMラットでは心筋毛細血管密度低下・心筋細胞サイズが低下する。

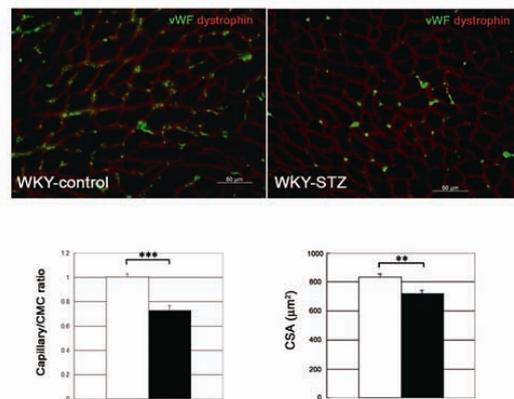


図2. DMラット心筋では、血管新生ケモカイン SDF-1 α 含有量が有意に低下している。

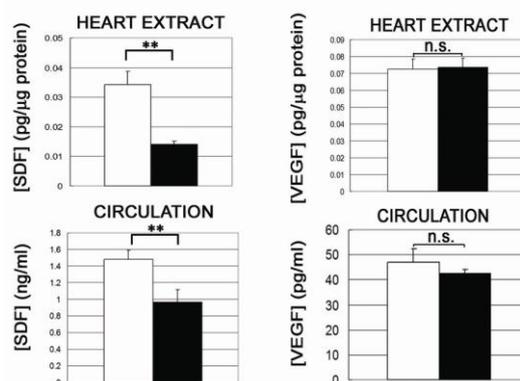
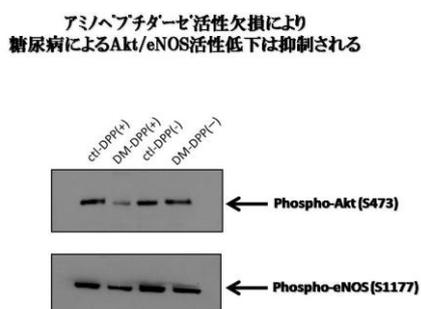


図3. DM ラット心筋では、Akt/eNOS 活性はアミノプロチナーゼ活性依存性に低下を認める。



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 10 件)

- ① Kikuchi R, Takeshita K, Uchida Y, Kondo M, Cheng XW, Nakayama T, Yamamoto K, Matsushita T, Liao JK, Murohara T. Pitavastatin-induced angiogenesis and arteriogenesis is mediated by Notch1 in a murine hindlimb ischemia model without induction of VEGF. *Lab. Invest.* 2011 in press (査読有)
- ② Morimoto Y, Kureishi Bando Y, Shigeta T, Monji A, Murohara T. Atorvastatin prevents ischemic limb loss in type 2 diabetes: Role of p53. *J. Atheroscler. Thromb.* 2011. in press (査読有)
- ③ Takeshita K, Inden Y, Murohara T. Coincidental finding of isolated congenital double-orifice mitral valve in two adult patients. *Eur. J. Echocardiogr.* 2011 (査読有)
- ④ Murohara T. Cord blood-derived early outgrowth endothelial progenitor cells. *Microvasc. Res.* 2010; 79:174-177. (査読有)
- ⑤ Li P, Shibata R, Maruyama S, Kondo M, Ohashi K, Ouchi N, Murohara T. Fenofibrate promotes ischemia-induced revascularization

through adiponectin-dependent pathway. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2010; 299:

E560-E566. (査読有)

- ⑥ Kondo K, Shintani S, Shibata R, Murakami H, Murakami R, Imaizumi T, Kitagawa S, Murohara T. Implantation of adipose-derived regenerative cells enhances ischemia-induced angiogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009; 29: 61-66. (査読有)

- ⑦ Matsushita K, Tamakoshi K, Yatsuya H, Wada K, Otsuka R, Takefuji S, Hotta Y, Kondo T, Murohara T, Toyoshima H. Further inflammatory information on metabolic syndrome by adiponectin evaluation. *Int. J. Cardiol.* 2008; 124: 339-344. (査読有)

- ⑧ Kitamura T, Asai N, Enomoto A, Maeda K, Kato T, Ishida M, Jiang P, Watanabe T, Usukura J, Kondo T, Costantini F, Murohara T, Takahashi M. Regulation of VEGF-mediated angiogenesis by the Akt/PKB substrate Girdin. *Nat. Cell Biol.* 2008; 10: 329-337. (査読有)

- ⑨ Shibata R, Skurk C, Ouchi N, Galasso G, Kondo K, Ohashi T, Kihara S, Murohara T, Walsh K. Adiponectin promotes endothelial progenitor cell number and function. 2008. *FEBS Lett.* 2008; 582:1607-1612. (査読有)

- ⑩ Sugiura T, Kondo T, Kureishi-Bando Y, Numaguchi Y, Yoshida O, Dohi Y, Kimura G, Ueda R, Rabelink TJ, Murohara T. Nifedipine improves endothelial function: role of endothelial progenitor cell. *Hypertension.* 2008; 52: 491-498. (査読有)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 坂東泰子ほか, Insulin Resistance Suppresses Cardiac Autophagy Through The AMPK/mTOR Pathway in Type 2 Diabetes.

第 14 回日本心不全学会総会
平成 22 年 10 月 7 日、東京、日本

②坂東泰子ほか,Cardiac autophagy is suppressed in diabetic rat in an insulin-dependent and high glucose-independent fashion.

International Society for heart Research
平成 22 年 5 月 15 日京都、日本

③坂東泰子ほか,Hyperinsulinemia inhibits cardiac autophagy through the AMPK-mTOR pathway and enhances cardiac insulin resistance by p53 accumulation.

第 74 回日本循環器学会総会
平成 22 年 3 月 6 日京都、日本

④坂東泰子ほか,Atorvastatin confers ischemic limb salvage in type 2 diabetes by modulation of angiogenesis and Akt/MDM2/p53 activity.

American Heart Association 2009 平成 21 年
11 月 18 日オランダ、米国

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：微小血管障害又はその関連疾患のバイオマーカー

発明者：室原豊明 坂東泰子 重田寿正

権利者：室原豊明 坂東泰子 重田寿正

種類：特許

番号：特願 2010-236964

出願年月日：平成 22 年 10 月 22 日

国内外の別：国内特許

○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

<http://www.med-nagoya-junnai.jp/>

<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/1639/1674/junkankinaikagaku.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

室原豊明 (MUROHARATOYOAKI)

名古屋大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：90299503

(2) 研究分担者

新谷 理 (SHINTANI SATOSHI)

名古屋大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：20309777

坂東 泰子 (BANDO YASUKO)

名古屋大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：60452190

前田健吾 (MAEDA KENGO)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80456673

柴田 玲 (SHIBATA REI)

名古屋大学・大学院医学研究科・特任講師

研究者番号：70343689

竹下享典 (TAKESHITA KYOSUKE)

医学部附属病院・講師

研究者番号：70444403

(3) 連携研究者

なし