

DPP-4 による心不全制御機構の解明

千葉大学大学院 薬学研究院 分子心血管薬理学
高野 博之

1. はじめに

最近、dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) 阻害薬が次世代の糖尿病治療薬として使われるようになった。DPP-4 (または CD26) は分子量 110kDa の膜糖タンパク質で、T リンパ球の活性化抗原である。また、DPP-4 分子は細胞外領域に dipeptidyl peptidase IV 活性を有している。食事摂取に伴い小腸から分泌されるインクレチン (GLP-1 や GIP) は DPP-4 により速やかに分解・不活化されるが、DPP-4 阻害薬によりインクレチンの分解が抑制され、インスリンの分泌が促進し血糖降下作用を発揮する。GLP-1 は、ラットの培養心筋細胞の培養液に添加すると細胞内の cAMP を活性化し、心不全ラットに投与すると心臓での糖の取り込みが亢進し心機能の改善がみられた。最近、DPP-4 阻害薬は、心臓における protein kinase A の活性化や血管新生の促進などを介して、心筋梗塞後の心不全を抑制するという研究結果が報告されたが、その作用機序はまだ十分に解明されていない。多くの研究では、GLP-1 が心臓に直接作用した際の効果を調べているが、血中の GLP-1 濃度は低いため、DPP-4 阻害薬の心臓に対する効果は GLP-1 を介した作用だけでは説明できない。DPP-4 活性により分解されるタンパク質は他にも多数存在し、ケモカインの stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) もその 1 つである。SDF-1 は心筋細胞に存在する受容体 (CXCR4) を介して、直接、心筋細胞に保護的に作用することが報告されている。他にも心臓保護的に作用する液性因子が DPP-4 により分解され心不全を発症・進展させている可能性が考えられる。

血糖の調節や T リンパ球の成熟や機能に関する DPP-4 の研究は進んでいるが、心臓における DPP-4 の研究はまだ十分に行われておらず不明な点が多い。本研究の目的は、心不全の発症・進展における DPP-4 の制御機構を解明し、DPP-4 を阻害することにより心不全にどのような作用を及ぼすのか検討して、新たな心不全治療法の開発を目指すことである。

2. 方法

(1) 急性心筋梗塞後の心臓に対する DPP-4 の関与についての解析

虚血により、転写因子の hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) はユビキチン化による分解が抑制され活性が亢進し、下流にある SDF-1 や CXCR4 の発現が増加することが知られている。また、心筋細胞で産生放出された SDF-1 はオートクライン、パラクラインに心筋細胞内で PI3K-Akt、ERK などのシグナル伝達経路を活性化し心保護的に作用することも報告されている。DPP-4 も HIF-1 α により発現が増加することから、心筋梗塞により心筋虚血が生じた心臓で DPP-4 がどのように変化し、DPP-4 阻害薬を投与することによりどのような影響がみられるか調べる。具体的には、急性心筋梗塞後に血液と心臓の DPP-4 活性がどのように変化するのか、また、DPP-4 阻害薬を投与することにより DPP-4 活性はどのような影響を受けるのかを解析するために、心筋梗塞前後に採血を行い、DPP-4 活性測定方法 (基質として H-Gly-Pro-AMC 溶液を使用) で計測する。また、心筋梗塞後に摘出した心臓を用いて同様に DPP-4 活性を計測する。摘出した 2 群 (コントロール群、DPP-4 阻害薬治療群) の心臓を用いて、心筋梗塞の範囲や置換した線維化の程度、血管数、アポトーシス細胞数などを病理学的に評価し、2 群 (コントロール群、DPP-4 阻害薬治療群) 間でどのような違いがみられるか検討する。

(2)DPP-4ノックアウトマウスを用いた検討

薬物によるDPP-4の阻害だけでなく遺伝子改変マウスでも同様の制御機構が認められるか調べるために、DPP-4ノックアウトマウスを用いて心筋梗塞モデルを作製し、心筋梗塞後の心臓リモデリングや心機能の変化を野生型マウスの場合と比較検討し分子機構を解析する。

3. 結果

我々はマウスの急性心筋梗塞モデルを用いて心筋梗塞後の心不全に対する DPP-4 阻害の効果を検討した。今回は、非糖尿病マウスを用いて冠動脈を結紮後、心筋梗塞を作製した。その後、無治療のコントロール群と、直後から DPP-4 阻害薬を餌に混ぜて投与した DPP-4 阻害薬治療群の 2 群に割り付けた。

- ・心筋梗塞 3 日後に血中の DPP-4 活性は増加したが、DPP-4 阻害薬投与群では DPP-4 活性は有意に抑制された。

- ・心エコーによる心機能の評価を行った結果、心筋梗塞 5 日後の心機能は DPP-4 阻害薬投与群で有意に改善し、DPP-4 ノックアウトマウス群でも同様の効果がみられた。心筋梗塞 5 日後の梗塞サイズは DPP-4 阻害薬投与群で有意に縮小し、DPP-4 ノックアウトマウス群でも同様の効果がみられた。

- ・心筋梗塞 5 日後の虚血領域における血管数は DPP-4 阻害薬投与群で有意に増加し、DPP-4 ノックアウトマウス群でも同様の効果がみられた。血管が増加した結果、心筋梗塞 5 日後の心筋虚血範囲は DPP-4 阻害薬投与群で有意に減少し、DPP-4 ノックアウトマウス群でも同様の効果がみられた。

- ・DPP-4 阻害による心臓保護作用に SDF-1 が関与しているかどうかを調べるために、SDF-1 の受容体である CXCR4 のアンタゴニストである AMD を投与したところ、DPP-4 阻害薬による心機能改善効果はキャンセルされた。また、DPP-4 ノックアウトマウス群でみられた心機能改善効果も AMD によりキャンセルされた。

4. 考察

本研究により、心筋梗塞後の心不全が DPP-4 阻害薬により改善されることから、DPP-4 は心不全の発症や進展に関与している可能性が示唆された。DPP-4 を阻害することにより、心筋梗塞サイズは縮小し、虚血領域の血管数の減少も改善した。これらの心臓保護効果に SDF-1 を介したシグナルが関与していると考えられた。今後は、DPP-4 阻害薬が心臓を構成するどの細胞に作用しているのか明らかにし、さらに詳細な作用機序を解明していく予定である。