

# 筋ジストロフィー関連心筋症の治療又は予防剤： 心筋細胞収縮力を向上させ、生存率を上げる

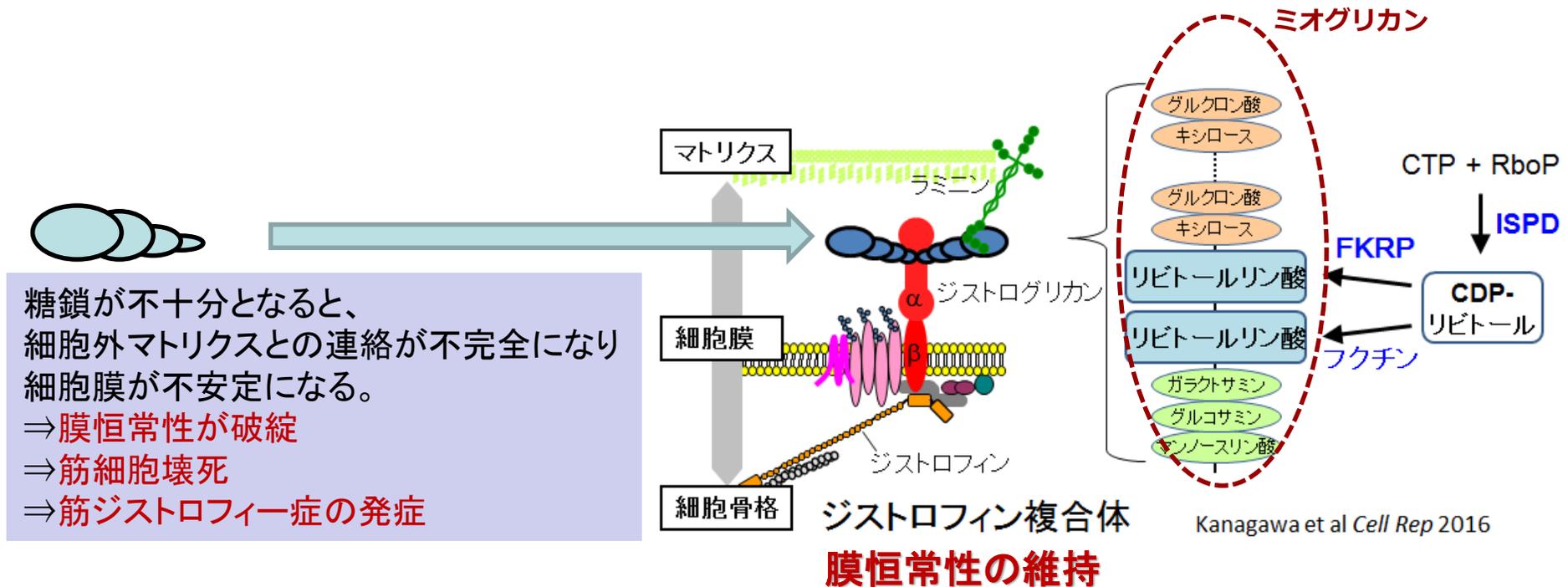


岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科  
システム生理 講師 片野坂友紀

2019年11月14日

## 福山型筋ジストロフィー症(糖鎖収縮酵素フクチンを原因遺伝子とする。)

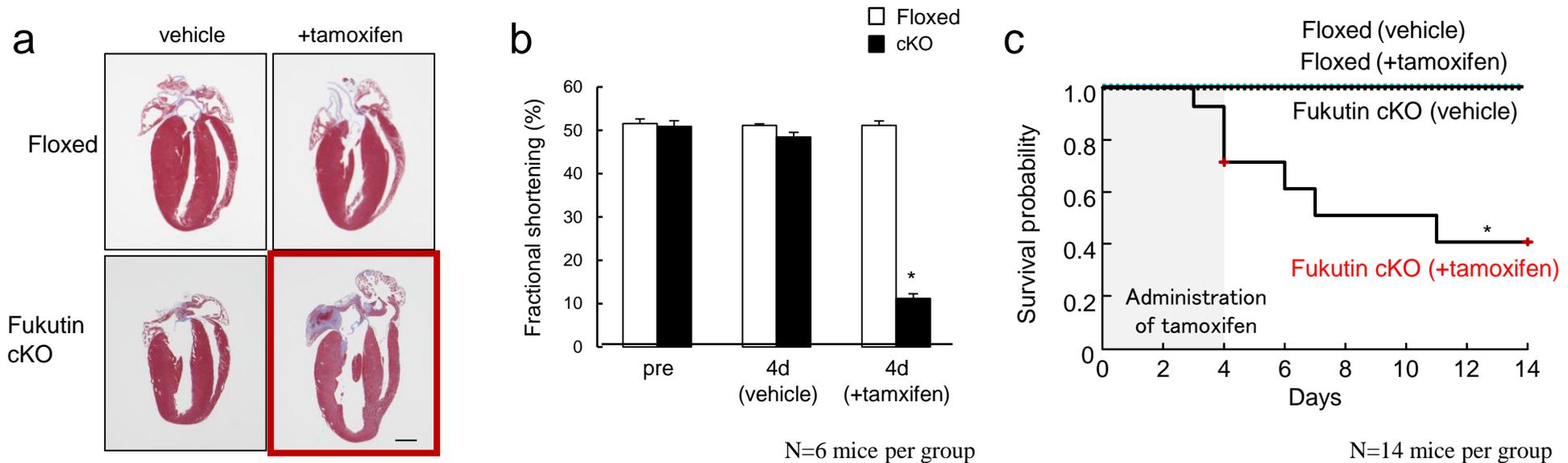
- ✓ 福山型筋ジストロフィーは、日本では二番目に多い筋ジストロフィー症である。その原因遺伝子は糖鎖修飾酵素フクチン(fukutin: FKTN)であり、遺伝子変異によって $\alpha$ -ジストログリカン( $\alpha$ -dystroglycan:  $\alpha$ -DG)の糖鎖修飾が不十分となり、筋ジストロフィー症を発症する。
- ✓ 我々は、痛風治療薬として臨床使用されているコルヒチンが福山型先天性筋ジストロフィーのモデルマウスにおける心筋症を改善することを見出し、本発明に至った。



FKRP; Fukutin-related protein

ISPD; isosprenoid synthase domain-containing protein

## フクチンを欠損させた心臓をもつマウスは、重篤な心筋症を招く。 (本発明に用いたモデルマウスの作成)



### 図aの説明

成体マウスの腹腔内にTamoxifenを4日投与した(右列)。

Fukutin cKOマウスは、心筋細胞内にのみTamoxifen誘導型のプロモータをもっており、creリコンビナーゼを発現することができる。このため、Fukutin cKOマウスは、心臓でのみFukutinを欠損したマウスとなる。

**Fukutin cKOマウス(右下)は、重篤な心室拡大を示した。  
⇒福山型筋ジストロフィー症・心筋症モデルマウスとなる。**

### 図bの説明

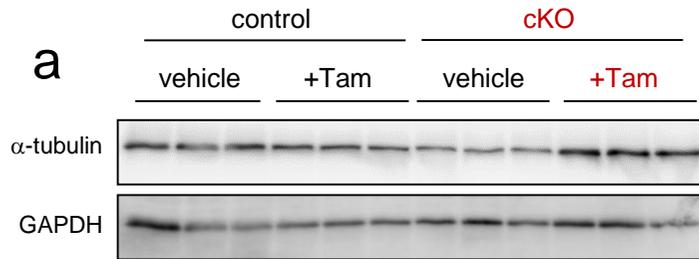
心機能をエコーで解析した。

Fukutin cKOマウス(黒棒)は、Tamoxifen投与4日後に、重篤な心不全を呈した(右、黒棒)

### 図cの説明

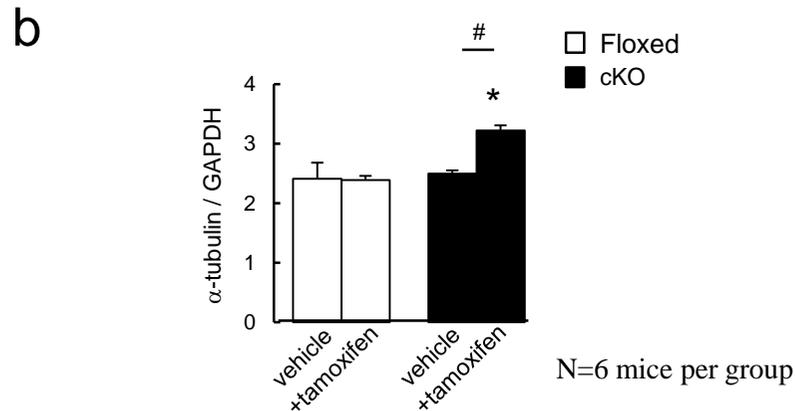
生存率を示す。Tamoxifen投与したFukutin cKOマウスは、投与から10日で50%の生存率を示す⇒早死する。

## フクチンKOマウスの心筋細胞内では、微小管が増加・凝集している。



図aの説明

心臓をすりつぶし、全タンパク中の微小管構成因子( $\alpha$ -tubulin)の量を解析した。Tamoxifenを投与したfukutin cKO心臓サンプルは右3列(3つの異なる心臓を解析)。

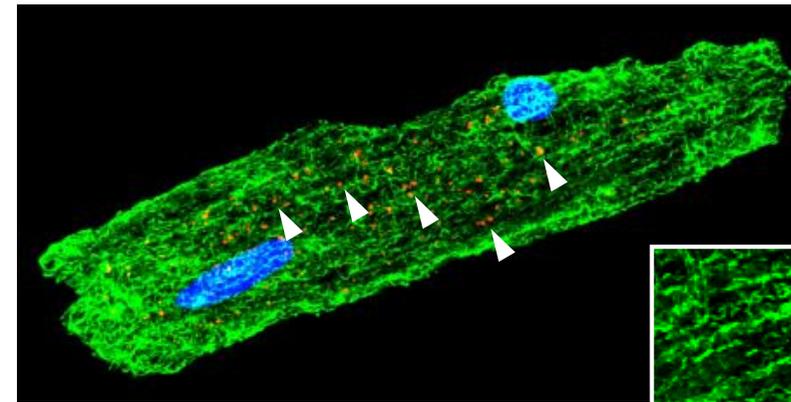


図bの説明

図aのバンドを定量し、グラフ化した。Tamoxifenを投与したfukutin cKO心臓サンプルは有意に $\alpha$ -tubulin量が多い。

C

Fukutin欠損ノックアウトマウスから単離した心筋細胞



収縮軸に従った微小管の凝集(緑)  
微小管ネットワークを維持するゴルジの分裂(赤)

図cの説明

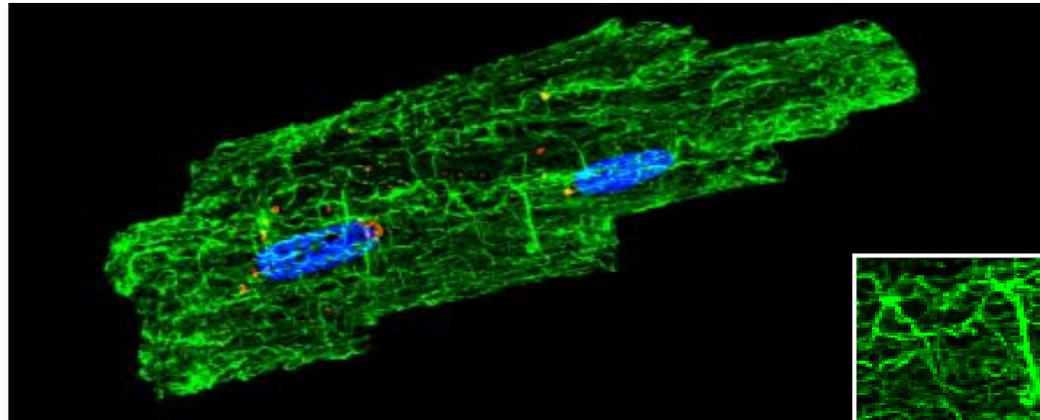
Tamoxifenを投与したfukutin cKO心臓サンプルより、心筋細胞を単離し、微小管を緑、微小管の起点となるゴルジ体を赤で示す。

正常細胞とは異なり、fukutin cKO細胞では、微小管が、心筋細胞の収縮軸に沿って凝集しているため、収縮の抵抗となっていることがわかる。⇒収縮力の低下を招く。

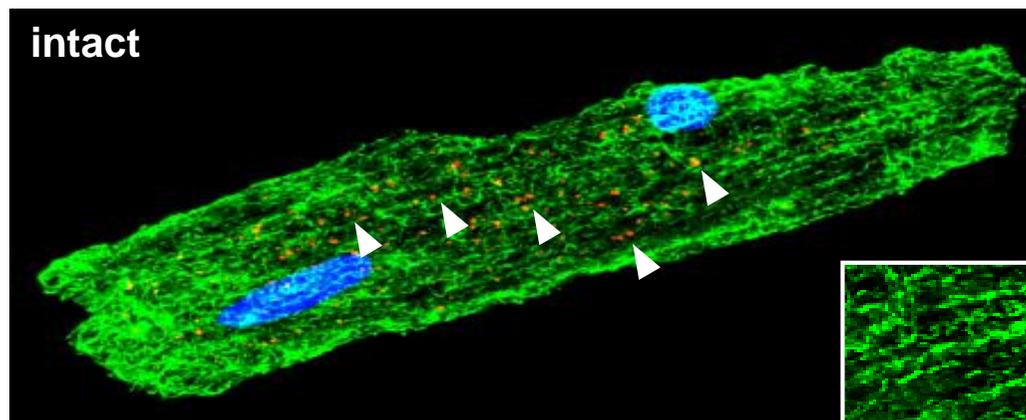
正常細胞では、ゴルジ体は核の横に凝集しているが、Fukutin cKO細胞では、ゴルジ体が分裂し点在する。⇒微小管の起点構造が破綻して、微小管凝集を招く。

# 正常細胞とフクチンKO細胞のゴルジー微小管ネットワークの違い

Vehicle (正常マウス)

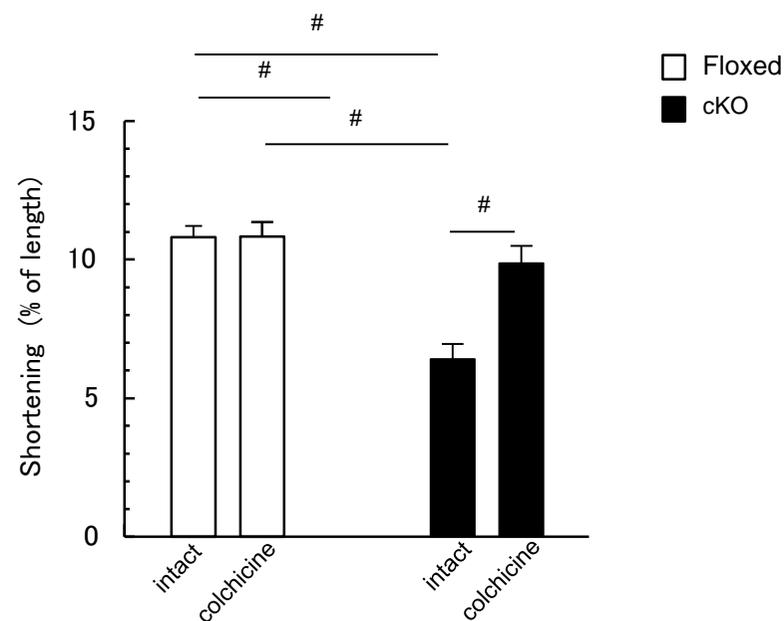


+tamoxifen (KO)



収縮軸に従った微小管の凝集(緑)  
微小管ネットワークを維持するゴルジの分裂(赤)

## コルヒチン(FDA認可薬)で微小管凝集を阻害すると、 心筋細胞収縮率が改善する。



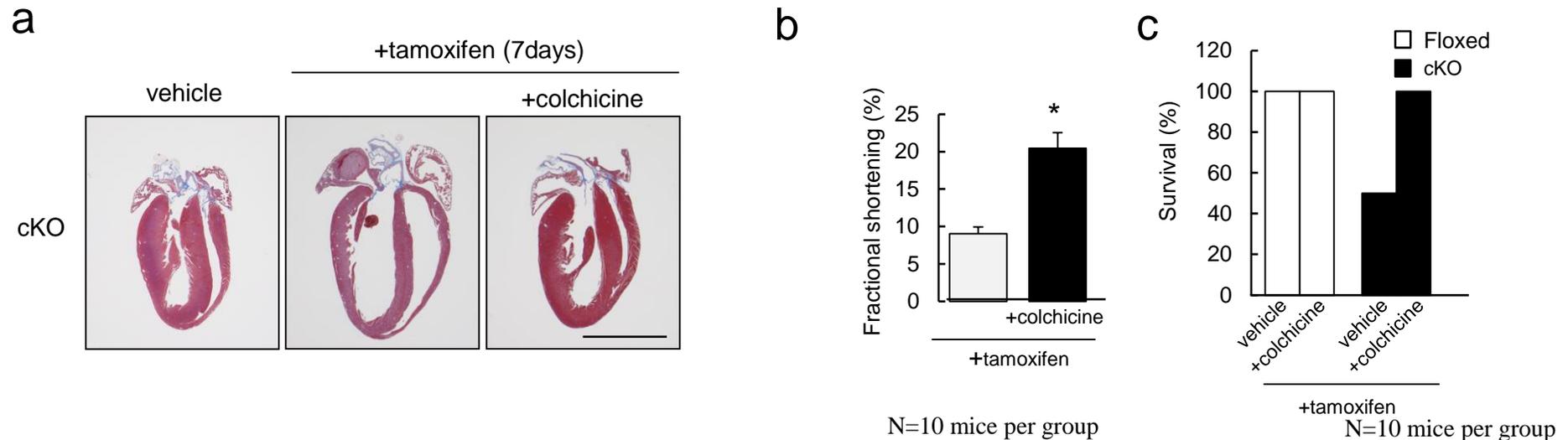
n=16-20 cells from 4-5 mice per group

### 図の説明

左(白棒)はfloxed マウス(正常コントロール)、右(黒棒)はfukutin cKOマウスから単離した心筋細胞である。いずれのマウスもタモキシフェン処理済であるため、fukutin cKOマウスは心不全を呈している。細胞の収縮率を測定し、グラフにした。

コルヒチン処理(10 $\mu$ M コルヒチンで1時間処理)した心筋細胞(右、黒棒)は、収縮力が有意に改善された。⇒心機能の改善が期待できる。

## コルヒチンで微小管凝集を阻害すると、心機能・生存率が改善する。



### 図の説明

- a  
Fukutin cKO マウス心臓のHE染色像。  
左は、vehicle(コントロール)、中央はTamoxifen投与開始から7日目(Tamoxifenは1~4日目に投与)、右端はTamoxifen投与と同時にコルヒチンを投与したマウスの心臓。  
中央は、心拡大がみられる。  
右端はTamoxifen投与しているにもかかわらず、コルヒチンを投与しているため心拡大は見られない。
- b  
Tamoxifen投与したFukutin cKO マウス心臓の心機能を示す。コルヒチン処理(黒棒)により、心機能が改善した。
- c  
Tamoxifen投与したFukutin cKO マウス(黒棒)は、コルヒチン処理(黒棒)により、有意に生存率が上昇した。

(コルヒチン処理: 投与初日に0.4mg/kg, 2日目に0.6mg/kg, 3日目に0.8mg/kg, 4日目以降は1日当たり1mg/kgを最長で10日間投与)



# 従来技術とその問題点

- ✓ 筋ジストロフィーとは骨格筋細胞の壊死を主病変とする遺伝性筋疾患の総称である。形質膜のジストログリカン複合体(DGC)を構成するいずれかの分子に変異があると筋ジストロフィーを発症する。
- ✓ 筋ジストロフィーの主な症状は、運動機能の低下であるが、拘縮・変形、呼吸機能障害、心筋障害、嚥下機能障害など様々な機能障害や合併症を伴う。なかでも心筋症は重篤な疾患であり、心移植以外に有効な治療法がないために、主要な死因となる。



# 新技術の特徴・従来技術との比較

- ✓ 心筋症・心不全は、心移植以外に有効な治療法がない。このため、収縮力改善を目指した治療薬が見つければ、大変なアドバンテージとなる。
- ✓ コルヒチンは、既にFDAに認可された薬剤であることもアドバンテージと言える。



## 想定される用途

- ✓筋収縮力の改善をターゲットとした治療戦略であるので、別の原因から生じる筋ジストロフィー関連心筋症や心不全の改善薬として期待できる。
- ✓骨格筋収縮力改善を介して、筋細胞壊死を抑制し、筋ジストロフィーそのものの治療も期待できる可能性がある。



# 実用化に向けた課題

- コルヒチンは、既にFDA認可されている薬物であるが、濃度と投与のタイミングについて、対象疾患ごとに異なる可能性があるため、詳細な検討が必要である。
- 今後、デュシェンヌ型筋ジストロフィーや、心不全について実験データを取得し、適用疾患を増やす場合の条件設定を行っていく必要がある。



# 企業への期待

実用化に向けて、製薬会社等と本マウスを用いた共同研究を希望します。

①デュシェンヌ型筋ジストロフィーや、心不全を対象としたコルヒチンの効果を検討する。

② コルヒチンは、既にFDA認可されている薬物であるが、濃度と投与のタイミングについて、対象疾患ごとに異なる可能性があるので、詳細な検討が必要である。



# 本技術に関する知的財産権

- ・ 発明の名称  
又は予防剤 : 筋ジストロフィー関連心筋症の治療
- ・ 出願番号 : PCT/JP2019/9742
- ・ 出願人 : 国立大学法人岡山大学、  
国立大学法人神戸大学
- ・ 発明者 : 片野坂友紀、成瀬恵治、氏原嘉洋、  
戸田達史、金川基



# お問い合わせ先

## 岡山大学

大学院医歯薬学総合研究科 システム生理

片野坂 友紀

TEL 086-235-7117

FAX 086-235-7438

e-mail [ytanigu@okayama-u.ac.jp](mailto:ytanigu@okayama-u.ac.jp)

岡山大学 研究推進機構 知的財産プロデューサー

長佐古 治

TEL 086-251-8417

FAX 086-251-8961

e-mail [sangaku2@adm.okayama-u.ac.jp](mailto:sangaku2@adm.okayama-u.ac.jp)