

令和元年6月14日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09508

研究課題名(和文) 糖尿病における圧受容器機能低下が心筋細胞へ与える影響の解明

研究課題名(英文) Effects of baroreflex receptor dysfunction on cardiomyocyte in diabetes mellitus

研究代表者

坂本 昌也 (Sakamoto, Masaya)

東京慈恵会医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40419742

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)：2型糖尿病にておいて、圧受容器機能低下による血圧変動増大が心筋リモデリングを引き起こす分子機構は不明であった。我々は2型糖尿病モデルラット(GK/Slc)に血圧変動増大を合併させた独自のin vivoモデル(Sino-aortic denervation(以下SAD))と、ラット心筋初代培養細胞、及び線維芽細胞に新たに開発したin vitro血圧変動刺激装置を使用して解析を行った。結果、その機構に、アラキドン酸カスケードの一経路である、12-LOXが関与しており、その発現の抑制にて心筋の線維化並びに機能の改善がなされる事が判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病合併心不全の予後は以前として悪化の一途を辿っている。今回12-lipoxygenaseがその発現に関与している事が明らかとなった。既存の薬剤にておいても一部その発現に関与していることも明らかとなった。ヒトにおいても圧受容器の機能測定が可能となっており、今後の臨床応用により糖尿病患者の予後改善へと結びつける研究の一助となった。

研究成果の概要(英文)：In type 2 diabetes, the molecular mechanism by which an increase in blood pressure fluctuation due to dysfunction of baroreceptor function causes myocardial remodeling is unknown. We developed a unique in vivo model (Sino-aortic denervation (SAD)) in which type 2 diabetes model rat (GK / Slc) was combined with increased blood pressure fluctuation, and newly developed rat primary rat cultured cells and fibroblasts. The analysis was performed using the in vitro blood pressure fluctuation stimulator. As a result, it was found that 12-LOX, which is one pathway of the arachidonic acid cascade, is involved in the mechanism, and suppression of its expression results in improvement of myocardial fibrosis and function.

研究分野：代謝・内分泌

キーワード：圧受容器機能 糖尿病

1. 研究開始当初の背景

近年、高血圧のみならず、「血圧変動の増大」が心血管イベント発症の新たなリスクである事が報告されているが、依然としてその機序は不明である。申請者はこれまで2型糖尿病患者において圧受容器反応が低下し、血圧変動が増大する事を確認している。現在、予備的検討として

2型糖尿病モデル動物において圧受容器低下により血圧変動が増大すると共に心臓線維化・心機能低下が増悪すること。心筋細胞への周期的な負荷変動が炎症性サイトカイン発現を誘導させること、を確認している。

2. 研究の目的

本研究は、上記知見を基に、2型糖尿病における圧受容器反応低下および血圧変動の増大が血行動態に与える影響と心筋リモデリングに至るまでの分子機構並びに人での圧受容器の役割を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

2型糖尿病において、圧受容器機能低下による血圧変動増大が心筋リモデリングを引き起こす分子機構を明らかにする。2型糖尿病モデルラット(GK/Slc)に血圧変動増大を合併させた独自の *in vivo* モデル(Sino-aortic denervation (以下 SAD))と、ラット心筋初代培養細胞、及び線維芽細胞に新たに開発した *in vitro* 血圧変動刺激装置を使用して解析を行う。また心筋リモデリング進行の分子機序の上流は申請者が糖尿病性心筋症発症に関わる因子として報告している12-LOXの関与が予備知見で確認されており、12-LOX心筋特異的トランスジェニックマウス(当施設のみ保有)、及びノックアウトマウスを使用し、その関与の詳細を明らかにする。人においては圧受容器測定方法としてタスクフォースモニターがあり、それを用いて検証する。

4. 研究成果

In vivo

SADの施行で心機能が低下することは知られていたが、長期間経過を観察した報告はない。2型糖尿病モデルGKラットではSAD施行時の心機能低下幅がより顕著で進行性であり、線維化の進行も著しいことが判明した。また、心筋組織内の12LOX発現は、GK-SAD群で顕著に増加、その発現はSAD後12週、1年経過時も同等であり、慢性的な12LOXの発現が認められた。さらにこれらは、直接的12-LOX阻害薬であるパイカレインで心筋線維化の予防が可能である可能性が示されている。

糖尿病患者において、SGLT2阻害薬がCVDイベントリスクを改善させることが報告されているが、詳細な機序は不明である。そこで、SGLT2阻害薬がBRSと心筋細胞での12LOX発現の低下を介して心筋肥大を改善するか否かの検討を行った。方法は、12週齢の糖尿病モデルラット(GK/slcl)にsham手術とSADを施し、18週齢より6週間SGLT-2(Canagliflozin)を投与した。24週齢で血圧テレメトリーを挿入し、2日間BRSを測定した後解剖を行い、心筋組織を解析した。結果は、sham群にSGLT-2を投与することでBRS,12LOX,心筋肥大を改善したが、SADを施した群では、これらの効果は消失した。つまり、SGLT-2がBRS改善させ、12LOX発現の低下を介して心筋肥大を改善させている可能性が示唆された。

In vitro

In vitro 加圧変動モデルシステム開発にあたり、大気圧を変更する方法を選択したが、様々な圧変化パターンにおいて、培養液中の溶存酸素濃度が一定とまらない可能性があり、まず一定圧といくつかの変動圧パターンでの溶存酸素濃度が変化しないパターンを確立した。

次に心筋初代培養細胞に対して圧パターンを振り分けてNADPH oxidaseの発現を確認したところ、一定圧に比べて半分の圧-時間曲線下面積であるはずの変動圧でも同程度に12LOXとNOX4の発現が亢進していることが明らかとなった。これは一定高圧状態よりも変動圧の方が細胞にとってストレスとなる可能性を示す知見であり臨床データ及びIn Vivo dataを裏付けするものである。

ヒトにおいては、2型糖尿病患者において、圧受容器の低下と24時間血糖変動並びに外来でのHbA1cのvisit-to-visitの変動と相関することもわかり、動物レベルでの分子機構の検証のさらなる発展を進める基盤となった(今後は血圧の変動との相関を進め、ヒト血液中の12-LOXの測定も検討する予定である)

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2件)

Matsutani D, **Sakamoto M [Equal contributor·corresponding author]**, Iuchi H, Minato S, Suzuki H, Kayama Y, Takeda N, Horiuchi R, Utsunomiya K: Glycemic variability in continuous glucose monitoring is inversely associated with baroreflex sensitivity in type 2 diabetes: a preliminary report. **Cardiovascular diabetology** 2018, 17(1):36. [IF 5.235]

Sakamoto M, Matsutani D: Clinical implications of baroreflex sensitivity in type 2 diabetes. **Int Heart J** (in press). 2018. [IF 1.826]

〔学会発表〕(計 1件)

2型糖尿病において外来時HbA1c変動はHbA1cとは独立して圧受容器感受性の低下に關与する
松谷 大輔(東京慈恵会医科大学 糖尿病・代謝・内分泌内科), 坂本 昌也, 宇都宮 一典
41回日本高血圧学会総会.2018

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

http://www.diabendo.jp/study/high_Blood_Pressure.html

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：武田 憲彦

ローマ字氏名：Takeda Norihiko

所属研究機関名：東京大学, 医学部附属病院

部局名：循環器内科

職名：医学部附属病院 助教

研究者番号(8桁): 40422307

(2)研究協力者

研究協力者氏名：松谷大輔

ローマ字氏名：Matsutani Diasuke

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。