

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K09543

研究課題名(和文) モデル動物と患者遺伝子検体の解析に基づく周産期心筋症の病態解明と革新的治療法開発

研究課題名(英文) Development of novel therapy for postpartum cardiomyopathy based on the comprehensive analysis of animal model and clinical gene sample

研究代表者

大谷 健太郎 (OTANI, KENTARO)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・上級研究員

研究者番号：50470191

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)：先行研究にて我々は、内因性ナトリウム利尿ペプチド系を欠損したマウスが授乳期に周産期心筋症様の心機能低下を伴う顕著な心肥大を呈することを見出した。本研究で新たに、ナトリウム利尿ペプチド系を欠損したマウスでは授乳に伴い上昇した血中アルドステロンが中枢のミネラルコルチコイド受容体を介して心臓局所における炎症反応を惹起し、心肥大を誘発することが明らかとなった。また、周産期心筋症患者ではナトリウム利尿ペプチドクリアランス受容体遺伝子に遺伝子多型を有する割合が多いことを見出すとともに、抗IL-6受容体抗体あるいは選択的アルドステロンブロッカーが周産期心筋症に対する新たな治療薬となり得る可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

周産期心筋症は心疾患既往のない女性が妊娠・産褥期に心不全を発症し、拡張型心筋症に類似した病態を呈する疾患であり、現状では疾患特異的な診断および治療法は存在しない。本研究の結果、周産期心筋症の新たな治療標的となり得る生体内のシグナル経路を特定するとともに、周産期心筋症の発症予測に応用可能な遺伝子多型を見出すことができた。今後、本研究結果を基にした周産期心筋症に対する疾患特異的な診断・治療法の開発が期待される。

研究成果の概要(英文)：In our previous work, we demonstrated that mice lacking guanylyl cyclase-A (GC-A), a receptor for atrial and brain natriuretic peptides, show severe postpartum cardiac hypertrophy and dysfunction similar to postpartum cardiomyopathy (PPCM). Additionally, two weeks of lactation significantly increased the plasma aldosterone level in GC-A-knockout mice (GC-A-KO), but not in wild-type mice. Here, we examined the mechanisms underlying the lactation-induced and aldosterone-dependent cardiac hypertrophy in GC-A-KO. In GC-A-KO heart, the IL-6 mRNA level was significantly upregulated during lactation. Additionally, weekly intraperitoneal injection of anti-IL-6 receptor antibody tended to suppress the lactation-induced cardiac hypertrophy in GC-A-KO. Taken together, our data implied that natriuretic peptides, aldosterone receptor antagonist, and anti-interleukin-6 receptor antibody have potential to be therapeutic agents for PPCM.

研究分野：循環器内科学

キーワード：周産期心筋症 ナトリウム利尿ペプチド 授乳 心肥大

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

周産期心筋症 (Peripartum Cardiomyopathy: PPCM) は、「心疾患既往のない女性が、産褥期に突然の心機能低下を来して心不全を発症する疾患」である。現状の治療として、標準的な心不全治療に準じた利尿剤・強心薬・ACE 阻害薬などの投与が行われてはいるが、PPCM 重症例の中には補助人工心臓の装着や心臓移植が検討される例、さらには死亡例もある。日本での PPCM 発症頻度は、約 2 万出産に 1 例であるが、「35 歳以上の高齢出産では PPCM の発症頻度が約 2 倍に上昇すること」が明らかとなっている (*Circ J.* 2011;75:1975-1981)。日本では、晩婚化・晩産化が急速に進んでおり、今後 PPCM 罹患率の上昇が危惧される。そのため、PPCM の病態解明・画期的治療法開発は我が国にとって急務である。

心房性・脳性ナトリウム利尿ペプチド (ANP・BNP) は、利尿・ナトリウム利尿・血管拡張・心臓リモデリング抑制・虚血組織における血管新生促進等の多彩な生理作用を有する、心臓で産生・分泌される循環ホルモンである (*BBRC* 1984;118:131-9, *Nature* 1988;332:78-81)。我々は先行研究にて ANP・BNP の共通受容体 Guanylyl Cyclase-A (GC-A) の遺伝子欠損マウス (GC-A-KO) の母獣生存率が出産・授乳の反復により有意に低下すること、かつ、GC-A-KO が授乳期に PPCM 様の心機能低下を伴う顕著な心肥大・心線維化を呈することを見出した (*血管* 2014;37:93-7)。これらの結果は、ANP・BNP/GC-A 系シグナルの消失・機能不全が PPCM の病態形成に関与することを強く示唆するものである。

一方、子癩前症患者がナトリウム利尿ペプチド関連遺伝子多型を有することが近年明らかにされ (*Nature* 2012;484:246-252)、周産期循環器疾患とナトリウム利尿ペプチド系の関連が注目されている。しかし、周産期におけるナトリウム利尿ペプチド系の病態生理学的意義については未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究の目的は、我々が確立した PPCM モデルマウス (GC-A-KO) を用いた動物実験を通して PPCM の病態解明および PPCM に対する革新的治療法開発を目指すとともに、PPCM 患者ゲノムを用いた遺伝子多型解析から PPCM の発症予測に有用な遺伝子変異を探索することである。

3. 研究の方法

本研究では 10 週齢の雌性マウスを用い、解析は主に未妊娠時あるいは授乳 2 週目のタイミングで実施した。

先行研究にて我々は、周産期心筋症モデルマウスである GC-A-KO では授乳により血中アルドステロン濃度が有意に増加することを明らかにした。また、授乳期に選択的アルドステロン

ブロッカーを投与することにより、GC-A-KO における授乳誘発性心肥大が有意に抑制されることを明らかにした。さらに、神経特異的にアルドステロン受容体（ミネラルコルチコイド受容体）を欠損したマウスと GC-A-KO を掛け合わせることで、GC-A-KO における授乳誘発性心肥大が有意に抑制されることを併せて見出した。脳内アルドステロン—ミネラルコルチコイド受容体系の活性化は心血管系における酸化ストレス増大、炎症促進、交感神経活動亢進など、さまざまな生体反応を惹起することが知られている。そこで、GC-A-KO における授乳誘発性心肥大の分子機序を解明するために、心臓組織を用いたマイクロアレイ解析を行った。

次に、炎症性サイトカインに対する抗体医薬品、抗酸化剤および β 遮断薬が PPCM の革新的治療薬となり得るかを検討するため、上述の薬剤を授乳期の GC-A-KO へ投与することで授乳誘発性心肥大の病態改善が認められるかを検討した。

最後に、正常産婦および周産期心筋症患者ゲノム検体を用いて、ナトリウム利尿ペプチド関連遺伝子の多型解析を行った。本研究では、高血圧や心肥大の発症と関連する事が過去に報告されているナトリウム利尿ペプチド関連遺伝子（GC-A、Corin、ANP/BNP）の遺伝子多型に加え、近年高血圧・心血管疾患のリスク因子であるとの報告が相次いでいるナトリウム利尿ペプチドクリアランス受容体（Npr3）の遺伝子多型についても併せて検討を行った。

本研究において、マウスを用いた動物実験は実験動物愛護に充分配慮し、かつ動物実験計画書を国立循環器病研究センター動物実験委員会に提出し、承認を受けた上で実施した。一方、遺伝子解析は「ヘルシンキ宣言に基づく倫理原則」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、ならびに本邦における法的規制要件を遵守するとともに、国立循環器病研究センター倫理委員会の承認を得て、患者または家族への十分な説明の後、書面による同意を得た上で実施した。また、患者登録施設においても同様に倫理委員会の承認、書面による同意を得た上で実施した。

4. 研究成果

マイクロアレイ解析の結果、授乳により発現が 2 倍以上変動するプローブが野生型マウスで 3,246 個、GC-A-KO で 2,336 個同定された。さらに、授乳期の GC-A-KO の心臓において、授乳期の野生型マウスの心臓に比して発現が 1.5 倍以上変動したプローブが 27 個同定された。これら同定した発現変動遺伝子群を用いてパスウェイ解析を行った結果、GC-A-KO における授乳誘発性心肥大に炎症性サイトカインが関与する可能性が示唆された（表 1）。

次に、未妊娠および授乳 2 種目の心臓組織のインターロイキン-6（IL-6）mRNA 発現量を定量 PCR により評価したところ、GC-A-KO では心臓組織における IL-6 mRNA 発現が授乳により有意に上昇することが明らかとなった。また、授乳期の GC-A-KO の心臓では IL-6 シグナルのシグナル伝達物資である STAT3 の活性化が認められた。さらに、授乳期

表 1. Ingenuity Pathway Analysis による上流因子解析結果

Upstream regulator	Activation z-score	P value of overlap	Adjusted P
TNF	1.958	2.00E-04	4.12E-03
Ccl2		1.25E-03	1.22E-02
IL22		5.97E-03	2.58E-02
IL6		6.15E-03	2.61E-02
IL1B	-0.828	1.14E-02	3.57E-02

に抗マウス IL-6 受容体抗体 (MR16-1) を投与することにより、GC-A-KO における授乳誘発性心肥大に抑制傾向が認められた (図 1)。以上の結果から、GC-A-KO における授乳誘発性心肥大に、心臓局所における IL-6 シグナルが関与する可能性が示唆された。

次に、GC-A-KO の授乳誘発性心肥大に対する β 遮断薬 (メトプロロール)、副交感神経興奮薬 (ニコチン) および抗酸化薬 (テンポール) 投与の効果について検討を行った。その結果、いずれの薬剤も GC-A-KO の授乳誘発性心肥大を抑制しなかったことから、脳内アルドステロン—ミネラルコルチコイド受容体系の活性化を介した交感神経活動亢進および酸化ストレス増大は GC-A-KO における授乳誘発性心肥大の誘因因子ではないことが明らかとなった。

遺伝子多型解析の結果、周産期心筋症患者ゲノム検体では GC-A 遺伝子における CT 配列の繰り返し、塩基配列の挿入/欠失、*Corin* 遺伝子における一塩基多型、*ANP/BNP* 遺伝子における一塩基多型のいずれも検出できなかった。一方、*Npr3* 遺伝子の遺伝子座 (SNP ID: rs1173766 および rs1173771) を精査したところ、どちらの遺伝子座においても、正常産婦群に比し、周産期心筋症患者群で Minor allele のホモ接合体の割合が有意に高値であった。また、正常産婦群・周産期心筋症患者群ともに、一方の遺伝子座において SNP を認めた場合には、他方の遺伝子座においても同様に SNP を有していた。

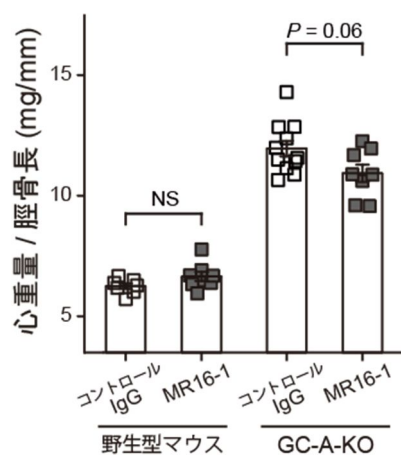


図 1. 授乳誘発性心肥大に対する抗 IL-6 受容体抗体の効果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 0件）

1. 著者名 大谷健太郎、神谷千津子、徳留健	4. 巻 89
2. 論文標題 妊娠中および産褥期における心臓ナトリウム利尿ペプチドの生理的意義の解明	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 循環器内科	6. 最初と最後の頁 386-394
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Otani K, Tokudome T, Kamiya CA, Mao Y, Nishimura H, Hasegawa T, Arai Y, Kaneko M, Shioi G, Ishida J, Fukamizu A, Osaki T, Nagai-Okatani C, Minamino N, Ensho T, Hino J, Murata S, Takegami M, Nishimura K, Kishimoto I, Miyazato M, Harada-Shiba M, Yoshimatsu J, Nakao K, Ikeda T, Kangawa K.	4. 巻 141
2. 論文標題 Deficiency of natriuretic peptide signaling promotes peripartum cardiomyopathy-like remodeling in the mouse heart.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circulation	6. 最初と最後の頁 571-588
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.039761	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 3件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大谷健太郎、徳留健
2. 発表標題 Physiological roles of endogenous natriuretic peptides during gestation and peripartum period
3. 学会等名 第24回 日本心血管内分泌代謝学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大谷健太郎、神谷千津子、徳留健
2. 発表標題 Cardiac natriuretic peptides protect the heart from lactation-dependent remodeling
3. 学会等名 第85回 日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大谷健太郎、徳留健、神谷千津子、池田智明
2. 発表標題 モデル動物を用いた周産期心筋症発症機序の解明
3. 学会等名 第67回日本心臓病学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大谷健太郎、徳留 健、神谷千津子、西村博仁、寒川賢治
2. 発表標題 周産期心筋症発症における内因性ナトリウム利尿ペプチド系の意義
3. 学会等名 第3回 日本心筋症研究会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 厚生労働科学研究（難治性疾患政策研究事業）「周産期（産褥性）心筋症の、早期診断検査確立研究の継続と診断ガイドライン作成」班・「特発性心筋症に関する調査研究」班	4. 発行年 2019年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 120
3. 書名 周産期心筋症診療の手引き	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 周産期心筋症治療剤	発明者 大谷健太郎、神谷千津子、徳留健	権利者 国立循環器病研究センター、中外製薬株式会社
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/040927	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

本研究成果に関するプレスリリース記事
http://www.ncvc.go.jp/pr/release/post_50.html

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
研究分担者	徳留 健 (TOKUDOME TAKESHI) (00443474)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長 (84404)	
研究分担者	神谷 千津子 (KAMIYA CHIZUKO) (10551301)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・医長 (84404)	

	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
研究協力者	西村 博仁 (NISHIMURA HIROHITO) (30739735)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・生化学部・流動研究員 (84404)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関