

令和 5 年 4 月 28 日現在

機関番号：34318
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2018～2020
課題番号：18K08052
研究課題名(和文) SGLT2阻害薬による心不全改善効果のメカニズム解明と新しい心不全治療法の開発

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of heart failure improvement effect by SGLT2 inhibitor and development of new heart failure treatment

研究代表者
浅沼 博司 (Hiroshi, Asanuma)
明治国際医療大学・臨床医学講座・教授

研究者番号：20416217
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：大動物ペースング心不全モデルにおいて、選択的ナトリウム・グルコース共輸送体(SGLT)2阻害薬が心不全の発症および進展を抑制することを明らかにした。そのメカニズムとして、SGLT2阻害薬投与により、心筋を含む様々な組織で発現し、ストレス状況下でのエネルギー代謝の調節において中心的な役割を担っているAMP-activated protein kinase が不全心筋で活性化され、心筋アポトーシスおよび心臓リモデリングが抑制されることで心不全の発症・進展が抑制されることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病の有無とは関係なく、SGLT2阻害薬ダパグリフロジンが左室駆出率の低下した慢性心不全患者の心不全入院イベントを抑制することが報告され(DAPA-HF試験)、現在、ダパグリフロジンは、慢性心不全の標準的な治療を受けているにもかかわらず症候性で、かつ左室収縮性の低下した患者に対する処方が推奨されているが、本研究結果より、心不全症状が出現する以前のリスクステージである心不全ステージAやステージBの段階で処方されることで、心不全の発症が抑制されることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Dapagliflozin, an inhibitor of SGLT2, has been reported to reduce the risk of worsening heart failure (HF) than placebo, regardless of the presence or absence of diabetes. However, there are no ideas for the cellular mechanisms for the SGLT2 inhibitors (SGLT2i)-induced improvements of HF. Therefore, we investigate whether SGLT2i attenuates the progression of HF in dogs. HF is induced by rapid ventricular pacing for 6 weeks. We administered SGLT2i orally for 14 days from 4 weeks after the start of rapid ventricular pacing, with rapid pacing was continued throughout treatment. In other dogs, we administer SGLT2i orally for 6 weeks immediately after the start of rapid ventricular pacing. SGLT2i treatment improved the pathophysiology of HF. SGLT2i treatment was shown to reduce myocardial apoptosis along with increased AMP-activated protein kinase phosphorylation and decreased Bax/Bcl-2 ratio. SGLT2i could be a novel candidate to prevent the onset and progression of HF.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心不全 薬物治療 トランスレーショナル研究 ドラッグリポジショニング

1. 研究開始当初の背景

慢性心不全は、ACE 阻害薬や β 受容体遮断薬などの薬物療法や非薬物療法が確立され生命予後は改善しているものの、高齢化による心不全患者数の増加により心不全パンデミックとして社会的問題となっている。一方、糖尿病の有病率は増加の一途をたどっており、我が国においても糖尿病患者数は年々増加しており、今や国民病とも呼ばれている。興味あることに、心不全症例が糖尿病を合併すると糖尿病を合併しない場合と比較して死亡率が 40-80%増加することが諸家の報告により明らかになっていることから、心不全症例において血糖コントロールは生命予後だけでなく健康寿命延長のためにも重要と考えられる。最近、心血管イベントの既往を有する 2 型糖尿病患者において、選択的ナトリウム・グルコース共輸送体(SGLT)2 阻害薬による糖尿病治療で心不全による入院イベントが抑制されたことが報告され注目されている¹⁾。また、心臓は遊離脂肪酸とグルコースを主なエネルギー源としているが、SGLT2 阻害薬投与により血中ケトン体濃度が高まるとエネルギー源としてケトン体を利用できるようになり、ケトン体は遊離脂肪酸に対して 1 分子の酸素からより多くの ATP を産生することができることから、不全心において有利に作用する可能性がある^{2),3)}。しかし、SGLT2 阻害薬が心不全の発症および進展を抑止するか否か、いかなる分子メカニズムが関与するのかについては明らかではない。

2. 研究の目的

本研究は、選択的 SGLT2 阻害薬が慢性心不全の病態を改善しうるか否かを検討するものである。そこで我々は、詳細な血行動態の評価が可能な大動物(イヌ)の高頻度右室ペースング心不全モデルを用いて、心不全における選択的 SGLT2 阻害薬の効果およびその標的分子を明らかにすることで新しい心不全治療を開発する。本プロトコールは臨床応用を強く意識し、心不全発症前と発症後で薬剤投与開始による効果を検討した極めて現実性の高いものであり、さらに心臓移植や心臓再生医療等の高度先進医療研究の標準的実験系でもあるため成果の相互乗入れが可能で、前臨床基礎研究としての完成度と包括的なトランスレーショナル研究の適合性が極めて高い。

3. 研究の方法

ビーグル犬を 4 週間、高頻度右室ペースング(230/分)することにより心不全が惹起される。かかるモデルにおいてペースング開始前とペースング 4 週間後に、心拍数、血圧、スワンガンツカテーテルを用いて肺動脈圧、肺動脈楔入圧、右房圧を計測する。心エコー法で左室収縮末期容積および拡張末期容積、左室駆出率、左室壁厚を計測し、さらに血糖値、ケトン体値、尿素窒素値およびクレアチニン値の測定を行う。本モデルはペースングを中断すると約 3 日で心機能が改善するが(代償性心不全状態)、さらに 2 週間ペースングを継続し、合計 6 週間のペースングを行うことで不可逆となる(非代償性心不全状態)。ペースング 6 週後でも同様の評価を行い、左室心筋を採取して組織学的検討とアポトーシスの評価を行うとともに、AMP-activated protein kinase(AMPK)発現レベルの変化の解析を行う(対照群)。上記実験プロトコールで、選択的 SGLT2 阻害薬の効果の検討を行うが、選択的 SGLT2 阻害薬の投与開始時期を、心不全を発症していないペースング開始前(選択的 SGLT2 阻害薬前投与群)と心不全を既に発症しているペースング 4 週間後(選択的 SGLT2 阻害薬後投与群)からの二つのパターンで検討することにより、選択的 SGLT2 阻害薬による心不全発症・進展抑止および心不全改善効果の検討を行う。

4. 研究成果

選択的 SGLT2 阻害薬の心機能に及ぼす効果

1) 選択的 SGLT2 阻害薬による心不全発症および心不全進展抑止効果の検討

対照群では、平均血圧は、ペーシング開始前とペーシング 6 週後で比較すると変化は認められなかったが、平均肺動脈圧は、ペーシング開始前に比し、ペーシング 6 週後に上昇し(10.7±2.5 mmHg→25.0±6.3 mmHg, $p<0.05$)、肺動脈楔入圧も同様に上昇した(4.5±1.6 mmHg→19.2±6.9 mmHg, $p<0.05$)。一方、選択的 SGLT2 阻害薬を心不全が発症する前のペーシング開始時から 6 週間経口投与することにより、平均血圧は、ペーシング開始前に比し、ペーシング 6 週後に低下が認められ(95.8±3.0 mmHg→82.2±14.6 mmHg, $p<0.05$)、平均肺動脈圧(10.8±2.3 mmHg→11.2±1.6 mmHg)および肺動脈楔入圧(3.8±1.3 mmHg→6.8±2.7 mmHg)は、上昇が抑制された。また、対照群における左室拡張末期径は、ペーシング開始前に比し、ペーシング 6 週後に拡大し(3.1±0.2cm→3.9±0.3 cm, $p<0.05$)、左室駆出率は低下した(73.5±2.6 %→25.6±4.1 %, $p<0.05$)が、選択的 SGLT2 阻害薬を心不全が発症する前のペーシング開始時から 6 週間経口投与することによって、左室拡張末期径の拡大は抑制されなかったが(3.0±0.2 cm→3.7±0.3 cm)、左室駆出率の低下は対照群に比し抑制された(25.6±4.1 % vs. 45.1±4.0 %, $p<0.05$)。これらの結果より、大動物心不全モデルにおいて、心不全発症前から選択的 SGLT2 阻害薬を投与することにより、心不全の発症および進展が抑制されることが明らかとなった。

2) 選択的 SGLT2 阻害薬による心不全進展抑止および心不全改善効果の検討

選択的 SGLT2 阻害薬を心不全が発症したペーシング 5 週目から 2 週間経口投与することにより、平均血圧は、ペーシング開始前に比し、ペーシング 6 週後に低下が認められ(98.3±7.1 mmHg 88.7±12.0 mmHg, $p<0.05$)、平均肺動脈圧(10.7±2.5 mmHg 12.2±3.2 mmHg)および肺動脈楔入圧(3.8±1.5 mmHg 7.8±2.8 mmHg)は、上昇が抑制された。また、対照群における左室拡張末期径は、ペーシング開始前に比し、ペーシング 6 週後に拡大し(3.1±0.2cm 3.9±0.3 cm, $p<0.05$)、左室駆出率は低下した(73.5±2.6 % 25.6±4.1 %, $p<0.05$)。選択的 SGLT2 阻害薬を心不全が発症したペーシング 5 週目から 2 週間経口投与することによっても、左室拡張末期径の拡大は抑制されなかったが、左室駆出率の低下は対照群に比し抑制された(25.6±4.1 % vs. 42.3±8.2 %, $p<0.05$)。これらの結果より、心不全を発症した大動物心不全モデルにおいて、選択的 SGLT2 阻害薬を投与することにより、血行動態と心機能が改善されることが明らかとなった。

選択的 SGLT2 阻害薬の血糖値およびケトン体値に及ぼす効果

対照群におけるペーシング 6 週後の血糖値は、ベースライン時と比較すると増加したが(73.5±9.9 mg/dL→87.3±8.4 mg/dL, $p<0.05$)、選択的 SGLT2 阻害薬前投与群では増加が抑制された(68.6±12.0 mg/dL→67.2±5.5 mg/dL)。さらに、選択的 SGLT2 阻害薬後投与群でも増加が抑制された(73.2±12.4 mg/dL→60.5±5.4 mg/dL)。ペーシング 6 週後の血糖値は、対照群に比し、選択的 SGLT2 阻害薬前投与群および選択的 SGLT2 阻害薬後投与群で低値であったが(いずれも $p<0.01$)、心血管イベント発症リスクを高めるとされる低血糖症状は認められなかった。また、対照群における血中ケトン体値は、ベースライン時と比較するとペーシング 4 週後および 6 週後で増加傾向を示したが差はなく、選択的 SGLT2 阻害薬前投与群における血中ケトン体値は、ベースライン時と比較するとペーシング 4 週後および 6 週後で増加した(31.8±16.8 μmol/L→218.0±103.0 μmol/L→118.0±36.3 μmol/L, $p<0.05$)。選択的 SGLT2 阻害薬後投与群における血中ケトン体値も、ベースライン時およびペーシング 4 週後と比較するとペーシング 6 週後で増加した(46.8±23.1 μmol/L→40.2±0.2 μmol/L→112.7±70.3 μmol/L, $p<0.05$)。3 群間で血中ケトン値の経時的変化を検討したところ、ペーシング 4 週後で選択的 SGLT2 阻害薬前投与群において対照群および選択的 SGLT2 阻害薬後投与群に比し高値であったが(218.0±103.0 μmol/L vs 72.8±37.5 μmol/L vs 40.2±0.2 μmol/L, $p<0.05$)、ペーシング 6

週後では差が認められなかった(118.0±36.3 μmol/L vs 72.0±50.6 μmol/L vs 112.7±70.3 μmol/L, ns)。これらことから、選択的 SGLT2 阻害薬による心不全発症・進展抑止および心不全改善効果は、血中ケトン体濃度の増加によるものではないことが示唆された。

選択的 SGLT2 阻害薬の腎機能に及ぼす効果

尿素窒素値は、対照群、選択的 SGLT2 阻害薬前投与群および選択的 SGLT2 阻害薬後投与群のすべての群において、ベースライン時に比し、ペーシング 4 週後(ns)、ペーシング 6 週後(p<0.05)で増加した。ペーシング 6 週後の尿素窒素値は、対照群(14.9±1.7 mg/dL)に比し、選択的 SGLT2 阻害薬前投与群(19.9±3.8 mg/dL, p<0.05)および選択的 SGLT2 阻害薬後投与群(18.7±3.8 mg/dL, p<0.05)で増加し、選択的 SGLT2 阻害薬の利尿作用による脱水が示唆された。一方、血清クレアチニン値は、対照群、選択的 SGLT2 阻害薬前投与群および選択的 SGLT2 阻害薬後投与群のすべての群において、ベースライン時、ペーシング 4 週後およびペーシング 6 週後で差がなかった。通常、脱水が進行すると腎機能低下が認められるが、今回の我々の検討では、選択的 SGLT2 阻害薬投与による脱水では腎機能低下が認められず、腎保護作用を惹起していることが示唆された。

選択的 SGLT2 阻害薬による心不全発症・進展抑止および心不全改善効果のメカニズムの検討

1) 選択的 SGLT2 阻害薬の左室心筋 AMPK 発現に及ぼす効果

対照群における左室心筋組織に比し、選択的 SGLT2 阻害薬前投与群および選択的 SGLT2 阻害薬後投与群における左室心筋組織では AMPKα のリン酸化レベル亢進が認められた(図 1)。

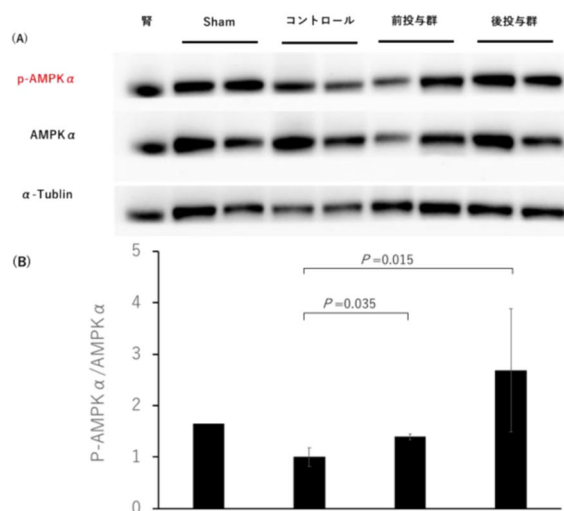


図 1. 各群の左室心筋組織における AMPKα のリン酸化

2) 選択的 SGLT2 阻害薬の心筋アポトーシスに及ぼす効果

対照群では、正常左室心筋組織(Sham 群)に比し、心筋アポトーシス亢進が認められたが、選択的 SGLT2 阻害薬前投与群および選択的 SGLT2 阻害薬後投与群では、心筋アポトーシスが抑制された(図 2A)。対照群における左室心筋組織では、Sham 群に比し Bax/Total protein 比の増加が認められたが、選択的 SGLT2 阻害薬前投与群および選択的 SGLT2 阻害薬後投与群では Sham 群と差はなかった(図 2B)。一方、Bcl-2/Total protein 比は、対照群および選択的 SGLT2 阻害薬後投与群における左室心筋組織では Sham 群と差はなかったが、選択的 SGLT2 阻害薬前投与群では、Sham 群および対照群に比し増加が認められ(図 2C)、Bax/Bcl-2 比は、対照群に比し、選択的 SGLT2 阻害薬前投与群および選択的 SGLT2 阻害薬後投与群で低下し、抗アポトーシス

に作用することが示唆された(図 2D)。

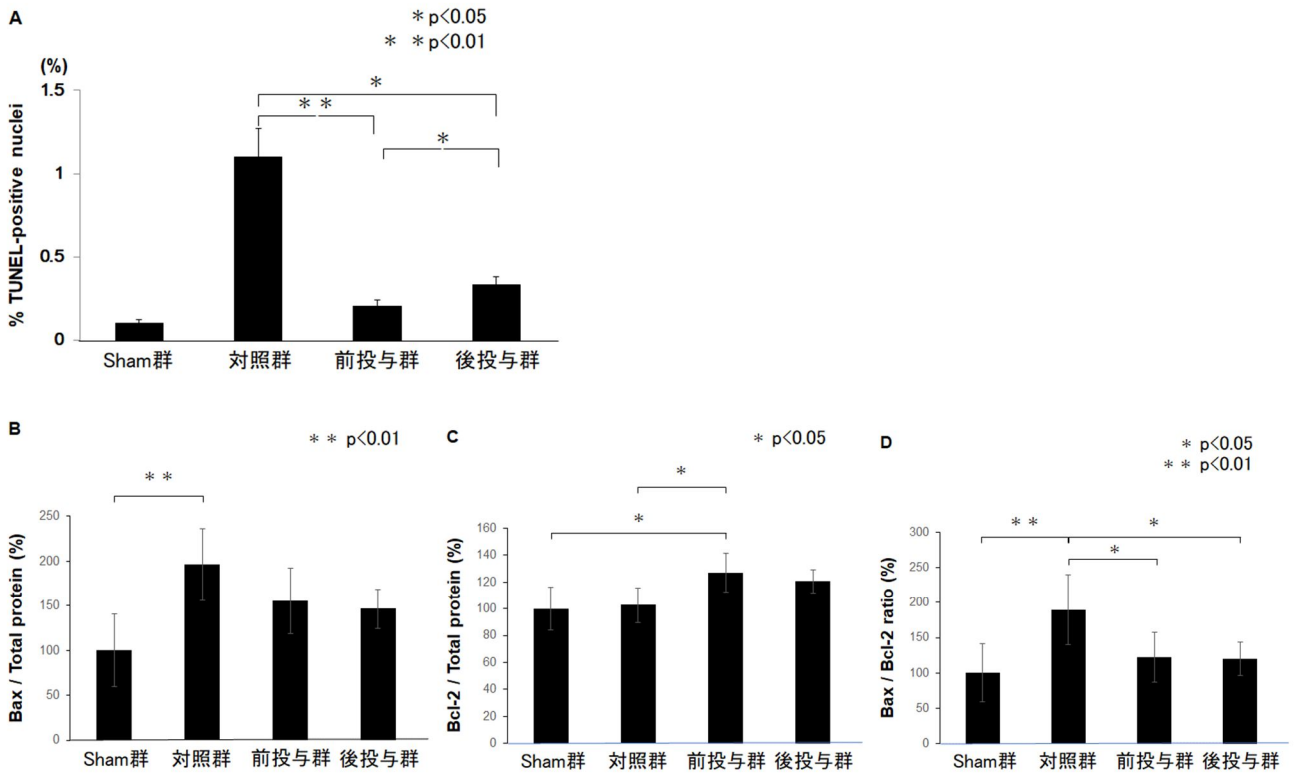


図 2. 各群の左室心筋組織における TUNEL 染色による心筋アポトーシスの評価(A)とアポトーシス調節因子 (Bax(B)および Bcl-2 発現(C)と Bax/Bcl-2 比(D))の評価

5. 結論

大動物ペーシング心不全モデルにおいて、選択的 SGLT2 阻害薬投与により、心不全発症・進展抑止および心不全改善効果があることが明らかになった。そのメカニズムとして、心筋における AMPK 活性化、Bax/Bcl-2 比増加の抑制による抗アポトーシス作用が示唆された。

< 引用文献 >

- 1) Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S, Mattheus M, Devins T, Johansen OE, Woerle HJ, Broedl UC, Inzucchi SE, EMPA-REG OUTCOME Investigators. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2015;373(22):2117-2128.
- 2) Santos-Gallego CG, Requena-Ibanez JA, San Antonio R, Ishikawa K, Watanabe S, Picatoste B, Flores E, Garcia-Ropero A, Sanz J, Hajjar RJ, Fuster V, Badimon JJ. Empagliflozin Ameliorates Adverse Left Ventricular Remodeling in Nondiabetic Heart Failure by Enhancing Myocardial Energetics. *J Am Coll Cardiol.* 2019;73(15):1931-1944.
- 3) Verma S, Rawat S, Ho KL, Wagg CS, Zhang L, Teoh H, Dyck JE, Uddin GM, Oudit GY, Mayoux E, Lehrke M, Marx N, Lopaschuk GD. Empagliflozin Increases Cardiac Energy Production in Diabetes: Novel Translational Insights Into the Heart Failure Benefits of SGLT2 Inhibitors. *JACC Basic Transl Sci.* 2018;3(5):575-587.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Asanuma H, Kitakaze M.	4. 巻 82
2. 論文標題 Cutting Edge Science and Medicine of Adenosine in Patients With Heart Failure.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Circ J.	6. 最初と最後の頁 1247-1248
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1253/circj.CJ-18-0327.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yamada N, Asano Y, Fujita M, Yamazaki S, Inanobe A, Matsuura N, Kobayashi H, Ohno S, Ebana Y, Tsukamoto O, Ishino S, Takuwa A, Kioka H, Yamashita T, Hashimoto N, Zankov DP, Shimizu A, Asakura M, Asanuma H, et al.	4. 巻 139
2. 論文標題 Mutant KCNJ3 and KCNJ5 Potassium Channels as Novel Molecular Targets in Bradyarrhythmias and Atrial Fibrillation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circulation.	6. 最初と最後の頁 2157-2169
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.036761.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Asakura M, Kim J, Asanuma H, et al; PPAR investigators.	4. 巻 4-5
2. 論文標題 Cardiovascular Outcomes in Patients With Previous Myocardial Infarction and Mild Diabetes Mellitus Following Treatment With Pioglitazone: Reports of a Randomised Trial From The Japan Working Group for the Assessment Whether Pioglitazone Protects DM Patients Against Re-Infarction (PPAR Study).	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 EClinicalMedicine.	6. 最初と最後の頁 10-24
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.eclinm.2018.09.006.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Asanuma H, Chung H, Ito S, Min KD, Ihara M, Takahama H, Funayama M, Imazu M, Fukuda H, Ogai A, Asano Y, Minamino T, Takashima S, Morita T, Sugimachi M, Asakura M, Kitakaze M.	4. 巻 33
2. 論文標題 AST-120, an Adsorbent of Uremic Toxins, Improves the Pathophysiology of Heart Failure in Conscious Dogs.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cardiovasc Drugs Ther.	6. 最初と最後の頁 277-286
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10557-019-06875-z.	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 -

1. 著者名 Takahama H, Asanuma H, Tsukamoto O, Ito S, Kitakaze M.	4. 巻 24
2. 論文標題 Endogenously released adenosine causes pulmonary vasodilation during the acute phase of pulmonary embolization in dogs.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Cardiol Heart Vasc.	6. 最初と最後の頁 100396
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijcha.2019.100396.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hasegawa T, Asakura M, Asanuma H, Amaki M, Takahama H, Sugano Y, Kanzaki H, Yasuda S, Anzai T, Izumi C, Kitakaze M.	4. 巻 75
2. 論文標題 Difference in the prevalence of subclinical left ventricular impairment among left ventricular geometric pattern in a community-based population	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Cardiol.	6. 最初と最後の頁 439-446
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2019.09.007.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mika M, Kanzaki H, Hasegawa T, Fukuda H, Amaki M, Kim J, Asakura M, Asanuma H, Nishimura M, Kitakaze M.	4. 巻 6
2. 論文標題 Arterial stiffening is a crucial factor for left ventricular diastolic dysfunction in a community-based normotensive population.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Cardiol Hypertens.	6. 最初と最後の頁 100038
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijchy.2020.100038.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Asanuma H, Fukuda H, Takahama H, Hitsumoto T, Imazu M, Nakajima Y, Ito S, Kitakaze M.
2. 発表標題 Management of serum phosphate level is an important novel therapeutic target in chronic heart failure.
3. 学会等名 第36回 国際心臓研究学会日本部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahama H, Asanuma H, Ito S, Kitakaze M.
2. 発表標題 Effects of endogenous adenosine on hemodynamics in experimental acute pulmonary embolization.
3. 学会等名 第36回 国際心臓研究学会日本部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ito S, Asanuma H, Imazu M, Fukuda H, Nakajima Y, Iwata Y, Fu HY, Kitakaze M.
2. 発表標題 Alternative splicing of Mtus1 mRNA affects cardiac hypertrophy and heart failure.
3. 学会等名 第36回 国際心臓研究学会日本部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Imazu M, Fukuda H, Hitsumoto T, Nakajima Y, Iwata Y, Asanuma H, Fu HY, Ito S, Kitakaze M.
2. 発表標題 Deleterious effects of indoxyl sulfate on the pathophysiology of heart failure and its removal for the possible novel therapeutic strategy.
3. 学会等名 第36回 国際心臓研究学会日本部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fu HY, Matsuzaki T, Ito S, Kitakaze M, Sakata Y, Asanuma H, Minamino T.
2. 発表標題 CHOP knockdown reduced atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice.
3. 学会等名 第36回 国際心臓研究学会日本部会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 小室一成、中村正人	4. 発行年 2018年
2. 出版社 中山書店	5. 総ページ数 400
3. 書名 虚血性心疾患 識る・診る・治す・防ぐ	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	高濱 博幸 (Takahama Hiroyuki) (10570301)	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)	
研究分担者	北風 政史 (Kitakaze Masafumi) (20294069)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・客員研究員 (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
---------	---------