

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K08104

研究課題名(和文) 心臓および全身の飢餓応答としての心不全

研究課題名(英文) Systemic and cardiac response to fasting and heart failure

研究代表者

加藤 貴雄 (Kato, Takao)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：30583877

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：「心不全は心臓と全身の飢餓応答であるか？」という問いを検証する事を目的とした。新しい測定技術により飢餓応答のデータベースを作成することができ、絶食により心機能低下が惹起された。また遺伝子変化は心不全モデルや人心不全マイクロアレイと一部共通の挙動を示した。肝臓・骨格筋・心筋のトランスクリプトーム、メタボロームを含めた解析から、クラスターリングが可能であった。多階層の統合解析から、本モデルの心機能低下の機序の一部として、Gap junctionに関わる系、ヘム合成に関わる系の低下が示唆され、治療ターゲットとなる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心不全の一部は飢餓に対する反応であることが考えられ、大きな社会的な問題となっている心不全に対する、栄養学的アプローチの基礎的根拠を与えると考えられる。本モデルの心機能低下の機序の一部として、Gap junctionに関わる系、ヘム合成に関わる系の低下が示唆され、治療ターゲットとなる可能性がある。また、多階層の解析手段は、臓器の連関を解く有用なツールであることが示され、他の疾患モデルの解析に有用であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of the study was to test the question, "Is heart failure a response to cardiac and systemic starvation?" The objective was to test the question, "Is heart failure a cardiac and systemic starvation response? New measurement techniques allowed us to create a database of starvation responses, and we found that fasting induced cardiac dysfunction. The genetic changes showed some common behavior with heart failure models and human heart failure microarrays. Clustering was possible based on analyses including transcriptomes and metabolomes of liver, skeletal muscle, and cardiac muscle. The multilevel integrated analysis suggested that the systems involved in Gap junction and heme synthesis are decreased as part of the mechanism of cardiac dysfunction in this model, and may be a potential therapeutic target.

研究分野：心不全

キーワード：心不全 栄養 飢餓 絶食

1. 研究開始当初の背景

心不全は、加齢とともに指数関数的に増加する疾患であり、発症と悪化予防はともに重要かつ緊喫の課題である。心不全はエネルギー代謝の劇的な変化を伴うことから、心臓のエネルギー代謝の頑健性が破綻した状態であると考えられる。また、骨格筋、腎臓、肝臓や脂肪組織などの機能低下は相乗的に働き心不全の発症と進行に関与すると考えられる。心臓は個体の生存を維持するため拍動し続ける必要があり、膨大なエネルギー（ヒト心臓で1日に6kgのATP）を必要とする。心臓のエネルギー需要は血圧、脈拍、収縮性などに伴い変化し、一方で、心臓へのエネルギー基質供給の量と質（脂肪酸、糖、ケトン体など）は心臓以外の体内環境により常に変化する。心臓には、このダイナミックなエネルギーの需要と供給の変化に対応し、拍動を維持するためにエネルギー代謝の頑健性（ロバストネス）が備わっている。

心不全はエネルギー代謝の劇的な変化を伴うことから、心臓のエネルギー代謝の頑健性が破綻した状態であると考えられる。また、心不全はインスリン抵抗性や悪液質（カヘキシア）など全身の代謝変化を伴うことが知られている。心不全の病態には、心臓以外の全身状態が大きく関与すると考えられている。特に、腎臓、骨格筋、呼吸器、肝臓や脂肪組織などの代謝臓器、の機能低下は相乗的に働き心不全の発症と進行に関与すると考えられ、ゆえに心不全は加齢とともに指数関数的に増加すると考えられる。このような知見から「心不全は心臓と全身の飢餓応答であるか？」という問い（仮説）を検証する事を着想した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、心臓および臓器の飢餓応答反応により心不全は惹起されるか？心不全と飢餓応答反応の遺伝子変化の相同性はあるか？心臓と各臓器の連関は何か？を検証する事である。

本研究の具体的な目的は以下のとおりである。

〔目的1〕新しい測定技術により飢餓応答のデータベースを作成する

〔目的2〕飢餓応答のデータベースを解析し、心不全に伴う機能・代謝変化と比較する。

〔目的3〕心機能と各臓器の連関のハブを同定し、転写因子に着目し、薬剤を用いて動物モデルで検討する。

3. 研究の方法

〔目的1〕新しい測定技術により断食のデータベースを作成する

図3に示すように、解析の48時間前（2日 fasting 群：2 Day）、24時間前（1日 fasting 群：1 Day）に、マウスのケージから食餌を取り除き水は与え続ける。食餌を取り除かなかった群（Fed）を対照とする。既日リズムの影響を排除するため、申請者の動物実験施設で点灯開始となる午前7時から解析を開始し、2時間以内に解析をおえる。フェノーム（体重、体温、血圧、心拍数、心機能、血液検査（肝機能など）、臓器重量、組織学（光顕、電顕）） トランスクリプトーム（心臓、肝臓、骨格筋） メタボローム（心臓、肝臓、骨格筋、動脈血）

これらのデータを用いて、断食のデータベースを作成する。

〔目的2〕飢餓応答のデータベースを解析し、心不全に伴う機能・代謝変化と比較する

多臓器のトランスオミクス解析により、心機能や疾病発症と関連する心臓および全身性の因子や中心“ハブ”となるパスウェイを同定する。心機能と関連する心臓および全身の因子について、パターン解析やモデル間比較の統計手法を用いて、fastingによる心機能低下と心不全の共通経路、心不全進行にともなう悪液質との共通パスウェイ、中心的役割を持つ分子や経路を同定する。実際には、公開されている心不全モデルの遺伝子データベースや自験のラット高血圧心不全モデルのデータと対比させ、共通点・相違点・臓器間結ぶ因子を、分心機能と関連する心臓および全身性の因子のうち転写因子に着目し、培養細胞を用いて、薬剤を用いて細胞・心機能に対する作用を検討する。子レベル・パスウェイレベルで同定する。解析はR(www.r-project.org)にあるトランスクリプトーム解析およびメタボローム解析に対応したパッケージを用いて行う。

〔目的3〕心機能と関連する心臓および全身性の因子のうち転写因子に着目し、培養細胞を用いて、薬剤を用いて細胞・心機能に対する作用を検討する。

4. 研究成果

目的1新しい測定技術により断食のデータベースを作成する、に関して

解析の48時間前（2日 fasting 群：2 Day）、24時間前（1日

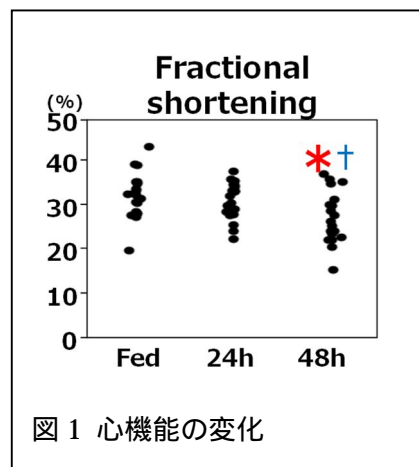


図1 心機能の変化

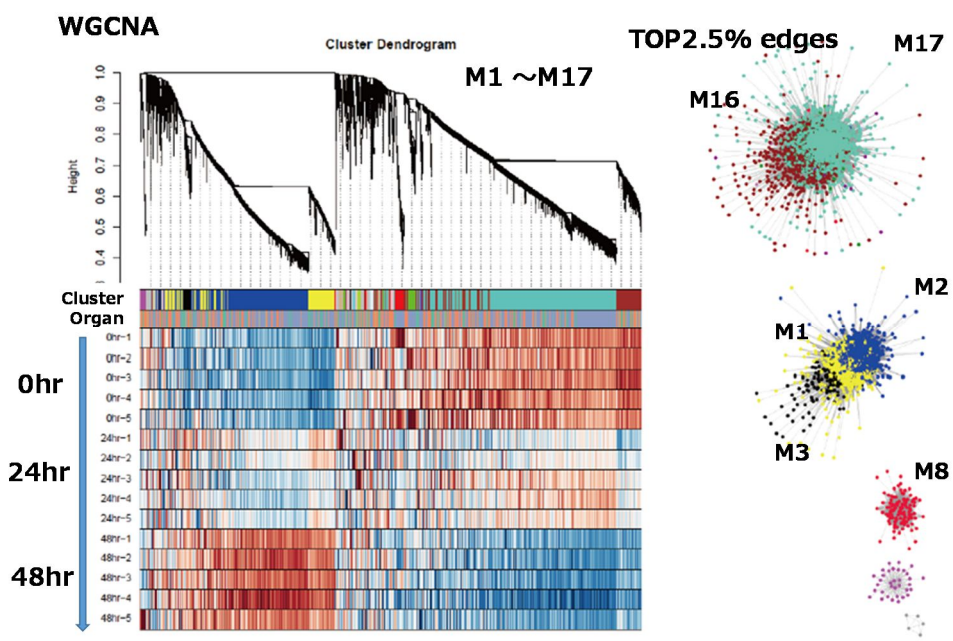


図2 多階層のデータをクラスタリング

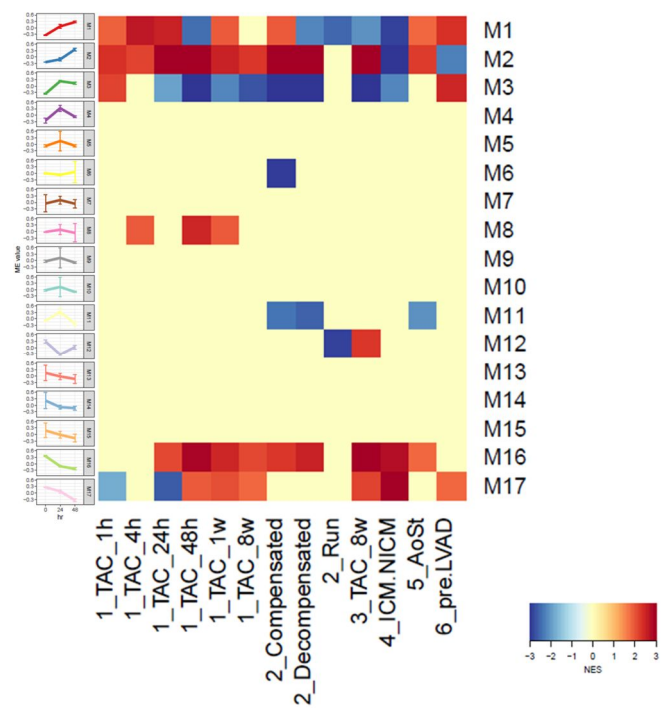


図3 心不全動物モデルや人人心不全マイクロアレイデータベースとの比較

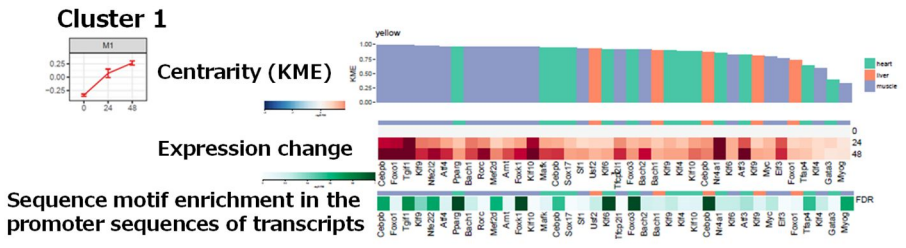


図4 各クラスター内で中心性の指標を計算し上流転写因子の推定

fasting 群 : 1 Day) に、マウスのケージから食餌を取り除き水は与え続けた。食餌を取り除かなかった群 (Fed) を対照として、トランスクリプトーム (心臓、肝臓、骨格筋) メタボローム (心臓、肝臓、骨格筋) のデータを採取した。同時に、体重、体温、血圧、心拍数、心機能、血液検査 (肝機能など) 臓器重量、組織学 (光顕、電顕) 的検討を行い、データベースを得た。

心収縮力は図1のように2日 fasting 群で低下した。

目的2 飢餓応答のデータベースを解析し、心不全に伴う機能・代謝変化と比較する、に関して次に上記データセットを用いて、心不全に伴う機能・代謝変化と比較した。それぞれの階層の解析は、Time resolved Gene set enrichment analysis を行った。多階層にわたる解析については Weighted correlation network analysis (WGCNA) を用いて解析したところ、17のクラスターに分けることができ、図2のように時間経過とともに変化する分類が可能になった。またヒト心不全マイクロアレイデータベースと比較したところ、保存された変化、保存されていない変化の両方が観察された。次に、INtegrative Meta-analysis of EXpression data (INMEX) を用いて pathway の解析を行った。絶食で惹起される系の中に GAP junction に関わる遺伝子発現の低下を見出した。各クラスター内で中心性指標を計算し上流転写因子の推定を行った(図4)。その結果、心臓におけるヘム合成系の転写遺伝子の抑制が見られた。(論文準備中)

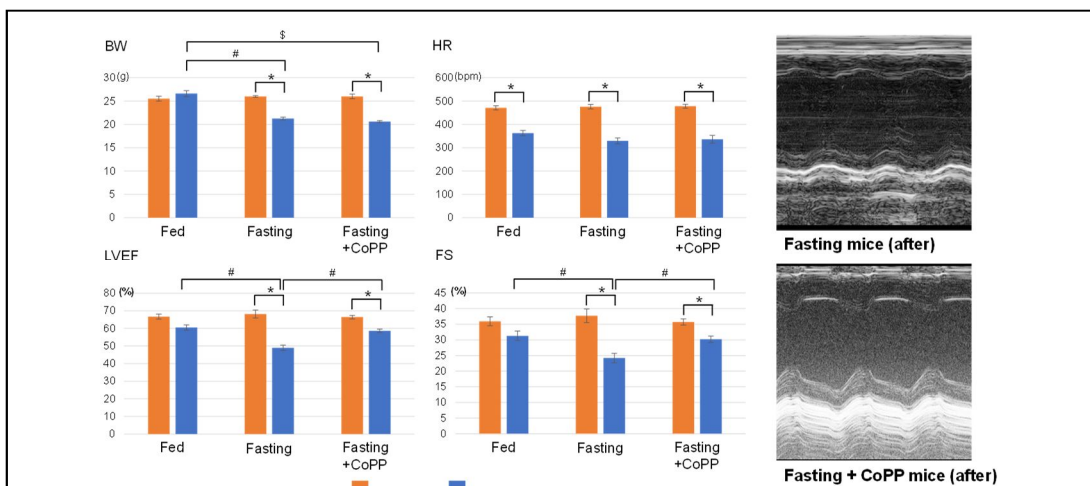


図5 CoPP 投与による絶食による心機能低下の抑制

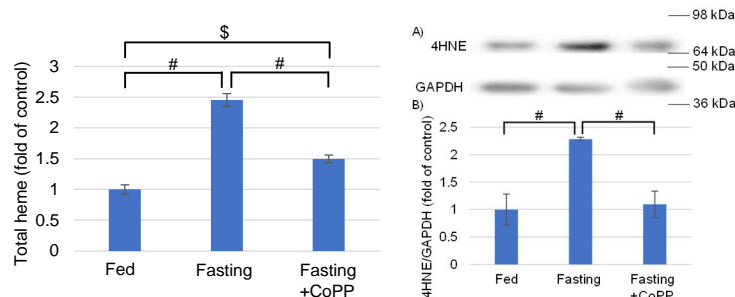


図6 薬剤による Free ヘムの減少(左)と 4HNE による酸化ストレスの減少(右)

目的3 に関して

ヘム合成系の賦活・抑制を目的として、絶食マウスに薬剤介入を行った。48時間絶食マウスに、薬剤介入を行った結果、絶食マウスの心機能低下が軽減された(図4)。ヘムオキシゲナーゼの活性化と共に、Free heme の減少が認められた(図5)。同時に酸化ストレスの軽減が認められた。示唆された。(論文準備中)

この研究の結果のサマリーと意義

- ・ 飢餓応答のデータベースが作成できた。
- ・ 絶食により心機能低下が惹起された。また遺伝子変化は心不全モデルや人心不全マイクロアレイと一部共通の挙動を示すことから、心不全の一部は飢餓に対する反応であることが考えられる。
- ・ 肝臓・骨格筋・心筋のトランスクリプトーム、メタボロームを含めた解析から、クラスタリングが可能であった。このことは、心臓の変化は全身の変化と合わせて起こっており、臓器連関が強く示唆される。
- ・ 多階層の統合解析から、本モデルの心機能低下の機序の一部として、Gap junction に関わる系、ヘム合成に関わる系の低下が示唆され、治療ターゲットとなる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1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 1件）

1. 著者名 Minamino-Muta E, Kato T, Shioi T, Tanada Y, Kimura T.	4. 巻 70
2. 論文標題 Cardiac Effects of Acute Administration of a Protonophore in a Rat Model.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacy and Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1209-1215
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jphp.12956	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0件

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------