

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08558

研究課題名（和文）尿毒素による心不全発症・再発の病態解明と新規治療戦略の基盤構築

研究課題名（英文）Uremic toxin and the development of heart failure

研究代表者

伊藤 浩（Ito, Hiroshi）

岡山大学・医歯薬学域・教授

研究者番号：90446047

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）：高齢化に伴い心不全患者は増加の一途をたどっており、その予後は収縮障害・拡張障害ともに不良である。心不全発症において心腎連関が近年注目されるようになり、腎機能低下が心不全に悪影響を及ぼすことが多く報告されるようになってきたが、心腎連関の病態進展の分子機構は未だ不明な点が多い。本研究では、臨床研究として尿毒素の1つである血中インドキシル硫酸と心不全発症の関連を前向きな多施設レジストリーにて検証した。慢性腎臓病を合併した心不全患者におけるインドキシル硫酸濃度は、その後の全死亡や心血管イベントと関連することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、心不全患者の予後にインドキシル硫酸が関係することが明らかとなった。高齢化に伴い心不全患者は増加の一途をたどっており、その予後は収縮障害・拡張障害ともに不良である。心不全の薬物治療としては、レニンアンジオテンシン系阻害薬、遮断薬などがあるが、心不全による死亡率は以前高く、新規治療法の開発が望まれている。本研究はインドキシル硫酸を軸とした新規心不全治療戦略の開発につながる可能性がある。また、心筋での尿毒素の分子動態の解明は、その作用点における創薬につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The number of patients with heart failure is increasing with aging population in Japan. Cardio-renal interaction plays an important role in the pathophysiology of heart failure. Recent studies showed that chronic kidney disease (CKD) is associated with an increased risk of cardiovascular events. However, mechanisms underlying between CKD and cardiovascular events remains unclear. In this study, indoxyl sulfate, an uremic toxin, was measured in patients with heart failure and its association with prognosis was evaluated in a multicenter cohort. Indoxyl sulfate levels in patients with heart failure were significantly associated with the incidence of cardiovascular events including cardiovascular death, stroke, acute myocardial infarction in patients with heart failure. These results suggest that indoxyl sulfate could be a therapeutic target in patients with heart failure and CKD.

研究分野：心不全

キーワード：心不全 心腎連関 インドキシル硫酸

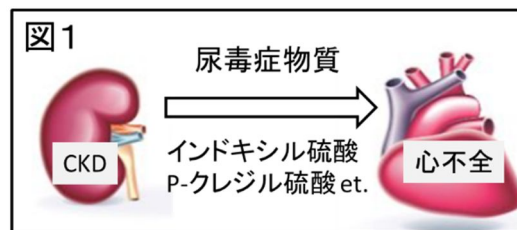
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢化に伴い心不全患者は増加の一途をたどっており、その予後は収縮障害・拡張障害ともに不良である。心不全発症において心腎連関が近年注目されるようになり、腎機能低下が心不全に悪影響を及ぼすことが多く報告されるようになってきたが、心腎連関の病態進展の分子機構は未だ不明な点が多い。慢性腎臓病では、全身的な代謝変化および尿中への代謝産物の排泄障害にともない様々な尿毒素が体内に蓄積する。これまでに約 90 種類の尿毒素質が報告されているが、その一つであるインドキシル硫酸は腸内細菌によってつくられたインドールが肝臓で代謝されて合成される。基礎研究においてインドキシル硫酸は心肥大、心筋線維化を促進すること(Eur Heart J. 2010 Jul;31(14):1771-9、PLoS One. 2012;7(7):e41281)、また、臨床研究においては少数例ではあるが非透析の拡張型心筋症患者の予後とインドキシル硫酸濃度が関連すること(Circ J. 2013;77(2):390-6)、が報告されている。しかし、尿毒素の一つであるインドキシル硫酸が心不全発症に直接関与するか、その分子機構はどうなっているかは十分解明されていない。

2. 研究の目的

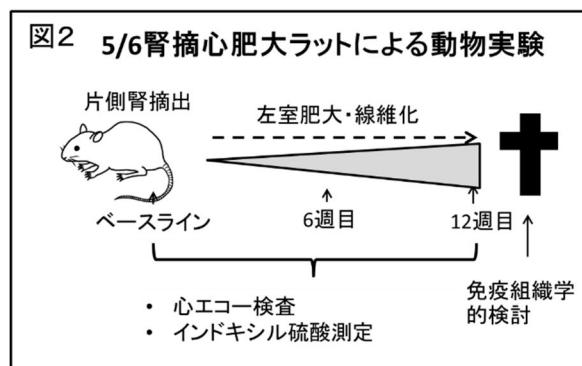
本研究の目的は、インドキシル硫酸が心不全の病態進展に与える影響を基礎・基礎の両面から明らかにし、心不全の新規治療戦略の基盤を構築することである(図1)



3. 研究の方法

- (1) 腎摘負荷心不全モデルラットを用いて、インドキシル硫酸の増加と心機能ならびに心肥大の関連を評価し、さらにその分子動態を明らかにする。

実験モデルとしては、Sprague-Dawley ラットの腎摘を行い、12 週間経過をみるモデルを用いる。負荷後 12 週間までに左室肥大が認められるため、負荷前、6 週目、12 週目に採血（インドキシル硫酸）、心エコー検査、インドキシル硫酸と心機能の解析を経時的に行う(図2)。インドキシル硫酸は、酵素法を原理とする試薬が市販されており、岡山大学実験室で測定する。また、同時期の心筋組織での心肥大・線維化とともに、受容体型転写因子 aryl hydrocarbon receptor (AHR)、organic anion



transporter (OAT)の発現変化を検討する。探索的検討として、腎摘をしないコントロールラットの心臓との遺伝子発現の変化を mRNA アレイにて検討する。In vivo 実験とともに、in vitro 実験も行う。ラット心臓由来初代心筋培養を用いて、培養条件下でインドキシル硫酸の影響を調べる。心筋肥大・線維化に關与することは既報であるが、そのメカニズムを調べるため、こちらでも無刺激の細胞との mRNA アレイを行い、上記 in vivo との結果と合わせ、標的遺伝子を絞り込む。標的遺伝子については SiRNA を用いて発現を低下させるなどし、機能解析を進めていく。さらに、次世代シーケンサーを用いて、インドキシル硫酸の心筋内での作用を non-coding RNA (microRNA、long non-coding RNA) も含めたエピジェネティックな点からも解明する。これらもすべて vivo のデータと合わせて検証を行う。

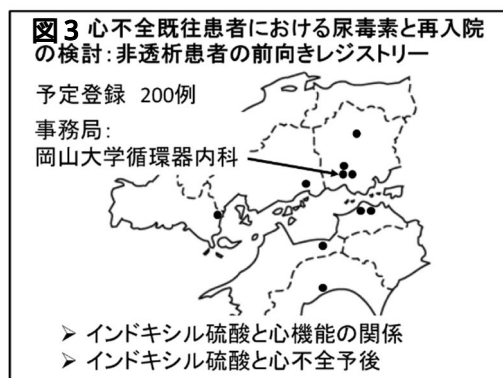
(2) インドキシル硫酸と心機能ならび心不全再入院との関連を多施設による前向きレジストリーにて明らかにする。

デザインは前向き多施設レジストリーとし、対象は岡山大学およびその関連病院に 3 か月以内に心不全入院既往のある安定した外来患者(目標症例 200 例)とする。透析患者、二次性心筋症、心筋炎の症例は除外する。インドキシル硫酸測定は、岡山大学循環器内科の実験室にて行う。エントリー時に心エコーによる心機能検査と血液検査を行う。心臓超音波検査では、左房容量、左室重量、Ejection fraction (EF)、組織ドップラー指標(e' 、 E/e' 、 s')を計測。プライマリーエンドポイントは、エントリー後 1 年間の心不全再入院として予後を追跡する。

解析は以下の 2 つを行う予定とする。

ベースライン解析として、患者を reduced EF、mid-range EF、preserved EF に分け、インドキシル硫酸と心エコー計測値との関連を検討する。

推定糸球体濾過量による層別解析を行い、退院時インドキシル硫酸濃度が、心不全死亡・心不全再発に対する規定因子になりうるかを Cox 比例ハザード解析で検討する。



4. 研究成果

(1) 腎摘負荷心不全モデルラットにおけるインドキシル硫酸の増加と心機能ならびに心肥大の分子動態の解明

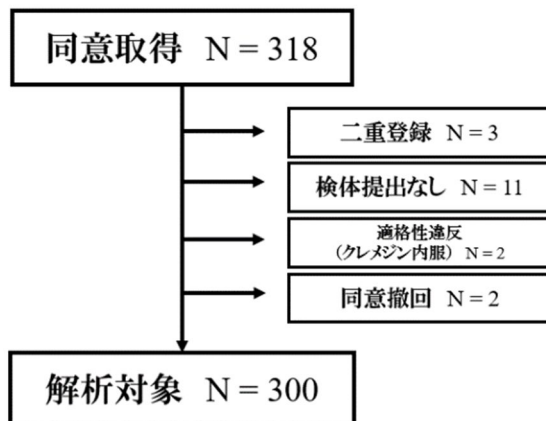
腎摘負荷心不全モデルラットの作成には成功し、血中のインドキシル硫酸濃度測定を行った。腎摘負荷心不全モデルラットでは、コントロールに比較して有意にインドキシル硫酸が高値となっていた。また、腎摘負荷心不全モデルラットでは、左室肥大が認められた。組織学的な検討を行ったところ、心筋細胞の肥大だけでなく、心筋線維化も認められた。また、酸化ストレスの影響を評価するため、Reactive oxygen

species(ROS)の検出ががのうな dihydroethidium(DHE)染色を行ったところ、腎摘負荷心不全モデルラットでは DHE の有意な亢進が、コントロールに比較して認められた。ROS の亢進が心筋肥大や心筋線維化に重要な役割を持つことが分かった。心筋細胞における遺伝子発現の変化を検討するために、mRNA アレイを行い、詳細な検討をさらに行う予定である。

(2) 心不全既往患者におけるインドキシル硫酸と心不全再入院との関連

318 名の同意を取得し、最終的に 300 名に対して解析を行った。

フローチャート



患者背景

Age, yr	74 ± 9
Male sex, n (%)	170 (57)
NYHA classification	
Class I, n (%)	46 (15)
Class II, n (%)	212 (71)
Class III, n (%)	39 (13)
Class IV, n (%)	2 (1)
Complication	
Hypertension, n (%)	167 (56)
Diabetes mellitus, n (%)	130 (44)
Dyslipidemia, n (%)	115 (39)
Hyperuricemia, n(%)	162 (55)

インドキシル硫酸 (IS)と主要評価項目さらに全死亡・心血管死亡・心不全入院の関係
 主要評価項目の発生について有意差は認められなかったが、HF_rEF では心血管死亡について ISと有意な関連が認められたが、HF_pEF では有意な関連は認めなかった。

単変量解析(コホート別、エンドポイント別)
対数変換

<i>endpoint</i>	Whole cohort			HF _r EF			HF _p EF		
	HR	95% CI	P value	HR	95% CI	P value	HR	95% CI	P value
Ln (IS) <i>for primary endpoint</i>	1.25	0.88-1.82	0.22	1.65	0.97-2.90	0.06	1.00	0.63-1.66	0.98
Ln (IS) <i>for all cause death</i>	1.34	0.74-2.53	0.35	10.3	2.96-50.3	<0.0001	0.53	0.27-1.08	0.08
Ln (IS) <i>for cardiovascular death</i>	2.50	1.16-5.64	<0.05	10.3	2.96-50.3	<0.0001	0.68	0.26-2.01	0.46
Ln (IS) <i>for HF hospitalization</i>	1.21	0.82-1.84	0.35	1.32	0.76-2.39	0.32	1.14	0.62-2.24	0.68

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Ichikawa K, Miyoshi T, Osawa K, Miki T, Nakamura K, Ito H	4. 巻 13(7)
2. 論文標題 Prognostic Value of Coronary Computed Tomographic Angiography in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JACC Cardiovasc Imaging	6. 最初と最後の頁 1628-1630
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jcmg.2020.01.022	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 Suruga K, Miyoshi T, Kotani K, Ichikawa K, Miki T, Osawa K, Ejiri K, Toda H, Nakamura K, Morita H, Ito H	4. 巻 324
2. 論文標題 Higher oxidized high-density lipoprotein to apolipoprotein A-I ratio is associated with high-risk coronary plaque characteristics determined by CT angiography	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Cardiol	6. 最初と最後の頁 193-198
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijcard.2020.09.060	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 Ejiri K, Miyoshi T, Nakamura K, Sakuragi S, Munemasa M, Namba S, Takaishi A, Ito H.	4. 巻 9(3)
2. 論文標題 The effect of luseogliflozin and alpha-glucosidase inhibitor on heart failure with preserved ejection fraction in diabetic patients: rationale and design of the MUSCAT-HF randomised controlled trial.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMJ Open.	6. 最初と最後の頁 e026590
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/bmjopen-2018-026590.	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 Miki T, Miyoshi T, Kotani K, Kohno K, Asonuma H, Sakuragi S, Koyama Y, Nakamura K, Ito H.	4. 巻 283
2. 論文標題 Decrease in oxidized high-density lipoprotein is associated with slowed progression of coronary artery calcification: Subanalysis of a prospective multicenter study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Atherosclerosis.	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.atherosclerosis.2019.01.032.	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12件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Keishi Ichikawa, Toru Miyoshi, Takashi Miki, Kazufumi Nakamura, Hiroshi Morita, Hiroshi Itoh
2. 発表標題 Impact of Zero Coronary Artery Calcium Score on Favorable Prognosis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Patients
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Naofumi Amioka, Toru Miyoshi, Tomonari Kimura, Satoshi Akagi, Masashi Yoshida, Kazufumi Nakamura, Hiroshi Morita, Hiroshi Itoh
2. 発表標題 Pemafibrate Reduces the Rupture of Experimental Aortic Aneurysm by Inhibiting Oxidative Stress
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤 浩
2. 発表標題 心筋梗塞の治療：薬物
3. 学会等名 第 83 回日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 江尻健太郎、赤木 達、中村一文、伊藤 浩
2. 発表標題 Simplified Proposed Risk Stratification could Predict 10-year Prognosis in Patients with Pulmonary Arterial Hypertension: From a Single Center Cohort Study
3. 学会等名 第 83 回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤 浩
2. 発表標題 糖尿病と心不全：その治療に迫る
3. 学会等名 第116回日本内科学会総会・講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤 浩
2. 発表標題 群PHにおけるPre + Post Capillary PH
3. 学会等名 第4回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤 浩
2. 発表標題 心不全の病態を知り、治療に活かす
3. 学会等名 第25回日本心臓リハビリテーション学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤 浩
2. 発表標題 デバイス・アブレーション、チームで取り組む心房細動マネジメント
3. 学会等名 第66回日本不整脈心電学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K Ejiri, T Miyoshi, H Kihara, Y Hata, T Nagano, A Takaishi, H Toda, S Namba, Y Nakamura, S Akagi, S Sakuragi, T Minagawa, Y Kawai, K Nakamura, H Ito
2. 発表標題 Drug effect of luseogliflozin and voglibose on heart failure with preserved ejection fraction in diabetic patients: a multicenter randomized-controlled trial
3. 学会等名 ESC Congress 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤 浩
2. 発表標題 ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬 (MRB) を知る、活かす
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 伊藤 浩
2. 発表標題 高血圧診療におけるMRA の役割
3. 学会等名 第42回日本高血圧学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤 浩
2. 発表標題 心房細動合併PCI患者 (12か月以内) にASAは必要か? ENTRUST試験 (メタ解析含む)
3. 学会等名 ARIA (Alliance for Revolution and Interventional Cardiology Advancement) 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔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
研究分担者	中村 一文 (Nakamura Kazufumi) (10335630)	岡山大学・医歯薬学域・准教授 (15301)	
研究分担者	赤木 達 (Akagi Satoshi) (60601127)	岡山大学・医歯薬学域・助教 (15301)	
研究分担者	三好 亨 (Miyoshi Toru) (70444651)	岡山大学・大学病院・講師 (15301)	

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