

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17548

研究課題名（和文）肺高血圧モデル動物における右心機能およびATP産生の経時的変化についての検討

研究課題名（英文）Right ventricular functional change in rats with pulmonary arterial function

研究代表者

佐藤 遥 (Sato, Haruka)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：90803883

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：肺高血圧症では、右心機能が予後を規定し得る。本研究では、肺高血圧モデル動物をもちいて、右室の形態学的変化、多細胞心室筋を用いた生理学的変化、心室筋ミトコンドリア内カルシウムとATP産生の変化を観察することにより、肺動脈圧の上昇に対する右室の反応を観察した。

モノクロタリンによる肺高血圧モデルラットは対照ラットと比較し、右室駆出率、右室長軸ストレインが低下し、右室収縮期圧が高く右室肥大が進行していた。

多細胞心室筋においては、肺高血圧モデルラットは発生張力、 $dF/dt$ が低下した一方、SERCA・RyRなどの収縮関連タンパク、また、ミトコンドリアカルシウムユニポートターの発現も増加していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺高血圧症は予後不良の疾患であり、右心機能が予後を規定し得る。肺高血圧により右心機能が低下していく機序について、臓器としての心臓や組織としての心筋、タンパク質レベルで観察することは、肺高血圧症に対する治療に結び付く可能性があり、臨床的意義が高い。また、右室心筋におけるミトコンドリアカルシウムユニポートターの役割を観察することは、ミトコンドリアをターゲットとした創薬・治療に結び付く可能性があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The patients survival with pulmonary arterial hypertension is determined from right ventricular (RV) function. We observed the response of the RV to elevated pulmonary arterial pressure by examining morphological changes in the RV, physiological changes using multicellular ventricular muscle, and changes in calcium and ATP production in the mitochondria.

PAH model, MCT-rats showed higher systolic RV pressure (RVP), lower RV ejection fraction (RVEF), and lower RV longitudinal strain (RVLS) in their hearts and showed lower developed force and lower  $dF/dt_{max}$  in their trabeculae. Ca handling proteins, sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase and ryanodine receptor 2 in MCT-rats were higher than these in Ctr-rats.

研究分野：循環器内科

キーワード：肺高血圧症 右心機能 多細胞心室筋

## 1. 研究開始当初の背景

### 肺高血圧症と右心不全

肺高血圧症患者では、肺動脈圧の上昇に伴う圧負荷・容量負荷のために右心機能が低下し、右心機能の低下は予後を規定する重要な因子となる。近年、治療薬の開発が進んでいるものの、依然として特発性肺動脈性肺高血圧症患者の5年生存率は50%程度と不良である。肺高血圧症の主因は肺血管床の減少であるが、肺高血圧発症時すでに60%以上の正常肺血管床が障害されており、診断確定時には病期としては進行し右心機能も低下している。しかし、肺動脈圧の上昇に伴う右心室の形態学的・組織学的変化が、経時的に進行する右心機能の低下にどのように影響するのかは不明である。

また、肺高血圧症の治療は肺動脈圧を低下させることが主体であるのに対し、その予後は右心機能に左右されるため、治療指標の設定が困難である。そのため、肺動脈圧の上昇によって右心機能が経時的にどのように変化するのかを解明することは、右心機能の低下や右室心筋の障害を早期に評価し、肺高血圧症患者の早期発見と予後の改善に結び付くと考えられた。

### ミトコンドリア内カルシウムと心不全

心不全の発症時、細胞内カルシウム動態はさまざまな変化を遂げている。2011年ミトコンドリア内膜に存在するカルシウム・ユニポーター(MCU)が特定され、ミトコンドリアへのカルシウムの過剰な流入はミトコンドリア内カルシウム濃度を上昇させ、細胞死を引き起こすことが報告されている。一方で、不全心筋に関しては、MCUの開口確立が低下すること、また、ミトコンドリアからのカルシウム排出抑制が心不全増悪を抑制することが報告されており、ミトコンドリア内カルシウムの低下が心不全の増悪に関与する可能性が示唆されている。

実際に、ミトコンドリア内カルシウムの低下はATP産生を低下させ、心筋の収縮特性に影響を与えることが報告されている。しかし、心不全の増悪にミトコンドリア内カルシウムがどのように関与するのかは不明な点が多い。

## 2. 研究の目的

肺高血圧モデル動物を用いて、肺動脈圧が上昇していく過程において形態学的な右室変化や組織学的な心筋障害に与える影響を心臓MRIで観察し明らかにすること、多細胞心室筋の生理的な心筋収縮能や細胞内・ミトコンドリア内カルシウム動態・ATP産生に与える影響を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

- (1) 心臓MRIを用いた右室機能変化および組織学的変化の観察と右室圧上昇に対する右室代償性の評価  
肺高血圧動物モデルとして、モノクロタリンを皮下注し3-5週後にラット肺高血圧モデルが完成した。  
7T-MRIを用いてcine imagingを撮影した。その際、エンドセリン1を投与することで急激な右室圧上昇に対する右室収縮の変化を観察した。  
画像解析には画像処理ワークステーションVitrea(TOSHIBA, JAPAN)を用い、容量計測、ストレイン解析を行った。
- (2) 肺高血圧動物モデルの心筋収縮能の評価  
モノクロタリン投与後3-5週の時点で経静脈的に右室圧を測定し、エンドセリン1投与による右室圧の上昇を観察した。  
その後、右室心筋から多細胞心室筋を摘出し、張力トランスデューサーを用いて、心筋の発生張力を記録した。多細胞心室筋に対してもエンドセリン1を投与し、発生張力に対するエンドセリン1の働きを観察した。
- (3) 肺高血圧動物モデルのタンパク発現量の比較  
モノクロタリン投与後3-5週の肺高血圧モデルマウスの、右室心筋におけるMCU、SERCA、RyRといった収縮関連タンパクの発現量を観察する。
- (4) 肺高血圧MCU欠損マウスを用いたミトコンドリア内カルシウムと収縮能・代償能の観察  
MCU<sup>flox/flox</sup>マウスと-myosin heavy chain(Myh6)-cre<sup>+/-</sup>マウスを交配し、心筋特異的MCU欠損マウス(MCU<sup>flox/flox</sup>/Myh6-cre<sup>+/-</sup>)を作製する。心筋特異的MCU欠損マウスのリッターメイトマウスをコントロールとし、各々で肺動脈を結紮した肺高血圧マウスとコントロールマウスを作製する。これら4群において(1)-(3)と同様の観察を行う。

## 4. 研究成果

肺高血圧モデルのラット(モノクロタリン皮下注後4週間)と対照ラットとを作成し、7-

T 小動物高磁場 MRI 装置を用いて心臓シネ画像を撮影した。肺高血圧モデルラットは対照ラットと比較し、右室駆出率 (RVEF)、右室長軸ストレイン (RVLS) が低下していた。また、肺高血圧モデルラットでは、右室収縮期圧が高く右室肥大が進行していた。

右室から多細胞心室筋を摘出し、発生張力 (F) および心筋収縮力として  $dF/dt$  を測定したところ、肺高血圧モデルラットは発生張力、 $dF/dt$  が低下していた。さらに、RVLS は RVEF よりも  $dF/dt$  と相関がみられた。また、MCT ラットにおいては、SERCA・RyR などの収縮関連タンパクの発現が増加し、また、ミトコンドリアカルシウムユニポーターの発現も増加していた。

肺高血圧モデルラットでは、右室円周方向ストレイン (RVCS) が上昇している群、低下している群に分けられ、エンドセリン-1 による右室圧を上昇させると、上昇している群では、RVCS が変化しないものの、低下している群では RVCS がさらに低下し、それぞれの群で異なる結果を示した。これらの結果は、RVCS が右室の代償力を示しうると考えられた。

MCU ノックアウトマウスを用いて、ミトコンドリアカルシウムと収縮の関係性について検討するため、現在、ミトコンドリアカルシウム輸送タンパク (MCU) ノックアウトマウスを作成中であり、肺高血圧モデル動物を用いて引き続き実験を予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Haruka Sato
2. 発表標題 CMR feature tracking cloud assess right ventricular functional reserve with pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 euroCMR 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruka Sato
2. 発表標題 Right ventricular longitudinal strain with CMR can more accurately estimate right ventricular functional reserve in rats with pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 ESC Congress 2020 - The Digital Experience (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Haruka Sato
2. 発表標題 Right ventricular strain by CMR is an important parameter to assess right ventricular functional reserve with pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruka Sato
2. 発表標題 Right ventricular longitudinal strain with CMR is useful to estimate its contractile properties in rats with pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 euroCMR 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 染谷 柚夏
2. 発表標題 ラット肺高血圧症モデルにおける 右室長軸ストレインと摘出心室筋の収縮力指標に対する比較検討
3. 学会等名 日本心臓血管放射線研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuka Someya
2. 発表標題 Right Ventricular Longitudinal Strain with CMR More Accurately Estimates Right Ventricular Contractile Properties in Rats with Pulmonary Arterial Hypertension
3. 学会等名 日本循環器学会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Haruka Sato
2. 発表標題 Right ventricular strain can assess right ventricular functional reserve in rats with pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 第87回日本循環器学会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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