

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：22701

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2020

課題番号：18H06200・19K21305

研究課題名（和文）収縮機能の保持された心不全におけるCa²⁺過負荷の役割と新たな治療方法の開発

研究課題名（英文）The role of the calcium overload in the heart failure with preserved ejection fraction

研究代表者

上村 大輔（KAMIMURA, Daisuke）

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：80631340

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,500,000 円

研究成果の概要（和文）：左心室の収縮機能が正常な状態でも心不全となる病態に対して、新しい糖尿病治療薬であるSGLT2阻害薬の効果を検討しました。この病態の動物モデルに対して、エンパグリフロジン投与すると、対照群と比較して体重、血圧や脈拍、塩分の出納バランスなどには差がなかったものの左心室の肥大が退縮しており、心臓の負担を表すホルモン(BNP)の心臓における発現量も減少していました。我々は、これがエンパグリフロジンによる心臓への直接的な効果であると考えており、そのメカニズムの解明をすすめています。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでにSGLT2阻害薬が収縮性の保持された心不全に対し効果があるかどうか、大規模臨床試験での結果は得られていない。当研究では収縮性の保持された心不全の動物モデルにおいて、エンパグリフロジンが血行動態や体重、塩分バランスなどに影響を与えていないにもかかわらず左室の肥大を抑制している結果を得ている。したがって、同薬剤が収縮性の保持された心不全に対しても効果がある可能性を示せたこと、また、心臓への直接的な効果を示唆していることも学術的な意義として大きいと考えている。今後さらに、そのメカニズムを明らかにするために心臓組織におけるカルシウムハンドリング蛋白の発現への効果をみる予定である。

研究成果の概要（英文）：We examined the effects of SGLT2 inhibitor on the heart failure which develops even under the condition that the left ventricular systolic function is preserved. In the model of this disease, administration of the Empagliflozin suppressed the left ventricular hypertrophy, and decreased the expression levels of the hormone which reflects the burden on the heart (BNP) even there were no differences in the body weight, systolic blood pressure, pulse rate, and in-out balance of the sodium compared with the age matched control. We think the effect would be the direct effect of Empagliflozin on the heart, and now still continuing the study to clarify the mechanisms.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心不全 SGLT2阻害薬 拡張機能障害

1. 研究開始当初の背景

心不全の約半数は左室収縮機能が保持され拡張機能障害を主体とする心不全 (HFpEF) であり、その頻度は増加傾向にある。また、収縮機能の低下した心不全 (HFrEF) は予後が改善しつつある状況とは反対に、HFpEF の予後は改善されておらず、これはこの病態に有効な治療戦略が十分に確立されていないことが原因である (Vasan RS, et al. J Am Coll Cardiol Img 11:1-11, 2018)。これまでに HFrEF に対して有効性がしめされた治療薬 (ACE 阻害薬、ARB、 β 遮断薬、アルドステロン拮抗薬など) は、HFpEF に対する大規模臨床試験で明らかな効果が示されず (Yusuf S, et al. Lancet 362:777-81, 2003; Cleland JG, et al. Eur Heart J 27:2338-45, 2006; Massie BM, et al. N Engl J Med 359:2456-67, 2008; Pitt B, et al. N Engl J Med 370:1383-92, 2014)。HFpEF の分子機序解明、新規治療標的発見が望まれている。

研究代表者は、これまでの検討において、ヒト HFpEF の病態モデルである、Dahl 食塩感受性ラット HFpEF モデルを用いて、このタイプの心不全では心筋細胞や心臓線維芽細胞において細胞内 Na^+ 濃度の上昇とそれに伴う心筋 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換輸送体 (NCX) の Ca^{2+} 流入モード活性化による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が病態形成に関与している可能性を示してきた (Kamimura D, et al. Eur Heart J 33:1408-16, 2012)。

したがって、本研究では収縮機能の保持された心不全を呈する Dahl ラットモデルを切り口に、心筋での細胞内 Ca^{2+} 動態の恒常性破綻に着目し、収縮機能が保持され拡張機能障害を主体とした心不全 (HFpEF) の病態において、心筋細胞・線維芽細胞の細胞内 Na^+ 濃度の上昇とそれに伴う $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換輸送体 (NCX) が関連した Ca^{2+} 過負荷を主徴とする Ca^{2+} 動態異常の意義を検証し、新しい治療標的となるか検討することとした。

2. 研究の目的

1) HFpEF の病態において、心筋細胞・線維芽細胞の細胞内 Na^+ 濃度の上昇とそれに伴う $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換輸送体 (NCX) が関連した Ca^{2+} 過負荷を主徴とする Ca^{2+} 動態異常の病態生理学的意義とそれにまつわる分子機序の解明、2) HFpEF に対する Ca^{2+} 動態異常の分子機序に基づく新たな治療標的の同定、を目的とした。

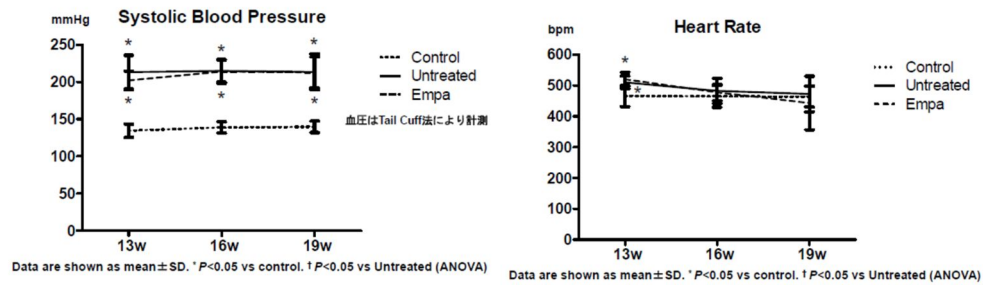
研究代表者は、大学院の時に所属していた研究施設において確立された、ヒト HFpEF の病態を反映する Dahl 食塩感受性ラット - HFpEF モデルを用いて、心筋細胞や心臓線維芽細胞での細胞内 Na^+ 濃度の上昇とそれに伴う心筋 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換輸送体 (NCX) を介する Ca^{2+} 流入モード活性化による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が HFpEF に関与しているという新規病態機序の可能性を初めて提唱した実績がある (Kamimura D, et al. Eur Heart J 33:1408-16, 2012)。今回の研究では新たに心筋 Na^+/H^+ 交換輸送体 (NHE) と細胞内 Na^+ 濃度の上昇および Ca^{2+} 過負荷との関係性について検討することとした。糖尿病治療薬である Sodium glucose cotransporter2 (SGLT2) 阻害薬は Class effect として心筋細胞の NHE を阻害して細胞内 Na^+ 濃度および Ca^{2+} 濃度を低下させる可能性が示されており、大規模臨床試験にて示された SGLT2 阻害薬の心不全予防効果が NHE を介したものである可能性がある。今回 SGLT2 阻害薬の HFpEF に対する予防効果を心筋 Ca^{2+} 動態への影響にも着目して検討し、これまでの研究代表者の研究成果も踏まえ、糖尿病治療薬である SGLT2 阻害薬を新たに HFpEF 治療薬としてのドラッグ・リポジショニングについて試みることにしていた。

3. 研究の方法

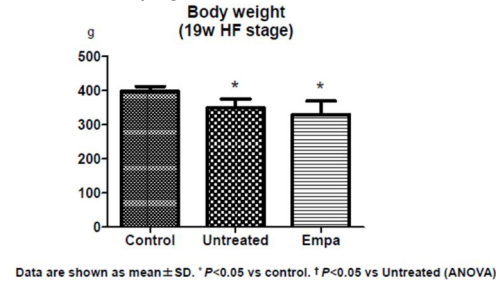
Dahl 食塩感受性ラットに 8% 高食塩食を 6 週齢より投与すると、19-21 週において収縮性が保持されたまま心不全を発症する。同モデルにおける 13 週齢はヒトにおいて、高血圧があり左室肥大があるが、心不全を発症していない状態で、ACC/AHA ガイドラインの心不全ステージ B に相当する。現在心不全治療のトレンドとして、より前のステージの段階から予防を試みることで、ステージの進行や心不全そのものの発症を予防する重要性が論じられている。従って今回、13 週齢より降圧効果のない用量において SGLT2 阻害薬である Empagliflozin の投与を行い、投薬による体重、収縮期血圧や脈拍 (テールカフ法)、塩分の In-out balance (代謝ケージ) などへの影響をみるとともに、心臓超音波検査法による左室形態、左室収縮機能、拡張機能へ影響、さらにはカテーテルを用いた心臓の結構動態への影響、解剖後の左室心筋重量係数、左室線維化への効果などを検討した。

4. 研究成果

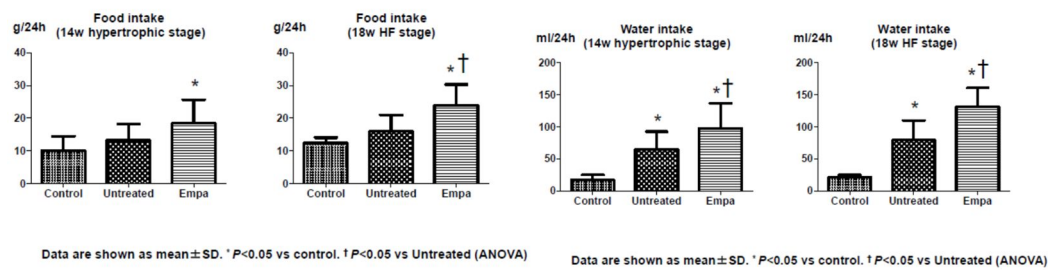
- ・収縮期血圧や脈拍は Empagliflozin の投与の有無で変化はなかった。



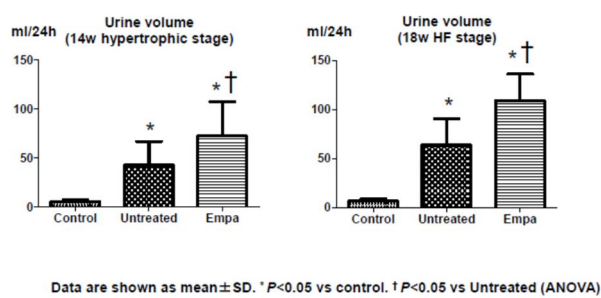
- ・体重は Empagliflozin の投与の有無で変化はなかった。



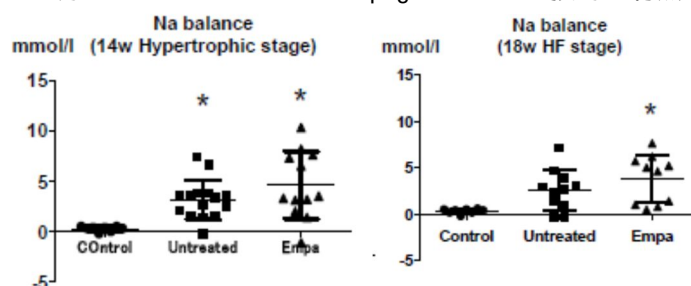
- ・摂餌量および飲水量は Empagliflozin の投与により代償性肥大期(14 週)および心不全期(18 週)で増加していた。



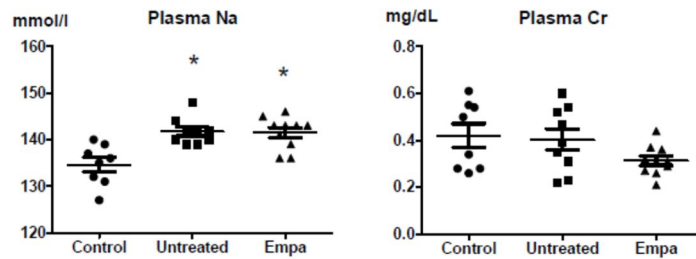
- ・尿量は Empagliflozin の投与により代償性肥大期(14 週)および心不全期(18 週)で増加していた。



- ・塩分の In-out バランスは Empagliflozin の投与の有無で変化はなかった。



・血漿中の Na 濃度および Cr 濃度は Empagliflozin の投与の有無で変化はなかった。



Data are shown as mean $\pm$ SD. * $P < 0.05$ vs control. † $P < 0.05$ vs Untreated (ANOVA)

・心臓超音波で Empagliflozin の投与により左室壁の壁肥厚が退縮し、相対的壁厚が低値であった。つまり、求心性肥大を抑制することがわかった。

	Control	Untreated	Empa
EF (%)	73 $\pm$ 4	70 $\pm$ 8	67 $\pm$ 6
FS (%)	0.35 $\pm$ 0	0.33 $\pm$ 0.1	0.31 $\pm$ 0
LVDd (mm)	9.2 $\pm$ 0.3	9.3 $\pm$ 0.9	9.2 $\pm$ 0.8
IVSd (mm)	1.4 $\pm$ 0.1	2.0 $\pm$ 0.1*	1.9 $\pm$ 0.1*
PWd (mm)	1.3 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.2*	1.8 $\pm$ 0.2†
RWT	0.29 $\pm$ 0.01	0.42 $\pm$ 0.04*	0.38 $\pm$ 0.04†
E	90 $\pm$ 9	92 $\pm$ 22	98 $\pm$ 17
A	29 $\pm$ 16	54 $\pm$ 30	62 $\pm$ 34
E/A	4.2 $\pm$ 2.3	2.4 $\pm$ 1.6	2.5 $\pm$ 2.3
DT	46 $\pm$ 7	45 $\pm$ 7	46 $\pm$ 6

LVDd = left ventricular end-diastolic dimension, IVSd = interventricular septum thickness at end-diastole, PWd = left ventricular posterior wall thickness at end-diastole, RWT = Relative wall thickness, FS = Fractional Shortening, DT = Deceleration time, Relative wall thickness = $2 \times \text{PWd} / \text{LVDd}$, Fractional Shortening = $(\text{LVDd} - \text{LVDs}) / \text{LVDd} \times 100$

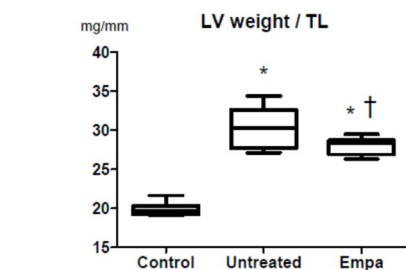
Data are shown as mean $\pm$ SD. * $P < 0.05$ vs control. † $P < 0.05$ vs Untreated (ANOVA)

・左室カテーテルでは、左室拡張の指標である Peak negative dp/dt および Tau が Empagliflozin 投与により改善傾向にあった（ただし、統計学的には有意ではない。）

	Control	Untreated	Empa
LV end-diastolic pressure, mmHg	3.9 $\pm$ 1.8	7.2 $\pm$ 4.3	6.6 $\pm$ 1.4
Peak positive dp/dt, mmHg/s	8256 $\pm$ 962	6473 $\pm$ 3023	6159 $\pm$ 1766
Peak negative dp/dt, mmHg/s	-6331 $\pm$ 923	-3625 $\pm$ 1545*	-4213 $\pm$ 1233*
Peak positive dp/dt/p, s ⁻¹	101 $\pm$ 10	80 $\pm$ 28	78 $\pm$ 15
Peak negative dp/dt/p, s ⁻¹	-62 $\pm$ 11	-37 $\pm$ 7*	-38 $\pm$ 5*
Tau, ms	21.5 $\pm$ 3.3	37.3 $\pm$ 9.4*	29.6 $\pm$ 5.2*
LV end-diastolic pressure/LVDd, mmHg/mm	0.43 $\pm$ 0.18	0.77 $\pm$ 0.42	0.72 $\pm$ 0.10

Data are shown as mean $\pm$ SD. * $P < 0.05$ vs control. † $P < 0.05$ vs Untreated (ANOVA)

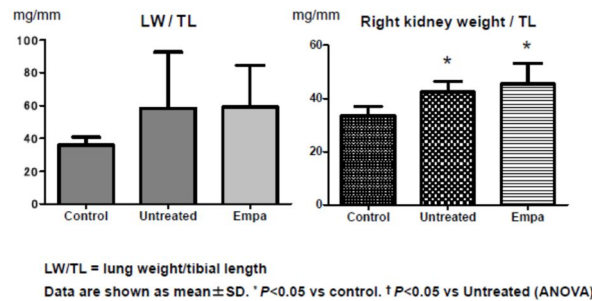
・解剖後の左室心筋重量は Empagliflozin の投与により低下していた。



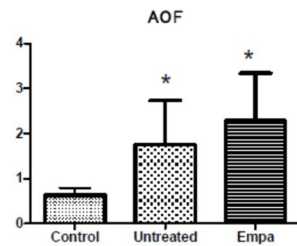
LV weight/TL = left ventricular weight/tibial length

Data are shown as mean $\pm$ SD. * $P < 0.05$ vs control. † $P < 0.05$ vs Untreated (ANOVA)

- ・解剖後の肺重量や腎重量は Empagliflozin の投与による変化を認めなかった。

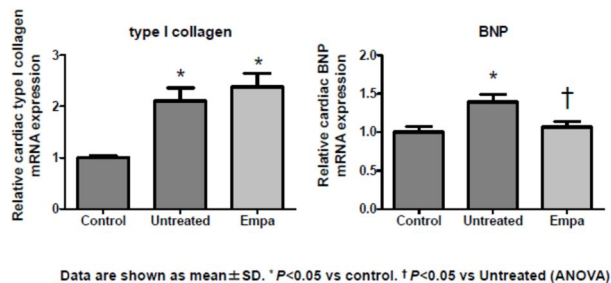


- ・左室線維化面積は Empagliflozin の投与による変化を認めなかった。



Data are shown as mean $\pm$ SD. * $P < 0.05$ vs control, † $P < 0.05$ vs Untreated (ANOVA)

- ・左室における BNP の mRNA 発現量は Empagliflozin の投与により低下していた。
- 一方、Type Collagen の mRNA 発現量は Empagliflozin の投与による変化を認めなかった。



これらの結果から、収縮性の保持された心不全の動物モデルにおいて、Empagliflozin が血行動態や体重、塩分バランスなどに影響を与えていないにもかかわらず左室の肥大を抑制していると考えられる。臨床研究において、Empagliflozin や Dapagliflozin はいずれも左室心筋重量係数を低下させることが示唆されている。しかし、臨床研究における結果は降圧や体重の減少、腎機能の改善といった効果を介した可能性が考えられていた。今回、これらのパラメーターは変化しておらず、SGLT2 阻害薬がより直接的に心臓に効果をもたらす可能性が得られている。今後、NCX や NHE など Ca ハンドリング蛋白やそれと関連する蛋白、心臓内 Ca 濃度と肥大を結ぶ細胞内シグナル伝達系について Empagliflozin による変化を認めているかどうか検証する予定である。

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