

令和元年6月8日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09422

研究課題名(和文)メタボロミクスを用いた心肺血管疾患における代謝リモデリングの解析

研究課題名(英文) Analysis of metabolic remodeling using metabolomics in cardiopulmonary vascular disease

研究代表者

尾崎 和幸 (Kazuyuki, Ozaki)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：60758366

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：これまで、我々は138名的心肺血管疾患患者において探索的にメタボローム解析を行った。その結果、特に虚血性心筋症における低心機能患者において、ピルビン酸、乳酸の心臓への取り込みの減少等、いくつかの代謝産物に変化があることを確認した。さらに、非虚血性心筋症に伴う低心機能患者では、一部の代謝産物において虚血性心筋症とは異なる動態を示すことも判明しつつある。詳細な臨床データとの解析も現在進行中である。また、重要と思われる代謝産物では心不全モデルマウスでの検討も開始した。今後、さらなる症例の蓄積、フォローアップデータの解析を行う予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心肺血管疾患における代謝リモデリングは未知の事象が多い。本研究では、メタボロミクスを用い、臨床的指標と比較検討することにより、心肺血管疾患患者における代謝リモデリングの解明を目指し、心肺血管疾患の病態解明、新しい治療戦略の基盤の構築、病状把握のためのバイオマーカーを確立し、その結果を基礎研究へ還元することによりより深い病態解明につなげることを目標としている。今後、症例の蓄積、フォローアップデータの解析、対象疾患の絞り込みによるより詳細な検討を行い、基礎的検討の結果とも合わせ、具体的な臨床応用へ期待が持たれる。

研究成果の概要(英文)： We analysed metabolic remodeling using metabolomics in 138 cardiopulmonary vascular disease patients until now. As a result, metabolic changes of some metabolites, for example, decrease of uptake of pyruvate and lactate to heart were revealed in the ischemic cardiomyopathy with cardiac dysfunction. In addition, different dynamic movement of some metabolites was been improving in the low cardiac function patients with non-ischemic cardiomyopathy. The analysis with clinical data is now going. The examination with the model mouse of heart failure about some metabolites considered to be important was started. Analysis of further cases and follow-up data is planned hereafter.

研究分野：循環器内科学

キーワード：メタボロミクス 心肺血管疾患

1. 研究開始当初の背景

心不全とは、心臓のポンプ機能障害により全身の組織代謝に見合うだけの血液量を絶対的にまた相対的に供給できない状態であり、肺・体静脈系または両系にうっ血を来し日常生活に障害を生じる臨床症候群と定義される。原因疾患は、心筋梗塞等の冠動脈疾患、心臓弁膜症、各種心筋症、肺動脈疾患等の心肺器質的疾患、高血圧症、貧血、甲状腺疾患等の全身疾患等、多岐にわたる。その心不全はあらゆる心臓病の終末像であり、種々の薬物療法(ベータ遮断薬、アンギオテンシン変換酵素阻害薬、アンギオテンシン II 受容体拮抗薬、アルドステロン拮抗薬)や非薬物療法(心臓再同期療法、非侵襲的陽圧換気療法)が進歩した現在においても、癌とともに未だに予後不良な疾患群の一つである。また、急速に進行している社会の高齢化や、食生活・生活様式の変化による肥満関連疾患(高血圧症、糖尿病、脂質異常症など)の増加と相俟って、日本の心不全患者は、2035年にはおよそ130万人に到達すると予測されている。これらの現状に対応すべく、心血管疾患の発症と進展に関与する未知のメカニズムの継続的な探求とそれらを標的とする新規治療法の開発は極めて重要な課題である。

心臓は、脂肪酸やグルコースなどからエネルギー通貨であるATPを効率よく生合成することにより絶え間ない収縮と弛緩を繰り返し、全身へ血液を循環させるポンプの役割を果たしており、その基礎的メカニズムについては既に多くの知見が存在する(文献1、右図)。一方、心不全においては、脂肪酸やグルコースなどの利用障害やミトコンドリアの機能異常によるエネルギー生合成の低下、すなわち非心不全状態とは異なったエネルギー代謝の変化(代謝リモデリング)が生じているとされている(文献1)。このような代謝リモデリングは、心機能障害のみならず心臓リモデリングの進展にも影響を及ぼす。また、肺高血圧疾患においては、基礎実験レベルにおいて、各種代謝をターゲットとした治療介入の可能性が示されている(文献2、右図)。我々のグループも独自に研究を進め、老化に伴う代謝リモデリングが様々な心肺血管疾患の病態生理に関与する可能性を示唆してきた(Nature 2007, Nat Med 2009, Cell Metab 2012, Cell Metab 2013, Cell Rep 2014)。しかしながら、基礎研究では多くの知見が得られているものの、心肺血管疾患における代謝リモデリングは依然として未知の部分が多く、臨床におけるデータは皆無に等しい。また数千種類といわれる代謝物質全てを解析することは困難を伴う。近年、ガスクロマトグラフ・液体クロマトグラフ・キャピラリー電気泳動などの高分解能を有する分析計に、高感度かつ高選択検出器である質量分析計を組み合わせた網羅的代謝物質解析技術(メタボロミクス)が確立され、様々な臨床分野における疾患の病態解析に応用されつつある(文献3)。このメタボロミクスを利用することにより、心血管疾患における代謝リモデリングの詳細な解析が可能となるため、心肺血管疾患の発症と進展に関与する未知の代謝メカニズムの発見が期待できる。また、この結果得られた代謝産物は疾患の病状、病態、あるいは治療介入の結果を示すバイオマーカーとして有用である可能性が高く、さらに遺伝子改変マウスの作成等、より深い病態解明を目的とした基礎研究の検討も可能である。

文献

1. Neubauer S. The Failing Heart — An Engine Out of Fuel. N Engl J Med 2007; 356: 1140-51.
2. Sutendra G and Michelakis ED. The Metabolic Basis of Pulmonary Arterial Hypertension. Cell Metab 2014; 19: 558-73.
3. Soga T, Sugimoto M, Honma M, Mori M, Igarashi K, Kashikura K, Ikeda S, Hirayama A, Yamamoto T, Yoshida H, Otsuka M, Tsuji S, Yatomi Y, Sakuragawa T, Watanabe H, Nihei K, Saito T, Kawata S, Suzuki H, Tomita M, Suematsu M. Serum metabolomics reveals γ -glutamyl dipeptides as biomarkers for discrimination among different forms of liver disease. J Hepatol 2011; 55: 896-905.

2. 研究の目的

心肺血管疾患患者においてメタボローム解析を施行し、臨床的パラメーター、心機能パラメーターとの関係を検討し、疾患特異的、病態依存的な代謝産物を同定する。平行して心肺血管マウスモデルにおいてもメタボローム解析を施行し、疾患特異的、病態依存的な代謝産物の同定を試みる。これらのデータを病態解析の足がかりとし、新たな治療介入のターゲットとしての代謝経路を同定する。さらに、病状、病態を示すバイオマーカーとして、あるいは、治療介入の指標としての可能性を検討する。

3. 研究の方法

(1) 心肺血管疾患を有する患者サンプルを用いたメタボローム解析

研究対象

目標症例数: 100 症例(本研究は探索的研究であり、結果次第では症例数を追加する可能性あり)

適格基準:

- (1) 心肺血管疾患を有するもしくはその存在が疑われる患者

- (2) 2人以上の循環器専門医により待機的心血管カテーテル検査の適応ありと判断された患者
- (3) 本研究計画について十分に理解し、本人もしくは親族による同意が可能な患者
- (4) 同意取得時における年齢が満 20 歳以上の患者

研究方法

上記適格基準に合致する患者に対して、説明文書に基づき説明を行い、本研究への参加について文書による同意を得る。心血管カテーテル検査前に、症状、理学的所見を確認、一般的血液、尿検査、12誘導心電図、胸部レントゲン検査、経胸壁的心臓超音波検査を施行する。病状により、心筋脂肪酸代謝(123I-BMIPP)心筋シンチグラフィー、陽電子放射断層撮影(FDG-PET)を施行する。全例において心血管カテーテル検査前の薬物療法を確認する。同意が得られた症例を登録し、心血管カテーテル検査を施行する。右大腿動静脈へのアプローチを原則とする。局所麻酔の後、動脈および静脈ヘシースを挿入、未分画ヘパリンを3000から5000単位静注し、検査を開始する。4から7フレンチのカテーテルを用い、右心カテーテル、冠動脈造影、左室造影を全例で施行し、疾患に応じて肺動脈、大動脈造影等の各種造影、心筋生検を追加施行する。心血管カテーテル検査を施行する際に計4カ所から血液検体(動脈:末梢動脈血・大動脈血、静脈:末梢静脈血・冠状静脈洞血)を採取する(各5mL、合計20mL)。得られた血液検体は、血漿と血清に分離し分注保存する。検査後、圧迫止血を行う。この後、原疾患に対しては必要に応じて治療介入を行う。

後日、これらの保存検体を用いてメタボロミクスによる代謝リモデリングの解析を行う(慶応義塾大学先端生命科学研究所、曾我朋義教授)。疾患特異性、心臓超音波検査による心機能との相関、採血、胸部レントゲン等による病状との関連、心臓リモデリングや薬剤治療による病状変化、臨床的アウトカムへの影響などを検討する。6ヶ月および12ヶ月後に、理学的所見、各種検査を施行し、追跡調査を行う。データ解析にあたってはプライバシー保護のため匿名化を行って施行する。なお、追跡期間中に再度心血管カテーテル検査が必要と判断された患者は、初回と同様に血液検体を採取し、メタボロミクスによる代謝リモデリングの解析を再度行う。

本研究の対象となった患者の追跡調査を計画通りに施行し、病状、心機能の変化等、臨床的パラメーターの変化と相関のある代謝産物を同定する。再度、心血管カテーテル検査が必要と判断された患者は、メタボローム解析を再度施行する。特に、代謝産物が病態との関連や薬物的介入との関連が認められた疾患については、対象条件を絞ってこの時期に症例の追加を行い、候補となった代謝産物の病態との相関性を再検証するとともに、バイオマーカーとしての有用性を検証する。心肺血管疾患マウスモデルを用いたメタボローム解析にて候補となった代謝産物についても、対象条件を絞ってこの時期に症例の追加を行い、候補となった代謝産物の病態との相関性を再検証するとともに、バイオマーカーとしての可能性を検証する。

(2) 心肺血管疾患マウスモデルを用いたメタボローム解析

心肺血管疾患を有する患者サンプルを用いたメタボローム解析と平行して、心肺血管疾患マウスモデルを作製し、心肺血管組織や血液サンプルにおけるメタボローム解析も行う。具体的には、心不全モデルとして大動脈縮作モデルや心筋梗塞モデル、肺高血圧モデルとして低酸素暴露モデル、動脈硬化モデルとしてApoE欠損マウスなどを用いる。疾患や病態と関連がありそうな代謝産物が得られた場合、ヒトの血液サンプルでも疾患や病態との関連性について検証を行う。ヒトで候補となった代謝産物については、マウスモデルにおいてバリデーションする。

心肺血管疾患を有する患者サンプルを用いたメタボローム解析、あるいは、心肺血管疾患マウスモデルを用いたメタボローム解析にて、疾患や病態と相関がありそうな代謝産物を明らかにし、その代謝経路に重要な酵素や関連分子の組織特異的遺伝子欠失マウスを作製する。心筋細胞特異的マウスの確立にはMHC-Creマウス、血管内皮細胞特異的マウスの確立にはCdh5-CreERマウス、平滑筋細胞特異的マウスの確立にはMyh11-CreERマウスを用いる。これらのマウスにおいて、上記で示した心不全モデルや肺高血圧モデル、動脈硬化モデル(ApoE欠失マウスとの交配)を作製することによって、候補となった代謝産物の病態生理学的な役割を明らかにする。

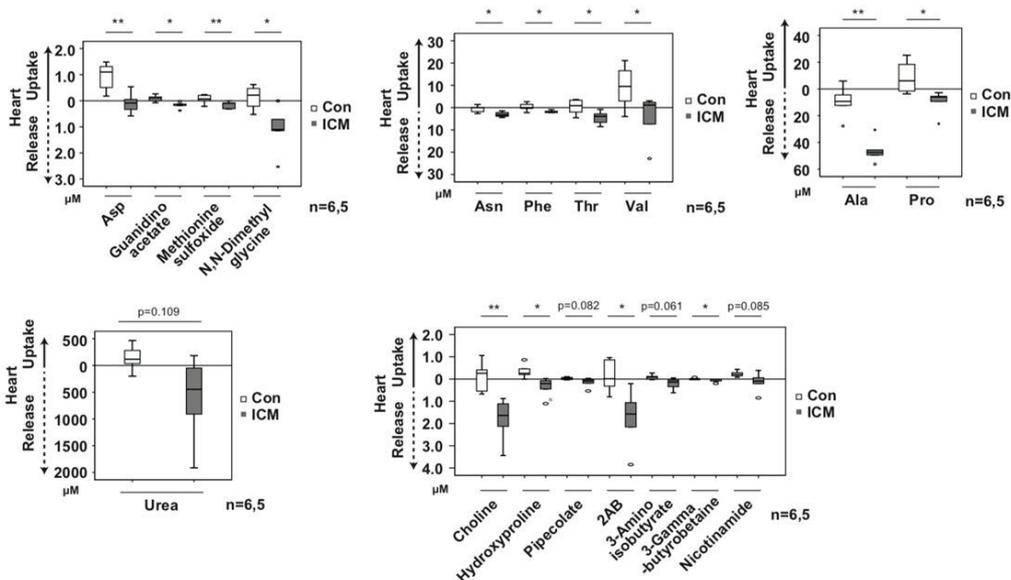
4. 研究成果

これまで、我々は138名の心肺血管疾患患者(拡張型心筋症、虚血性心筋症、心臓弁膜症、肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性血栓性肺高血圧症等)においてメタボローム解析を行った。その結果、特に虚血性心筋症における低心機能患者において下記代謝産物に変化があることを確認した。また、非虚血性心筋症に伴う低心機能患者では、一部の代謝産物では下記結果と異なる可能性があることも判明しつつある。詳細な臨床データ(血液、尿検査、12誘導心電図、胸部レントゲン検査、経胸壁的心臓超音波検査、心筋シンチグラフィー、FDG-PET、心血管カテーテル検査(右心カテーテル、冠動脈造影、左室造影、肺動脈、大動脈造影等の各種造影、心筋生検)との解析も現在進行中である。また、重要と思われる代謝産物では、心不全モデルマウスでの検討も開始した。

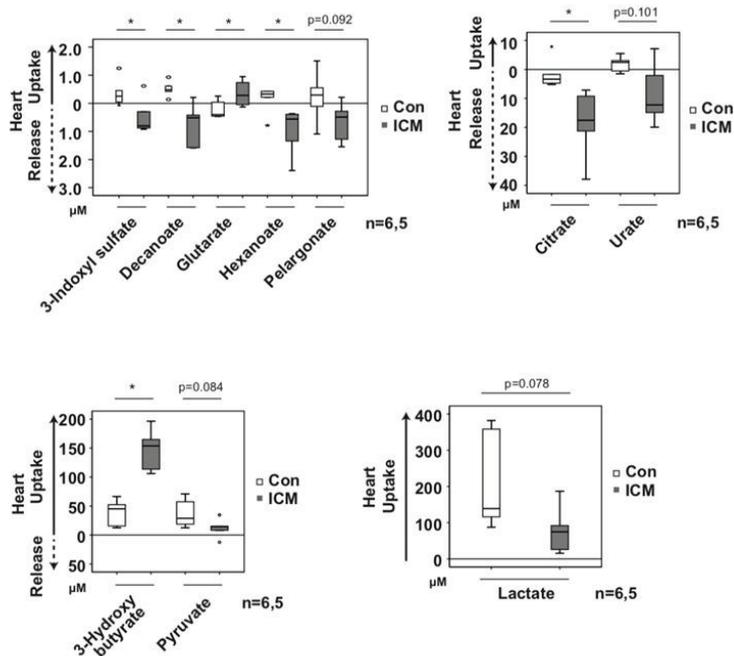
今後、さらなる症例の蓄積、フォローアップデータの解析を行う予定である。また、対象疾患の絞り込みを行い、より詳細な検討を計画している。基礎研究の推進も並行して行い、当初の目的である疾患特異的、病態依存的な代謝産物を同定する。そして、心肺血管疾患に対する新たな治療介入のターゲットとしての代謝経路を同定し、病状、病態を示すバイオマーカーとし

て、あるいは治療介入の指標としての臨床応用を見据えている。

陽イオン性代謝物質



陰イオン性代謝物質



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〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：

出願年：
国内外の別：
取得状況（計 0 件）
名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ：<http://www.med.niigata-u.ac.jp/car/>

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：南野 徹
ローマ字氏名：Tohru Minamio
所属研究機関名：新潟大学大学院医歯学総合研究科
部局名：循環器内科学分野
職名：教授
研究者番号（8桁）：90328063

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：小澤拓也
ローマ字氏名：Takuya Ozawa
研究協力者氏名：柳川貴央
ローマ字氏名：Takao Yanagawa
研究協力者氏名：保屋野真
ローマ字氏名：Makoto Hoyano
研究協力者氏名：田中孔明
ローマ字氏名：Komei Tanaka
研究協力者氏名：清水逸平
ローマ字氏名：Ippei Shimizu
研究協力者氏名：高野俊樹
ローマ字氏名：Toshiki Takano
研究協力者氏名：久保田直樹
ローマ字氏名：Naoki Kubota
研究協力者氏名：崎村建司
ローマ字氏名：Kenji Sakimura
研究協力者氏名：奥田修二郎
ローマ字氏名：Syujiro Okuda
研究協力者氏名：曾我朋義
ローマ字氏名：Tomoyoshi Soga

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。