

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11578

研究課題名(和文) 低ナトリウム血症による心筋障害の機序解明と新規心不全治療戦略の構築

研究課題名(英文) Effects of hyponatremia on cardiac susceptibility to ischemia/reperfusion injury

研究代表者

手嶋 泰之 (TESHIMA, YASUSHI)

大分大学・医学部・講師

研究者番号：10457608

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では低ナトリウム濃度への曝露による心筋虚血耐性への影響について培養心筋細胞とモデル動物を用いて明らかにした。

低ナトリウム濃度への曝露により心筋における活性酸素種量と細胞内カルシウム濃度が有意に上昇し酸化ストレスに対する脆弱性が亢進していた。透過型電子顕微鏡を用いてミトコンドリアの形態学的変化を評価した結果、低ナトリウムモデルの心筋ではミトコンドリアが膨化し、著明なクリステの破壊像を認めた。ランゲンドルフ心臓灌流装置を用いて心臓を低酸素に曝露した結果、低ナトリウム血症モデルでは再灌流後の左室内圧の回復が減弱しており、さらに心筋梗塞領域の拡大を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低ナトリウム血症が心不全患者の予後を悪化させる関連性が以前より指摘されていた。今回の研究結果より低ナトリウム濃度への曝露が直接的に心筋細胞に作用し細胞内カルシウム過負荷や活性酸素種増加を介して細胞障害を惹起することを明らかにした。さらに低ナトリウム血症への曝露により虚血再灌流に対する脆弱性が亢進することも見出した。これらの研究結果は低ナトリウム血症の予防と補正が心疾患の発症と増悪の抑制に有効である可能性を強く示唆している。特に虚血性心疾患における心筋ダメージが低ナトリウムにより拡大することから再灌流療法前に介入することで有望な治療ターゲットとなりうると考える。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effect of hyponatremia on the ability of the heart to recover from ischemia/reperfusion episodes. Cardiomyocytes were exposed to low sodium concentration (110, 120, or 130 mEq/L) for 72 h. Exposure of cardiomyocytes to each of the low sodium medium significantly increased both of ROS and intracellular Ca²⁺ levels compared with the exposure to the normal sodium medium. In vivo, 8 week-old male Sprague-Dawley rats were divided into four groups: control group (Con), furosemide group (Fur), low sodium diet group (Lsd), and both furosemide and low sodium diet group (Fur + Lsd). The hearts subjected to global ischemia exhibited considerable decrease in left ventricle developed pressure during reperfusion and the size of infarcts induced by ischemia/reperfusion significantly increased in the Fur, Lsd, and Fur + Lsd compared with those in the Con. Hyponatremia aggravates cardiac susceptibility to ischemia/reperfusion injury by Ca²⁺ overload and increasing in ROS levels.

研究分野：循環器

キーワード：酸化ストレス カルシウム過負荷

1. 研究開始当初の背景

本邦では人口の高齢化に伴い心不全患者数は増加の一途をたどっており、2030年には130万人に達すると推測されている。心不全患者数の増加は臨床上の問題のみでなく医療経済を含んだ社会的問題でもあり、効果的かつ効率的な治療戦略の確立は喫緊の課題である。

低Na⁺血症は血清Na⁺値135mEq/L未満とされており、近年心不全患者の予後との関連性が指摘されている。例として、心不全患者において血清Na⁺値が低いほど生存率が低下した(Klein L et al. Circulation vol 111, 2005)、急性心筋梗塞患者では血清Na⁺値が低いほど心不全のリスクが高くなり、生存率が低下した(Tada Y et al. Circ J vol 75, 2011)などの報告がある。しかし現在のところ予後悪化の機序は明らかになっていない。

心不全における低Na⁺血症は水貯留がナトリウム貯留を上回ることによる希釈性低Na⁺血症である。体内の水分量は増加するが心拍出量は低下しているため有効循環血液量は減少する。それが圧受容体を刺激し交感神経系やレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系を賦活することが予後悪化の一因と考えられている。しかし、我々は下記の研究結果より低Na⁺血症が心筋細胞に直接作用する可能性を考えている。

2. 研究の目的

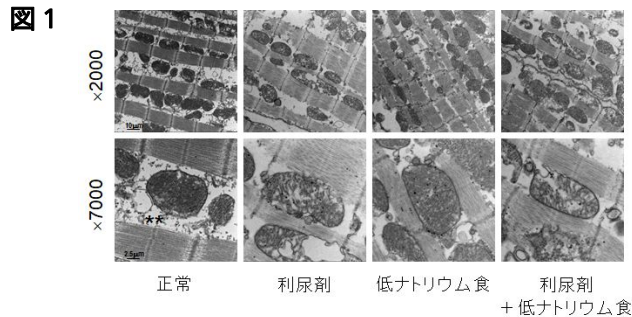
低ナトリウム血症は慢性心不全患者で認められる電解質異常であり、心疾患に影響する因子と考えられている。その原因はまだ十分に解明されていないが、低ナトリウム状態における細胞内カルシウム濃度の上昇や活性酸素種の増加が関連すると考えられている。そこで今回の研究では培養心筋細胞と動物モデルを用いてその検討を行った。また、この結果を基にして低ナトリウム状態に曝露された心筋に虚血再灌流障害が起こった時の影響について検討を行った。

3. 研究の方法

新生仔ラットの心筋細胞を用いた実験では、ナトリウム濃度を110, 120, 130 mEq/L (低ナトリウム濃度群), 140 mEq/L (正常ナトリウム濃度群)にそれぞれ調整したDMEM培地を用いて72時間培養を行った。負荷後の細胞内カルシウム濃度と活性酸素種の変化について検討した。また、酸化ストレスに対する心筋細胞の脆弱性については過酸化水素を添加し評価した。動物モデルを用いた実験では、8週齢のSprague Dawleyラットにフロセミドまたは低ナトリウム飼料、その両方をそれぞれ6週間投与し、低ナトリウム状態モデル(低ナトリウム群)を作製した。負荷後心筋を取り出し、細胞内カルシウム濃度と活性酸素種の変化について検討した。形態学的変化を観察するために透過型電子顕微鏡を用いてミトコンドリアの観察を行った。虚血再灌流後の心筋への影響については、灌流装置を用いて摘出心を一時的に虚血状態とする方法で経時的に左室内圧を測定し、虚血再灌流後の梗塞領域を評価するため灌流後の心臓にTTC染色を行った。

4. 研究成果

心筋細胞を用いた実験では、低ナトリウム濃度群を正常ナトリウム濃度群と比較したところ、細胞内カルシウム濃度と活性酸素種の有意な上昇を認めた。過酸化水素による酸化ストレスを心筋細胞に負荷したところ、低ナトリウム濃度群においてより細胞障害を認める結果が得られた。また、動物モデルにおいても心筋細胞を用いた時と同様に細胞内カルシウム濃度と活性酸素種の有意な上昇を認めた。透過型電子顕微鏡で観察したところ、低ナトリウムモデル群においてミトコンドリアの膨化とクリステの破壊像を認めた（図1）。



灌流装置を用いた実験では、低ナトリウムモデル群において虚血再灌流後の左室内圧がより低下しており（図2）、心筋梗塞領域の有意な拡大を認めた（図3）。

図2

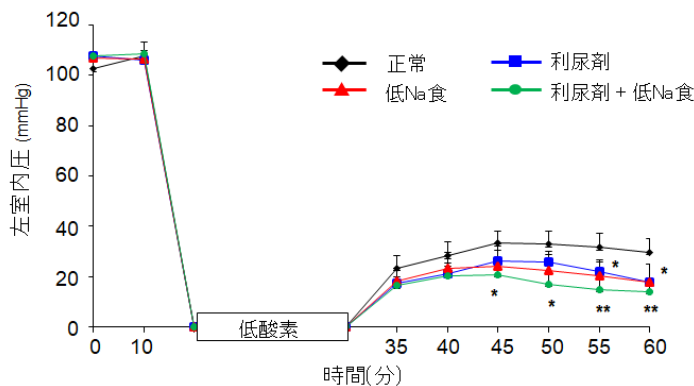
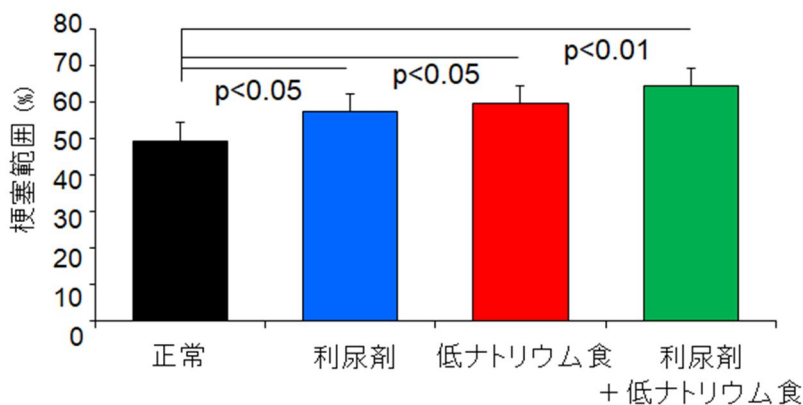


図3



低ナトリウム状態に曝露されることにより虚血再灌流後の心筋障害の増悪が認められた。これは、低ナトリウム状態で引き起こされるナトリウムカルシウム交換系(NCX)の reverse mode の働きやリン酸化 CaMK- の増加から起こる細胞内カルシウムの過負荷と活性酸素種の増加による影響が考えられた。低ナトリウム血症により虚血再灌流後の心筋障害はより悪化しており、その原因として細胞内カルシウムの過負荷と活性酸素種の増加による影響が考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kume O, Teshima Y, Abe I, Ikebe Y, Oniki T, Kondo H, Saito S, Fukui A, Yufu K, Miura M, Shimada T, Takahashi N	4. 巻 27
2. 論文標題 Role of atrial endothelial cells in the development of atrial fibrosis and fibrillation in response to pressure overload	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cardiovasc Pathol	6. 最初と最後の頁 18-25
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.carpath	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sonoda Y, Teshima Y, Abe I, Ebata Y, Oniki T, Kira S, Kondo H, Saito S, Yufu K, Miyamoto S, Shimada T, Takahashi N	4. 巻 81
2. 論文標題 Macrophage Infiltration Into the Endothelium of Atrial Tissue in Atrial Fibrillation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Circ J	6. 最初と最後の頁 1742-1744
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1253/circj.CJ-16-1072	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahiro Oniki, Yasushi Teshima, Satoru Nishio, Yumi Ishii, Shintaro Kira, Ichitaro Abe, Kunio Yufu, Naohiko Takahashi	4. 巻 100
2. 論文標題 Hyponatremia aggravates cardiac susceptibility to ischemia/reperfusion injury	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Exp Pathol	6. 最初と最後の頁 350-358
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/iep.12338.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鬼木崇裕、手嶋泰之、高橋尚彦
2. 発表標題 低ナトリウム血症による心筋虚血耐性の低下とその機序について
3. 学会等名 第28回日本病態生理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Oniki T, Teshima Y, Kira S, Miyoshi M, Abe I, Ikebe Y, Yufu K, Takahashi N.
2. 発表標題 Hyponatremia Aggravates Cardiac Susceptibility to Ischemia/Reperfusion Injury
3. 学会等名 第2回日本循環器学会基礎研究フォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Oniki T, Teshima Y, Kira S, Miyoshi M, Abe I, Ikebe Y, Yufu K, Takahashi N.
2. 発表標題 Hyponatremia Aggravates Cardiac Susceptibility to Ischemia/Reperfusion Injury
3. 学会等名 第65回日本不整脈心電学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鬼木崇裕
2. 発表標題 低ナトリウム曝露による心筋虚血耐性への影響
3. 学会等名 第27回日本病態生理学会大会
4. 発表年 2017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
研究協力者	鬼木 崇裕 (Oniki Takahiro)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力者	安部 一太郎 (Abe Ichitaro)		