

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19590138
 研究課題名（和文）
 標識脂肪酸および標識糖を用いた心臓のエネルギー獲得機能評価に関する研究
 研究課題名（英文）
 Evaluation of cardiac energy-getting system by use of labeled fatty acids and labeled sugars.
 研究代表者
 高橋 俊博（TAKAHASHI TOSHIHIRO）
 新潟大学・医歯学系・教授
 研究者番号：70143039

研究成果の概要（和文）：

2種の標識薬剤（標識脂肪酸、標識糖）および心不全モデル作製動物を用いて、心臓集積性経時変化実験、心筋局所集積性画像化実験等を行い、心不全病期進行過程（正常→急性期→慢性期）における心臓エネルギー獲得機能の変化を検討した。その結果「脂肪酸代謝機能は急性期において障害を受け、その障害がそのまま次の慢性期に残ること、また糖代謝においては、慢性期に入ってその機能が遅れて、緩やかに亢進してくること」が明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

We investigated the change of the cardiac energy-getting system (fatty acid metabolism and sugar metabolism) during the progress of heart failure diseases using rats with dilated cardiomyopathy and two kinds of heart-accumulated radiopharmaceuticals (labeled fatty acids and labeled sugars). The process of the heart failure is as follows; normal stage → acute heart failure stage (myocarditis) → chronic heart failure (CHF) stage (myocardial fibrosis). In result, it has been shown that the fatty acid metabolism is damaged in acute heart failure stage and the damage remains in CHF stage and on the other hand, the sugar metabolism is slowly promoted in CHF stage.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：標識脂肪酸、標識糖、脂肪酸代謝、糖代謝、エネルギー獲得機能、心不全急性期、心不全慢性期

1. 研究開始当初の背景

心臓疾患は 現在 ガン, 脳疾患 とともに日本人の 3 大死因の一つとなっている。この心臓疾患では, 心臓局所のいくつかの機能に障害が起きていることが知られていて、臨床診断では 疾患の要因や障害の程度を 心臓血流量, エネルギー獲得機能, 心臓交感神経機能 等 複数の機能検査を行うことにより診断が行われている。また 心機能臨床診断に関する基礎研究 (動物実験) では、これら複数の心臓機能を 単独に/同時に評価する試みが種々検討されている。上記「心臓のエネルギー獲得機能」に関しては、以下の 2 つの事項が 知られ/提唱 されている。

(知見 1) 心臓における主たるエネルギー供給源は長鎖脂肪酸である。

(知見 2) 心臓に障害が起き脂肪酸の利用率が低下すると (β 酸化の阻害), 糖がエネルギー源として利用されてくる。

一方、我々の研究グループでは 以前より心臓機能に関し、「心臓の種々の状態 (正常/疾患状態) におけるエネルギー獲得機能の変化」という観点から研究を進めてきた。この研究では、本大学 (新潟大学・医) で開発された “心不全モデル作製ラット” が利用できた ことが 研究開始のきっかけの一つとなっている。更に この心不全に関し、

(知見 3) 心不全の症状は 正常 (Normal)
→ 急性心不全 (Acute : acute heart failure ; 心筋の炎症 ; 心臓が拡張)
→ 慢性心不全 (CHF : chronic heart failure ; 心筋の線維化) の過程により進行する。

ことが知られている。

2. 研究の目的

本研究は 2 種の心臓集積性標識薬剤 (放射性ヨウ素標識脂肪酸 & [14 C]標識糖) および 3 種の実験動物 (正常ラット, 心不全 (急性期 & 慢性期) モデル作製ラット) を用い、a) 心筋集積性経時的变化実験, b) 心筋の染色実験 および 局所集積性の画像化実験 (オートラジオグラフィ (auto radiography : ARG)) を行い、上記背景の 2 つの知見 (知見 1 & 知見 2) を動物実験により確認するとともに、上記 知見 3 に基づき、種々の心筋状態、特に “心疾患 (心不全) の進行過程における心臓エネルギー獲得機能の変化” を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

3-1. 標識薬剤および実験動物

3-1-1. 標識薬剤 (2 種) : 標識脂肪酸と標識糖

(1) 標識脂肪酸 [*I] : [^{125}I] or [^{131}I]

- ・心筋脂肪酸代謝機能を評価する標識薬剤
- ・使用 放射性ヨウ素 (*I) 標識脂肪酸 : [*I]9MPA (15-(p- *I)Iodophenyl)-9-methylpentadecanoic Acid)
- ・9MPA は β 酸化が阻害されるようにドラッグデザインされた標識脂肪酸であり、3 回 β 酸化を受けた後の中間代謝物 9-(p-Iodophenyl)-3-methylnonanoic Acid (3MNA) が検出可能である。

(2) 標識糖

- ・心筋糖代謝機能を評価する標識薬剤
- ・使用 [^{14}C]標識糖 : [^{14}C]2DG (2-Deoxy-(1- ^{14}C)glucose)
- ・2DG はグルコースと同一機序で挙動するが、途中の段階 (DG-6-P : 2-Deoxy-(1- ^{14}C)glucose-6-phosphate) で代謝が停止し、それ以降の代謝が進行しない標識糖である。

3-1-2. 実験動物 (3 種 : 正常ラットと心疾患モデル作成ラット*)

- ・正常ラット (Normal 群)
- ・心不全 (急性期) モデル作成ラット (Acute 群)
- ・心不全 (慢性期) モデル作成ラット (CHF 群)

*) 心疾患モデル動物は 既報の方法に準じて作成 (Kodama M. et al., Circ. Res., 75, 278 (1994))

4. 研究成果

4-1. 心臓集積性経時变化実験

(操作) 2 種の標識薬剤 (標識脂肪酸, 標識糖) および 3 種の実験動物 (Normal 群, AcuHF 群) を用いて、心筋集積性の経時的变化を調べた。標識脂肪酸 (9MPA) および標識糖 (2DG) 各の心筋集積性経時变化実験より、以下のような結果を得た。

4-1-1. 標識脂肪酸 (9MPA) の心筋集積性の経時的变化

- (1) 心筋集積性において、検討したいずれの時間においても (Normal 群 心筋集積性) \gg (CHF 群 心筋集積性) = (Acute 群 心筋集積性) であることが明らかになった。
- (2) 投与直後 (投与 3 分後) の心筋集積性は 3 つの群 (Normal 群, CHF 群, Acute 群) とともに、各々の (経過時間-心筋集積性)

曲線で最大を示し、その後経過時間と共に減少していくことがわかった。

(3) これら3群の(経過時間-心筋集積性)曲線はほぼ平行に推移していくことがわかった。

→ 3群の生存心筋細胞における脂肪酸代謝機能は同程度に維持されていることが示唆された。

4-1-2. 標識糖 (2DG) の心筋集積性の経時変化

(1) 心筋集積性において、検討したいずれの時間においても (CHF群 心筋集積性) > (Normal群 心筋集積性) = (Acute群 心筋集積性) であることがわかった。

(2) 心筋集積性は、3群 (Normal群, CHF群, Acute群) とともに経過時間と共に非常に緩やかに増加していくことがわかった。

(3) これら3群の(経過時間-心筋集積性)曲線はほぼ平行に推移していくことがわかった。

4-1-3. 正常群 (Normal群) および心不全群 (Acute群, CHF群) における心重量と標識脂肪酸 (9MPA) 心筋集積性との関係

(1) 操作: 横軸 (X軸) に心重量 (g), 縦軸 (Y軸) に 9MPA 心筋集積性 (投与後 10分後および 60分後) をプロットしたグラフを作成。(心重量-集積性 グラフ)

(2) 心重量に関して、心不全群 (Acute群, CHF群) では正常群に比べて心臓が拡張し (心重量増加)、また心筋集積性に関して、心不全群は正常群に比べて集積性は低下していた。

(3) 心重量の増加に伴って心筋集積性が低下する傾向が見られ、更に心重量と脂肪酸集積性との間に (心重量-集積性グラフ) 比較的良好な“負”の相関関係があることがわかった。

4-2. 心臓局所集積性の画像化 (オートラジオグラフィ (Autoradiography: ARG) 画像)、心筋組織の染色

(操作) 混合した2種の標識薬剤 ($[^{131}\text{I}]$ 標識脂肪酸 + $[^{14}\text{C}]$ 標識糖; 同時投与) および3種の実験動物 (Normal群, Acute群, CHF群) を用い、ARGの手法にて心臓局所集積性の画像化を行った。また脂肪酸と糖の標識核種の半減期の違いを利用して、同一心臓切片における脂肪酸集積性画像および糖集積性画像を別々に (分離して) 得た。(混合薬剤投与 → 目的の時間後屠殺 → 心臓取り出し → 心臓薄切片作成 ($[^{131}\text{I}]$ + $[^{14}\text{C}]$) → 直後 $[^{131}\text{I}]$ 標識脂肪酸局所集積画像作成 → $[^{131}\text{I}]$ の減衰待ち (約6ヶ月間) → $[^{14}\text{C}]$ 標識糖局所集積画像作成) 更に心不全心筋における障害 (線維化) の程度は、2種の組織染色 (Hematoxylin-Eosin 重染色法 および

Azan-Mallory 染色法) により視覚的に評価した。上記各種実験より、以下のような結果を得た。

4-2-1. 正常群 (Normal群) と急性期群 (Acute群) との比較

(1) 染色画像における比較

・正常心筋では一律に赤く染色されていた。
(→ 線維化はほとんどナシ)

・急性期心不全心筋では大部分が赤く染色されず (→ 心筋組織 大部分に炎症が生じている)、また青紫色染色部位が少ない (→ 線維化はほとんどナシ)

ことがわかった。

(2) ARG 画像における比較

・標識脂肪酸の ARG 画像: (Normal群 心筋集積性) >> (Acute群 心筋集積性)

・標識糖の ARG 画像: (Normal群 心筋集積性) = (Acute群 心筋集積性) が確認された。

4-2-2. 正常群 (Normal群) と慢性期群 (CHF群) との比較

(1) 染色画像における比較

・慢性期心不全心筋では青紫色の部位が多く見られた。

→ 多くの線維化部位が存在

(2) ARG 画像における比較

・標識脂肪酸の ARG 画像: (Normal群 心筋集積性) >> (CHF群 心筋集積性)

・標識糖の ARG 画像: (Normal群 心筋集積性) < (CHF群 心筋集積性) が確認された。

4-3. まとめ

(1) “知見1”, “知見2” の確認

4-1-3. 心重量-集積性 から得られた結果 (障害を受けた心筋 (心重量増加) ⇒ 脂肪酸心筋集積性低下) より、知見1 (心臓における主エネルギー供給源は脂肪酸) が確認できた。また 4-1-1. 脂肪酸の集積性の経時変化 から得られた結果 (脂肪酸の集積性: 正常群 >> 心不全群) および 4-1-2. 糖の集積性の経時変化から得られた結果 (糖の集積性: 正常群 < 心不全群) より知見2 (心臓に障害が生じると、脂肪酸の利用率低下 ⇒ 糖の利用率上昇) が確認できた。

(2) 知見3 に基づく”心不全の進行過程における心臓エネルギー獲得機能の変化” の検討

上記結果より、急性心不全状態 (Acute) において、炎症が生じると直ちに脂肪酸代謝機能に障害を受け、機能が低下するが、糖代謝機能は正常心筋と同程度の代謝しか行っていないことが推測され、急性心不全状態では心臓の機能を維持するためのエネルギーが欠乏している状態にあることが示唆された。

一方、慢性心不全状態 (CHF) において、急

性心不全状態から変化がなく、脂肪酸代謝機能は低下したままであったことから、急性期に受けた障害が残っている事が示唆されることから糖代謝機能は亢進している事がわかった。このことは、急性心不全状態で欠乏していたエネルギーが糖代謝によって補われるようになった事を示唆している。また、急性心不全状態において、エネルギーの欠乏状態が心臓の機能に大きく影響しており、高い死亡率の要因の一つであることは、次の臨床結果 — 「重症心不全の5年生存率は30~50%と予後は悪く、ヒト巨細胞性心筋炎は重篤な疾患で1週間以内に50~80%は死亡する」 — により支持される。以上より、本研究において「急性心不全状態では脂肪酸代謝機能は低下し、糖代謝機能に変化は起こらない。しかし、慢性心不全に至ると、脂肪酸代謝機能に変化は起こらないが、糖代謝機能が亢進し、脂肪酸代謝機能の低下によるエネルギーの欠乏を糖代謝機能によって補うような変化が生じる」という新知見を得る事ができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

- 1 藤澤 愛 「標識薬剤を用いた心疾患進行過程における心臓エネルギー獲得機能の変化に関する研究」 博士前期(修士)論文(新潟大学大学院保健学研究科) 査読有 (2009)
- 2 藤澤 愛、後藤直樹、高橋俊博、飯塚卓宏、庵 緋沙子、朴木拓也、瀧本宗憲、高橋千春、吉田秀義、渡辺賢一、馬 梅菴、Suresh P.、Rajarajan T.、Punniyatoti T.、Wawaimuli A.、Flori S.、廣井建太 「心臓集積性標識薬剤を用いた心機能評価 - エネルギー獲得機能からの評価 -」 新潟核医学懇話会誌 査読有 Vol. 37 (2009)
- 3 飯塚卓宏 「標識脂肪酸を用いた心機能評価 - 心不全(急性期、慢性期)における心筋脂肪酸集積性と心臓拡張との関係 -」 新潟大学医学部保健学科 卒業研究論文集(放射線技術科学専攻) 査読有 第6巻, 37 (2009)
- 4 庵 緋沙子 「標識脂肪酸を用いた心機能評価 - 心不全(急性期、慢性期)における心筋脂肪酸代謝機能の変化 -」 新潟大学医学部保健学科 卒業研究論文集(放射線技術科学専攻) 査読有 第6巻, 38 (2009)
- 5 藤澤 愛 「標識脂肪酸を用いた心筋代謝物および心臓拡張度に関する研究」 新潟大学医学部保健学科 卒業研究論文集(放

射線技術科学専攻) 査読有 第5巻, 12 (2008)

- 6 浅谷佳彦 「心臓集積性標識薬剤を用いた心筋エネルギー獲得機能評価に関する研究」 新潟大学医学部保健学科 卒業研究論文集(放射線技術科学専攻) 査読有 第5巻, 14 (2008)
- 7 廣井建太 「標識脂肪酸および標識糖を用いた心臓エネルギー獲得機能評価法の開発」 博士前期(修士)論文(新潟大学大学院保健学研究科) 査読有 (2007)
- 8 廣井建太、高橋俊博、佐久間清美、松之木真依子、吉倉有紀、近藤啓裕、渡辺賢一、馬 梅菴、Suresh P.、Rajarajan T.、Fadia K.、Paras P.、Punniyatoti T.、瀬賀朋子、田沢周作 「心臓集積性標識薬剤(脂肪酸および糖)を用いた心筋機能の評価」 新潟核医学懇話会誌 査読有 Vol. 35 (2007)
- 9 近藤啓裕 「心筋における脂肪酸および糖の利用に関する研究」 新潟大学医学部保健学科 卒業研究論文集(放射線技術科学専攻) 査読有 第4巻, 32 (2007)

[学会発表] (計6件)

- 1 北田和樹、高橋俊博、渡辺賢一、張馬梅菴、吉田秀義、藤澤 愛、塚塚奈緒、宇野倫代、箱井優香、高橋愛美、大家祐介、Suresh P.、Rajarajan AT.、Punniyatoti T.、Arozal W.、Sari F.、Vijayakumar S.、田沢周作、南澤孝夫、寺菌将隆 「心臓集積性薬剤(MIBG)を用いた心機能評価 - カルベジロールによる心機能改善効果 -」 日本薬学会第130年会 2010(岡山, Mar. 28-30)
- 2 藤澤 愛、後藤直樹、高橋俊博、飯塚卓宏、庵 緋沙子、朴木拓也、瀧本宗憲、高橋千春、吉田秀義、渡辺賢一、馬 梅菴、Suresh P.、Rajarajan T.、Punniyatoti T.、Wawaimuli A.、Flori S.、廣井建太 「心臓集積性標識薬剤を用いた心機能評価 - エネルギー獲得機能からの評価 -」 第37回新潟核医学懇話会 2009 (新潟, Apr. 25)
- 3 藤澤 愛、高橋俊博、廣井建太、渡辺賢一、馬 梅菴、吉田秀義、後藤直樹、飯塚卓宏、庵 緋沙子、朴木拓也、瀧本宗憲、高橋千春、Suresh P.、Rajarajan T.、Punniyatoti T.、Wawaimuli A.、Flori S.、田沢周作 「心臓集積性標識薬剤(脂肪酸および糖)を用いた心臓エネルギー獲得機能の評価」 日本薬学会 第129年会 2009(京都, Mar. 26-28)
- 4 高橋俊博、浅谷佳彦、阿部明日香、藤沢 愛、川井 悠、吉田秀義、廣井建太、後藤直樹、渡辺賢一、馬 梅菴、Palaniyandi S.、Thandavarayan R.、Narasimman G.、Thanikachalam P. 「標識脂肪酸を用い

た心機能評価—心臓集積性および心臓拡張度からみた薬剤評価—」 第36回新潟核医学懇話会 2008 (新潟, Apr. 26)

- 5 高橋俊博、廣井建太、渡辺賢一、馬梅蕾、吉田秀義、後藤直樹、浅谷佳彦、阿部明日香、藤澤 愛、川井 悠、Suresh P.、Rajarajan T.、Gurusamy N.、Punniyatoti T.、田沢周作 「標識脂肪酸を用いた心機能評価：心臓集積性および心臓拡張度からみた薬剤の評価」 日本薬学会 第128年会 2008 (横浜, Mar. 26-28)
- 6 廣井建太、高橋俊博、佐久間清美、松之木真依子、吉倉有紀、近藤啓裕、渡辺賢一、馬梅蕾、Suresh P.、Rajarajan T.、Fadia K.、Paras P.、Punniyatoti T.、瀬賀 朋子、田沢周作 「心臓集積性標識薬剤 (脂肪酸および糖) を用いた心筋機能の評価」 第35回新潟核医学懇話会 2007 (新潟, Apr. 21)

6. 研究組織

(1) 研究代表者：

高橋 俊博 (TAKAHASHI TOSHIHIRO)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号：70143039

(2) 連携研究者：

- ・馬 梅蕾 (MA MEIREI)
新潟薬科大学・薬学部薬学科
臨床薬理学教室・助手
研究者番号：20333536
- ・内藤 眞 (NAITO MAKOTO)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号：30045786
- ・泉川 卓司 (IZUMIKAWA TAKUJI)
新潟大学・アイソトープ総合センター
・准教授
研究者番号：60282985