

平成30年 5月30日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09102

研究課題名(和文) ナトリウム利尿ペプチド低反応性とインスリン抵抗性および虚血性心疾患との関連

研究課題名(英文) A relationship among the low-reactivity of natriuretic peptide, insulin resistance and ischemic heart disease

研究代表者

吉村 道博 (Yoshimura, Michihiro)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：30264295

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ナトリウム利尿ペプチド(NP)の多彩な作用と病態への関与を検討した。臨床研究として、肥満は急性心不全時の血漿BNP濃度の上昇を抑制すること、またその抑制作用が冠動脈硬化を進展させる可能性があること、急性症候群ではインスリン抵抗性(IR)が増大することが明らかとなった。つまり、肥満などが基盤となり、血漿BNP濃度の不十分な増加はIRに伴う虚血性心疾患を引き起こす可能性が示唆された。基礎研究として、ラット褐色脂肪細胞においてA型NP(ANP)はp38のリン酸化およびuncoupling protein-1(UCP-1)を介して熱産生を引き起こすことが示された。

研究成果の概要(英文)：We examined a relationship among natriuretic peptide (NP), obesity, insulin resistance (IR) and ischemic heart disease (IHD). We also examined a possible participation of NP in energy metabolism. As a clinical study by using our clinical database, we found that 1) obesity strongly suppressed a rise in plasma BNP during acute heart failure, 2) obesity suppressed a rise of plasma BNP; and the inadequate plasma BNP potentially caused coronary atherosclerosis, and 3) IR was augmented during acute coronary syndrome. These results suggest that obesity, relatively-low plasma BNP, IR and IHD are strongly associated with each other. As a basic study, we investigated a possible thermogenic action of A-type NP (ANP) on rat brown adipocytes. The newly-formed experimental system clearly demonstrated the thermogenic action of ANP and an increase of uncoupling protein-1 (UCP1); and the increase in the intracellular temperature and the expression of UCP1 were cancelled by p38MAPK inhibition.

研究分野：医学、臨床研究、基礎研究、細胞培養実験

キーワード：ナトリウム利尿ペプチド 肥満 インスリン抵抗性 心不全 虚血性心疾患 熱産生

### 1. 研究開始当初の背景

ナトリウム利尿ペプチド (Natriuretic Peptide: NP) は不全心から分泌され、心機能や血行動態と密接に関連している。一方で、肥満においては血漿B型(脳性)ナトリウム利尿ペプチド(BNP)濃度の上昇が抑制される傾向にあることが示唆されているが、詳細な検討が求められていた。また、肥満と血漿BNP濃度の負の関係性が虚血性心疾患と深く関わっている可能性も想定され、その臨床研究が必要と思われた。基礎研究の面では、NPのエネルギー代謝への関与が示唆されているが、詳細な報告が乏しく、この分野の研究が待ち望まれていた。

### 2. 研究の目的

NPには従来考えられていたよりも多彩な作用が存在する可能性が高く、本研究ではまず臨床面から、肥満・インスリン抵抗性・虚血性心疾患と血漿BNPの複雑な関係性を紐解く研究を試みた。基礎研究としては、NPのエネルギー代謝への関与を培養脂肪細胞で検討し、特に熱産生の面から研究を行った。NPの作用をカテコラミンと比較して検討した。これまでに細胞温度を直接測定した報告は極めて少なく、実験系のセットアップから行った。

### 3. 研究の方法

詳細な臨床のデータベースを構築した。具体的には、年齢、性別、血圧、心拍数、Body Mass Index (BMI)、脂質代謝および糖代謝の各プロフィール、薬剤使用状況、喫煙状況、カテーテル検査時に測定された左室駆出率・心内圧・冠動脈病変の状態・病変指数、治療の状況 (PCI、CAGB など)、冠攣縮の状況、さらに基礎疾患に関しても詳細にを入力し、並存病名 (弁膜症、不整脈、心筋症、他)、既往歴などを盛り込んだ。血漿 BNP 濃度とインスリン抵抗性(HOMA-IR)、HbA1c に関しては特に詳細に時系列で入力した。

**【臨床研究-A】** 肥満 (BMI) と血漿 BNP 濃度の関係性を検討した。BMI は急性心不全時と

その治療後では、除水による体重の変化があることから大きく変化する。よって、急性心不全の入院時と治療後 (退院前) に BMI と血漿 BNP 濃度および他の検査を同時に測定して統計解析を行った。統計には共分散構造分析を行い、パス図を考案して構造リモデリング解析を実施した。

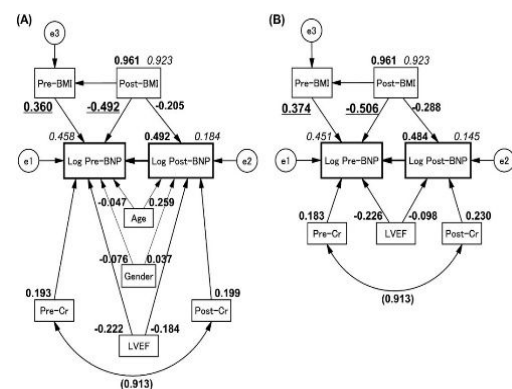
**【臨床研究-B】** 次に我々は詳細な臨床データを用いて、肥満と血漿 BNP 濃度、さらに虚血性心疾患 (不安定狭心症を除外した安定狭心症を用いて所謂、冠動脈硬化の程度を評価) の関係性を統計学的に分析した。本解析にも共分散構造分析を用いた。

**【臨床研究-C】** 臨床データベースの中から急性冠症候群 (ACS) 症例を抜粋して、狭心症発作極期のインスリン抵抗性の変化を経時的に検討した。

**【基礎研究】** 温度感受性蛍光プローブをラット褐色及び白色脂肪細胞へ取り込ませ、蛍光顕微鏡を用いて2波長の蛍光強度比を6分間毎に測定することで細胞内温度を解析する系を立ち上げた。常温と低温環境下で実験を行った。

### 4. 研究成果

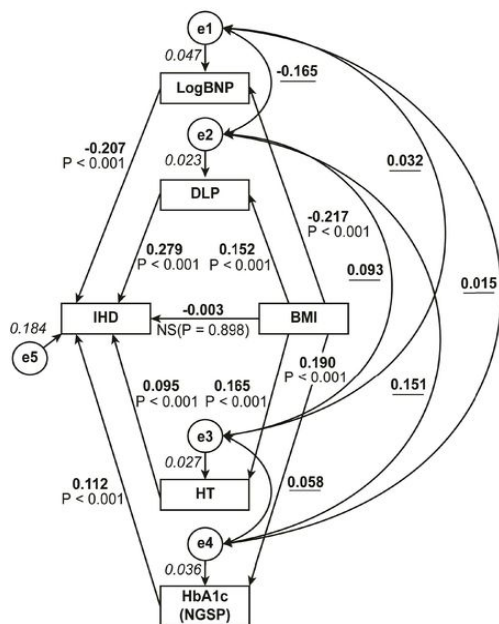
**【臨床研究-A】** 心不全で入院時と退院時の各データを構造リモデリングでパス図に描き、統計解析を行った (図A、その簡略系が図B)。



その結果、退院時の BMI (つまりその症例の真の肥満度に近い値) は、入院時 (急性期) の血漿 BNP 濃度の上昇を抑制することが示された。その効果は極めて強いものと思われた。本研究から肥満と血漿 BNP 濃度には従来想定

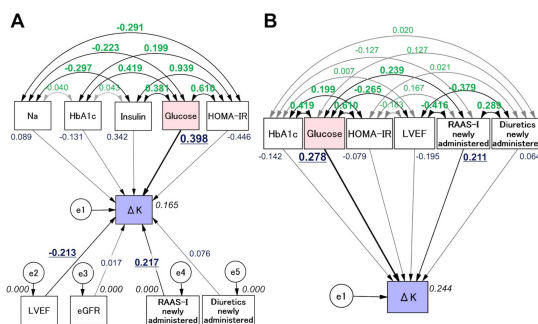
されていた以上に、強い負の関係が存在することが明確になった。

**【臨床研究-B】**我々は先行研究(引用文献)で、虚血性心疾患では比較的低い血症BNP濃度を示すことを報告している。その事実と、前述の肥満と血症BNP濃度の強い負の関係を総合的に鑑みて統計学的解析(共分散構造分析)を試みた。肥満を頂点に置き、血漿BNP濃度を第二層に、虚血性心疾患の有無を第三層に位置付けたパス図を考案して、それらの原因と結果を推定できる構造モデリング解析を行った。その結果、肥満は種々のリスク因子を引き起こして虚血心疾患を引き起こすことが示されたが、それに加えて、肥満が血漿BNP濃度の上昇を抑制し、その抑制されたBNP(Low BNP)が虚血を引き起こす可能性が示唆された。

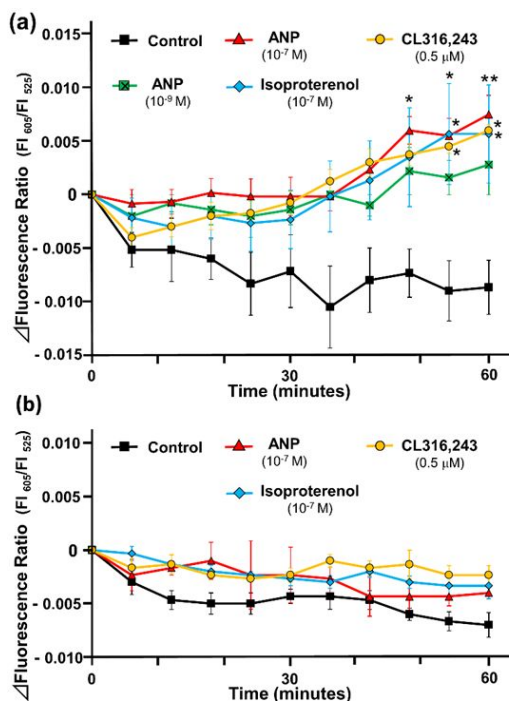


**【臨床研究 C】**臨床データベースから急性冠症候群を抽出して解析した結果、狭心症発作の極期にはインスリン抵抗性が增大することが示された。従来、虚血性心疾患(慢性期)ではインスリン抵抗性が高いことが示唆されていたが、本研究により、狭心症発作極期には猶更上昇することが示された。臨床研究 A と B の結果と合わせて考えると、比較的低

い血漿BNP濃度(十分に上がりきれない血漿BNP濃度)とインスリン抵抗性の関係性が推定され、それが虚血発作にも関与していると思われる。



**【基礎研究】**A型(心房性)NP(ANP)やイソプロテレノール(1/2-及び3-stimulant)を60分間作用させたところ、褐色脂肪細胞の細胞内温度は有意に上昇した。その分子機序として、ANPはp38のリン酸化を介してuncoupling protein-1(UCP-1)の発現を上昇させることが分かった。ANPの効果は、37より35の比較的低温環境下でより顕著であった。一方、白色脂肪細胞に関しては、少なくとも60分間では熱産生効果は認められず、今後の検討課題である。(上段が35、下段が37図)



<引用文献>

Minai K, Ogawa T, Kawai M, Komukai K, Tanaka T, Ogawa K, Nagoshi T, Arase S, Morimoto S, Inoue Y, Sekiyama H, Urabe A, Matsuo S, Hongo K, Yoshimura M. The plasma B-type natriuretic peptide levels are low in males with stable ischemic heart disease (IHD) compared to those observed in patients with non-IHD: a retrospective study. PLOS ONE. 2014. 31;9(10):e108983.  
DOI:10.1371/journal.pone.0108983.

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

Kimura H, Nagoshi T, Yoshii A, Kashiwagi Y, Tanaka Y, Ito K, Yoshino T, Tanaka TD, Yoshimura M. The thermogenic actions of natriuretic peptide in brown adipocytes: The direct measurement of the intracellular temperature using a fluorescent thermoprobe. Sci Rep. 査読有. 2017.7(1):12978.  
DOI:10.1038/s41598-017-13563-1.

Tsutsumi J, Minai K, Kawai M, Ogawa K, Inoue Y, Morimoto S, Tanaka T, Nagoshi T, Ogawa T, Yoshimura M. Manifold implications of obesity in ischemic heart disease among Japanese patients according to covariance structure analysis: Low reactivity of B-type natriuretic peptide as an intervening risk factor. PLOS ONE. 査読有. 2017.12(5): e0177327.  
DOI:10.1371/journal.pone.0177327.

Ito S, Nagoshi T, Minai K, Kashiwagi Y, Sekiyama H, Yoshii A, Kimura H, Inoue Y, Ogawa K, Tanaka TD, Ogawa T, Kawai M, Yoshimura M. Possible increase in insulin resistance and concealed glucose-coupled potassium-lowering mechanisms during acute coronary syndrome documented by covariance structure analysis. PLOS ONE. 査読有. 2017.12(4):e0176435.  
DOI:10.1371/journal.pone.0176435.

Kinoshita K, Kawai M, Minai K, Ogawa K, Inoue Y, Yoshimura M. Potent influence of obesity on suppression of plasma B-type natriuretic peptide levels in patients with acute heart failure: An approach using covariance structure analysis. Int J Cardiol. 査読有. 2016. 215: 283-90.  
DOI:10.1016/j.ijcard.2016.04.111.

[学会発表](計1件)

木村 悠 . Natriuretic peptide exerts thermogenic effects on brown adipocytes in a low-temperature sensitive manner: direct measurement of intracellular temperature using fluorescent thermoprobe . 第82回 日本循環器学会総会 . 2018.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

吉村 道博 (YOSHIMURA, michihiro)  
東京慈恵会医科大学・医学部・教授  
研究者番号 : 30264295

(2)研究協力者

川井 真 (KAWAI, Makoto)  
南井 孝介 (MINAI, Kosuke)  
名越 智古 (NAGOSHI, Tomohisa)  
小川 和男 (OGAWA, Kazuo)  
木村 悠 (KIMURA, Haruka)  
吉井 顕 (YOSHII, Akira)