

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08879

研究課題名(和文)敗血症での β 3 受容体を介する心筋エネルギー代謝機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of myocardial energy metabolism via beta-3 receptor in sepsis

研究代表者

岡田 基 (Okada, Motoi)

旭川医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80431427

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)：本研究ではエンドトキシン(LPS)による心不全モデルマウスを作成し、その心筋には β 3 受容体が発現亢進していることを確認した。本モデルは心機能の急速な低下と死亡率の上昇を認めるが、 β 3 受容体アンタゴニストの投与によって、心機能と生命予後および、低下した心筋ATP量が回復した。このメカニズムとして脂肪酸の心筋内への取り込みは保たれているが、ミトコンドリアへの輸送異常であることが判明した。さらに、 β 3 受容体の抑制は、NF κ Bを介するIL-6などのサイトカイン産生を抑制し、iNOSの誘導も抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

予後不良疾患である敗血症による心不全の病態において、エンドトキシンによる心不全モデルでは、 β 3 受容体を制御することで、心機能や生命予後を改善することが確認された。このことは、 β 3 受容体が敗血症性心筋症への治療ターゲットになる可能性があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we generated a mouse model of endotoxin (LPS)-induced heart failure, in which the myocardium is found to have increased expression of β 3 receptors. The model showed a rapid decline in cardiac function and increased mortality, but administration of a β 3 receptor antagonist restored cardiac function and prognosis, as well as reduced myocardial ATP levels. The mechanism for this was found to be abnormal transport of fatty acids into the mitochondria, although their uptake into the myocardium was preserved. Furthermore, inhibition of β 3 receptors suppressed NF κ B-mediated cytokine production, such as IL-6, and the induction of iNOS.

研究分野：心不全

キーワード：敗血症 心不全 β 3 受容体 エンドトキシン ミトコンドリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

敗血症モデルマウスに対する $\beta 3$ 受容体制御における心筋代謝への影響、予後を明らかにし $\beta 3$ 受容体が敗血症性心不全に対する治療ターゲットになることを明らかにすること。

2. 研究の目的

エンドトキシン腹腔内投与によるマウスの心不全モデルを作成し、受容体、特に $\beta 3$ 受容体の制御による、生命予後、心機能、心筋代謝への影響を検討するもの

3. 研究の方法

1) LPS 腹腔内投与による敗血症性心不全モデルの作成

C57/B16 マウスに 10mg/kg の LPS を腹腔内投与し作成した。また、経時的に心エコーにて心機能評価を行った。

2) $\beta 3$ のアゴニスト (CL316243) とアンタゴニスト (SR59230A) をそれぞれ 1mg/kg、およびコントロールとして生理食塩水を 1mL 腹腔内投与し、各群で比較検討した。

3) 心筋サンプルを用いて各種マーカーを測定した。

4) 組織学的評価として、心筋内の脂肪滴の評価、電子顕微鏡によるミトコンドリア形態の評価を行った。

4. 研究成果

心不全を来す敗血症は予後不良とされるが、その治療戦略はもとより、発症メカニズムはまだ十分に解明されていない。我々はエンドトキシンであるリポポリサッカライド(LPS)誘発による心不全モデルマウスを作成し、その心筋には $\beta 3$ 受容体が発現亢進していることを確認した。本モデルは心機能の急速な低下と死亡率の上昇を認めるが、 $\beta 3$ 受容体アンタゴニストの投与によって、心不全は改善し生命予後も大幅に増加した。本モデルでは心筋 ATP 量が低下し、 $\beta 3$ 受容体アンタゴニストにより回復することが認められた。代謝メカニズムを検討したところ、脂肪酸の心筋内への取り込みを認めるものの、ミトコンドリアへの輸送が遮断されていることが判明した。このことは、免疫染色での心筋内脂肪滴の蓄積と 3D 電子顕微鏡でのミトコンドリア形態の維持と周囲の小胞体構造の破壊から、輸送異常であることを強く示唆する結果であった。

さらに、 $\beta 3$ 受容体の制御は、NF κ B を介する IL-6 などのサイトカインの産生を抑制し、iNOS の誘導も抑制したが、NO 産生量そのものは変わらなかったことから、別の NO 産生経路が存在することが示唆された。実際 eNOS の発現量が変化することがその一因であると考えられた。また、心筋メタボローム解析では、糖代謝の異常が示唆されたため、脂肪酸代謝以外の要因も関与すると考えられる。

これらの結果より、敗血症で産生されるエンドトキシンによる心不全に対して、 $\beta 3$ 受容体を制御することで、敗血症性心筋症への治療につながる可能性があると考えられる。

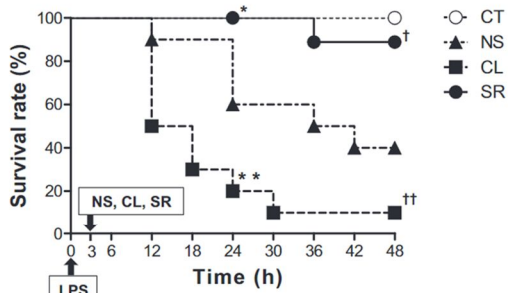


Fig. 1. Kaplan-Meier survival curves of mice with LPS-induced heart failure. Treatment with the β_3 -adrenergic receptor (AR) antagonist SR59230A (SR) significantly reduced mortality, whereas treatment with the β_3 AR agonist CL316243 (CL) exacerbated mortality. Kaplan-Meier survival curves of saline (NS)-treated mice (closed triangle), CL-treated mice (closed square), and SR-treated mice (closed circle); * $P = 0.0172$ vs. NS, ** $P = 0.0225$ vs. NS, $\dagger P = 0.0181$ vs. NS, $\ddagger P = 0.0190$ vs. NS; $n = 10$ in each group. CT, control.

カプランマイヤー生存曲線で示す通り、 β_3 受容体アンタゴニスト(SR)投与群は心機能を改善するだけでなく、生命予後を改善することが明らかとなった。

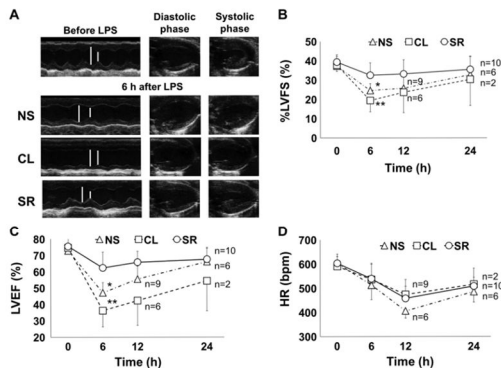


Fig. 2. Echocardiography evaluation of cardiac function. A: representative images (left: M mode; right: B mode) of the left ventricle in the long-axis view before and 6 h after lipopolysaccharide (LPS) injections; maximally reduced cardiac contractions were observed at 6 h after LPS administration in the normal saline (NS) and CL316243 (CL) groups, whereas cardiac contraction was preserved in the SR59230A (SR) group. B and C: these graphs indicate percentage left ventricular fractional shortening (%LVFS) and left ventricular ejection fraction (LVEF), respectively, which were measured from the long-axis M mode view at 6, 12, and 24 h after LPS administration. At 6 h, maximally decreased %LVFS and LVEF were observed in all groups, and these were recovered with time. The SR group did not show decreased %LVFS or LVEF. The CL group showed decreased %LVFS and LVEF compared with the NS group. D: heart rates (HR) at 6, 12, and 24 h after LPS administration. Maximally decreased HR were observed 12 h after LPS treatments and recovered thereafter, but no significant differences were observed between treatment groups; * $P < 0.05$ vs. SR, ** $P < 0.05$ vs. SR; $n = 10$ in each group.

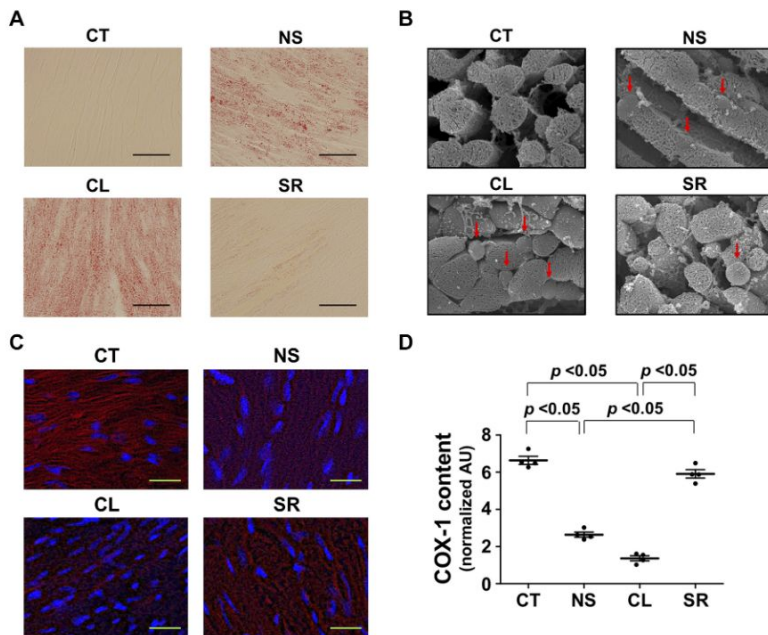


Fig. 9. Histological analyses of LPS-impaired myocardium. A: oil red O staining demonstrates the accumulation of lipid droplets (LDs) in heart tissues. The CL316243 (CL) group displayed abundant scattered LDs that had not been utilized for fatty acid oxidation, whereas the SR59230A (SR) group displayed few droplets, similar to the control (CT) group. *Inset*: higher magnification image of the boxed region; the bar indicates 100 μ m. B: electron microscope analyses show LDs in LPS-induced heart tissues. The CL group showed high quantities of LDs compared with those in the SR groups. Red arrows indicate LDs. C: representative images of histological sections and fluorescence immunostaining for cytochrome-c oxidase-1 (COX-1) expression (red); nuclei were counterstained with Hoechst 33258 (blue). COX-1 expression was clearly suppressed in normal saline (NS) and CL groups. In contrast, COX-1 expression was induced in the SR group. The bar indicates 20 μ m. D: COX-1 expression was quantified using ImageJ software; $n = 5$ in each group. AU, arbitrary units; CT, control.

LPS 投与により、心筋内に脂肪が沈着することを確認した。SR 群では明らかに脂肪沈着が抑制され、CL 群では増加した (A)。電子顕微鏡では SR 群での脂肪滴の減少を認めた (B)。また、ミトコンドリア電子伝達系酵素複合体(COX)が回復していることを確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Satoshi Kawaguchi, Motoi Okada, Eriko Ijiri, Satoshi Fujita et al.	4. 巻 318
2. 論文標題 3-Adrenergic receptor blockade reduces mortality in endotoxin-induced heart failure by suppressing induced nitric oxide synthase and saving cardiac metabolism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology	6. 最初と最後の頁 H283-H294
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpheart.00108.2019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kawaguchi Satoshi, Okada Motoi	4. 巻 11
2. 論文標題 Cardiac Metabolism in Sepsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 846 ~ 846
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/metabo11120846	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件/うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Satoshi Kawaguchi, Motoi Okada, Satoshi Fujita, Naoyuki Hasebe
2. 発表標題 Inhibition of beta-3 adrenergic receptor maintains cardiac function by regulating cardiac metabolism in the sepsis-induced cardiomyopathy
3. 学会等名 International Symposium New Frontiers in Cardiovascular Research（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Satoshi Kawaguchi, Motoi Okada, Satoshi Fujita, Naoyuki Hasebe
2. 発表標題 Myocardial metabolic regulation by the beta-3 adrenergic receptor in sepsis
3. 学会等名 European Society of Cardiology（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Satoshi Kawaguchi, Motoi Okada, Satoshi Fujita, Naoyuki Hasebe
2. 発表標題 Blockade of beta-3 adrenergic receptor ameliorates septic cardiomyopathy through the improvement of cardiac fatty acid oxidation.
3. 学会等名 European Society of Intensive Care Medicine (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Satoshi Kawaguchi, Motoi Okada, Daisuke Koga, Satoshi Fujita, Naoyuki Hasebe
2. 発表標題 Endotoxin Induced Cardiac Metabolic Shift is Controlled Through the Regulation of Fatty Acid Oxidation by a Beta-3 Adrenergic Receptor
3. 学会等名 American Heart Assosiation (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Motoi Okada, Satoshi Kawaguchi, Satoshi Fujita, Naoyuki Hasebe
2. 発表標題 Cardiac Metabolism Was Improved by Regulation of Nitric Oxide Synthases Through the Beta-3 Adrenergic Receptor in Endotoxin-induced Failing Heart
3. 学会等名 American Heart Assosiation (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田 基, 川口 哲, 黒嶋 健起, 藤田 智
2. 発表標題 敗血症研究の最前線
3. 学会等名 日本救急医学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡田 基
2. 発表標題 敗血症での心機能低下における小胞体 ミトコンドリア機能不全の関与
3. 学会等名 日本救急医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Okada M
2. 発表標題 Cardiac Metabolism Was Improved by Regulation of Nitric Oxide Synthases Through the Beta-3 Adrenergic Receptor in Endotoxin-induced Failing Heart
3. 学会等名 American Heart Assosiation (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計7件

1. 著者名 岡田 基	4. 発行年 2018年
2. 出版社 中山書店	5. 総ページ数 384
3. 書名 心不全 1)Expert Advice - 治療薬やデバイスの一歩進んだ使い方・使いこなし方 遮断薬 循環器内科専門医バイブル	

1. 著者名 岡田 基	4. 発行年 2018年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 1087
3. 書名 高齢者医療ハンドブック-高齢者医療におけるダイバーシティへの対応 (第VI章)高齢者の救急疾患 急性心不全	

1. 著者名 岡田 基	4. 発行年 2018年
2. 出版社 総合医学社	5. 総ページ数 160
3. 書名 エキスパートに学ぶショック管理のすべて ショックと レセプター 3受容体と敗血症についての考察	

1. 著者名 岡田 基	4. 発行年 2019年
2. 出版社 日本医事新報社	5. 総ページ数 2
3. 書名 遮断薬としてピソプロロールとカルベジロールが頻用される根拠は？ 大規模臨床試験の結果に裏付けられた脂溶性と長時間作用性による	

1. 著者名 岡田 基, 長谷部 直幸	4. 発行年 2019年
2. 出版社 日本臨床社	5. 総ページ数 6
3. 書名 【心不全(第2版)下-最新の基礎・臨床研究の進歩-】心不全の原因疾患(基礎疾患) 病態、発症機序(心不全)、治療 高血圧症 高血圧性心疾患	

1. 著者名 岡田 基	4. 発行年 2020年
2. 出版社 南山堂	5. 総ページ数 6
3. 書名 3) 【 遮断薬 これまで集積されたノウハウと薬物治療の最前線】 遮断薬の日米欧ガイドラインにおける位置づけとエビデンス 敗血症	

1. 著者名 岡田 基	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 3
3. 書名 医学のあゆみ：心血管系システムと 3受容体	

〔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
研究分担者	藤田 智 (Fujita Satoshi) (10173428)	旭川医科大学・医学部・名誉教授 (10107)	
研究分担者	井尻 えり子 (Ijiri Eriko) (40646072)	旭川医科大学・大学病院・助教 (10107)	
研究分担者	川口 哲 (Kawaguchi Satoshi) (60814217)	旭川医科大学・医学部・助教 (10107)	

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