

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：33708

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K11125

研究課題名（和文）エネルギー代謝変化は心臓のメカノエナジェティクスを変えて心不全治療へと導く

研究課題名（英文）Development of heart failure therapy by altering cardiac energy metabolism

研究代表者

小畑 孝二（Obata, Koji）

岐阜医療科学大学・薬学部・准教授

研究者番号：40378229

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の到達目標は、心臓のエネルギー代謝を変えることで、左心室の収縮や拡張といった心機能を調節することはできるかを明らかにすることである。そして、心臓を強く長持ちさせる方法や心臓病の予防や治療法を提案することである。心臓はATPという化学的エネルギーを、拍動（収縮と弛緩）という機械的エネルギーへと変換している。そこで、本研究では、高血圧による圧負荷のみで心不全に至る自然発症高血圧ラット（SHR）と、同系統で肥満と糖尿病を発症するSHR/NDmc-cp（CP）の心臓のエネルギー代謝をメタボローム解析、つまり代謝産物量を網羅的に比較した。その結果から、心機能にかかわる代謝経路を明らかにする。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢者社会において心不全パンデミックの到来が懸念されている。そこで、本研究では、心臓をエネルギー代謝の面から、強く長持ちさせる方法や心臓病の予防や治療法を提案することを目指している。従来の心不全治療は降圧薬や利尿薬といった負荷を軽減させるものか、強心薬のどちらかであるが、前者は弱ってしまった心臓を強く収縮させることはできない、後者は弱った心臓に鞭打つだけである。そのため、心不全パンデミックに向けて新規の治療法の開発が急がれる。そのため、本研究は近い将来に訪れるであろう心不全パンデミックの回避への基礎となる。

研究成果の概要（英文）：The goal of this study is to clarify whether cardiac functions such as left ventricular contraction and relaxation can be regulated by changing cardiac energy metabolism. It is also to propose methods to make the heart stronger and longer, and to prevent and treat heart disease. The heart converts chemical energy, called ATP, into mechanical energy, called pulsation (contraction and relaxation). In this study, we performed metabolomic analysis of the cardiac energy metabolism of spontaneously hypertensive rats (SHR), which develop heart failure due to pressure overload alone caused by hypertension, and the same strain of SHR/NDmc-cp (CP), which develops obesity and diabetes. In other words, we compared the amount of metabolites comprehensively. From the results, we will clarify the metabolic pathways involved in cardiac function.

研究分野：心臓力学、循環動態学、心臓生理学

キーワード：心収縮 エネルギー代謝 心不全 脂質代謝 高血圧 糖尿病

1. 研究開始当初の背景

高齢者社会において心不全パンデミックの到来が懸念されている。従来の心不全治療は降圧薬や利尿薬といった負荷を軽減させるものか、強心薬のどちらかであるが、前者は弱ってしまった心臓を強く収縮させることはできない、後者は弱った心臓に鞭打つだけである。そこで、本研究では、心臓のエネルギー代謝を変えることで、

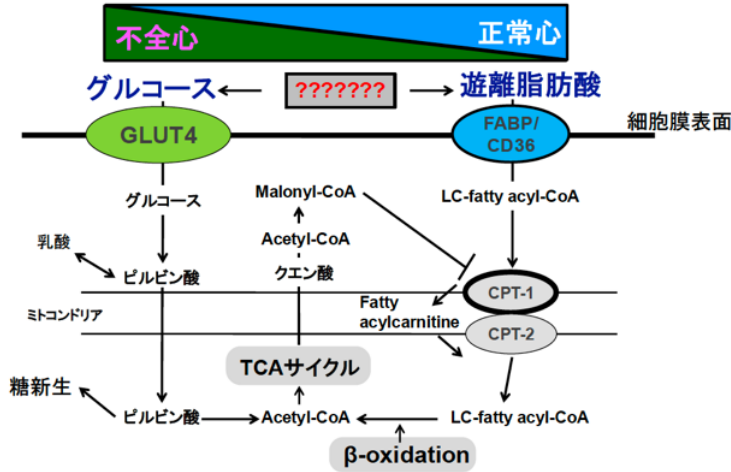


図1 心臓の脂肪酸とグルコースの代謝

そこで、本研究では、高血圧による圧負荷のみで心不全に至る自然発症高血圧ラット (SHR) と、同系統で肥満と糖尿病を発症する SHR/NDmc-cp (CP) の心臓のエネルギー代謝をメタボローム解析、つまり代謝産物量を網羅的に比較する。両者とも最終的には心不全に至るが、代謝経路はどのように変化しているかを調べる。その結果から、心機能にかかわる代謝経路を明らかにし、摘出心臓の血液交叉灌流実験系を用いて、心臓のエネルギー代謝を変えることで、左心室の力学的エネルギー学的性質(メカノエナジエティクス)に及ぼす影響を調べる。本研究では、心臓のエネルギー代謝を変えることで心機能を調節することはできるかを明らかにし、心臓を強く長持ちさせる方法や心臓病の予防や治療法を提案することを目指す。

2. 研究の目的

心臓は ATP という化学的エネルギーを、拍動という機械的エネルギーへと変換している。図 2 に示した摘出心臓の血液交叉灌流実験系では、心臓の1心拍毎の酸素消費量 (VO<sub>2</sub>) と発生する総機械的エネルギー (PVA)、興奮収縮連関および基礎代謝に要する酸素消費量を算出することができる(図 2)。また VO<sub>2</sub>-PVA 直線関係の傾きは、心臓の仕事量と酸素消費の割合である収縮効率を示す。通常、心筋の ATP 産生は約 60% を脂肪酸、約 30% を糖質、残りが乳酸を基質とする。

Randle サイクルでは、脂肪酸とグルコースは代謝基質として相補的であり、一方の利用率上昇は他方の減少となる(図 1)。脂肪酸とグルコースでは、ATP 産生量は圧倒的に脂肪酸の方が多いが、P/O 比では 3.17 と 2.83 と大きな違いはない。しかし、本当に代謝基質の違い関係ないのか? 代謝経路の違いは心機能に影響しないのか? 最近、心不全治療薬として、CPT-1 阻害により長鎖脂肪酸から生成した Acyl-CoA のミトコンドリア内への移動を阻害し、代わりに糖利用を促進する薬物(perhexiline)の可能性が報告された(図 1)。また、高齢者によくみられる拡張不全(HFpEF: heart failure with preserved ejection fraction)は、拡張期末圧の上昇に伴い、肺鬱血を起こし、進行すると収縮機能も低下し、いわゆる心不

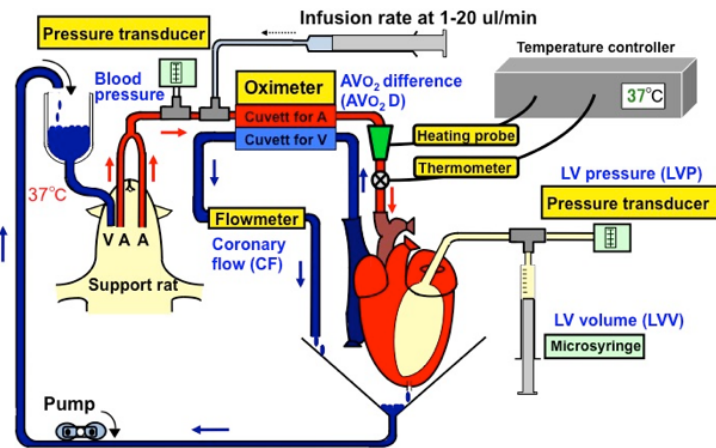


図2 ラット摘出心臓の血液交叉灌流実験系

調系 (SHR) と、同系統で肥満と糖尿病を発症する SHR/NDmc-cp (CP) の心臓のエネルギー代謝をメタボローム解析、つまり代謝産物量を網羅的に比較する。両者とも最終的には心不全に至るが、代謝経路はどのように変化しているかを調べる。その結果から、心機能にかかわる代謝経路を明らかにし、摘出心臓の血液交叉灌流実験系を用いて、心臓のエネルギー代謝を変えることで、左心室の力学的エネルギー学的性質(メカノエナジエティクス)に及ぼす影響を調べる。本研究では、心臓のエネルギー代謝を変えることで心機能を調節することはできるかを明らかにし、心臓を強く長持ちさせる方法や心臓病の予防や治療法を提案することを目指す。

左心室の収縮や拡張といった心機能を調節することはできるかを明らかにする。心臓は ATP という化学的エネルギーを、拍動(収縮と弛緩)という機械的エネルギーへと変換している。心不全などの病的な心臓のエネルギー代謝では、脂肪酸からグルコースへと基質の割合が変わることが知られている(図1)。心臓は、どのように代謝基質を選択し、その仕事量に応じて ATP 産生量を調節するかは、生物学的にも医学的にも重要であるにもかかわらず知られていない。

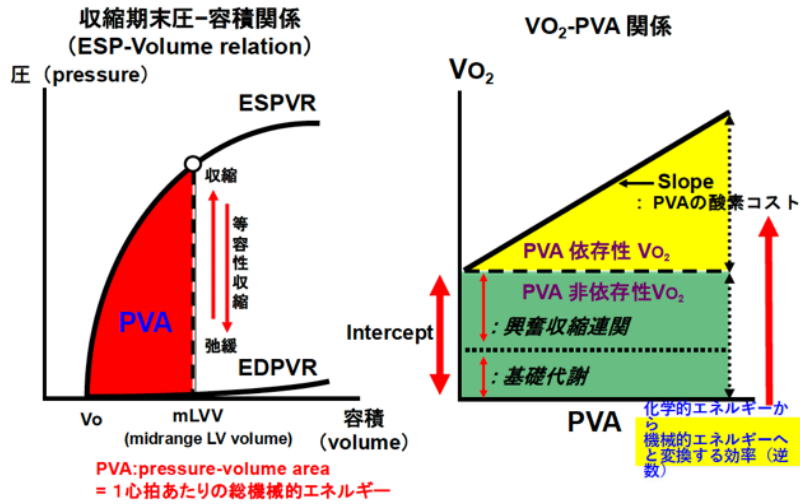


図3 ESPVR-VO<sub>2</sub>-PVAの概念について

制することで陰性変力作用を示すことも報告されている。心臓の収縮や拡張といった機能の調節と、エネルギー代謝の関係性は十分に考えられるが、未だはっきりとは明らかになっていない。

### 3. 研究の方法

#### (1) 実験動物について

エネルギー代謝の異常が心臓病の原因か結果かを明らかにする。そこで、高血圧モデルとして、自然発症性高血圧ラット(SHR)を用いる。肥満と高血圧のモデル動物として、SHR/NDmc-cp を用いる。このラットは 1997 年、高血圧自然発症ラット(SHR)と正常血圧ラット(SD)との交配の過程で肥満形質 cp を持つ SHR が突然変異により出現した。さらに、国立衛生研究所(NIH)で、親系統である SHR/N に戻し交配がなされ、cp 遺伝子以外を排除したコンジェニックラットが作製され、メタボリックシンドロームのモデル動物として用いられている。この SHR/NDmc-cp と SHR の心臓を用いて、左心室メカノエナジエティクス解析を行う。このとき両ラットとも高血圧症となるが、SHR は HFpEF を経過せず、収縮および拡張機能も低下する心不全(HEREF: heart failure with reduced ejection fraction)に至る。

#### (2) 摘出心臓の血液交叉灌流実験系について

図 2 に示すように、この実験系では、左心室腔にバルーンを挿入し、注水量を変化させることで左心室容積を、同時に圧トランスデューサーにより左心室圧をリアルタイムに測定する。オキシメーターにより、動脈血と静脈血の酸素濃度較差を計測し、フローメーターで冠灌流速度をリアルタイムに測定する。心筋酸素消費量は、両者の積として求め、また心拍数で除することで、一心拍ごとの酸素消費が計測可能である。図 3 に示すように、収縮期末圧-容積関係(ESPVR)は、バルーン内の体積を変化させた時、発生する収縮期末圧点を結んだ曲線である。赤色で示された面積、収縮期末圧容積面積、PVA は総機械的エネルギーを示す。PVA を横軸に、酸素消費量を縦軸にプロットした VO<sub>2</sub>-PVA 関係は直線性を示す。PVA によって変わらない部分は、興奮収縮連関と基礎代謝の酸素消費量を示す。このとき、VO<sub>2</sub>-PVA 直線の傾きの逆数は、ATP という化学的エネルギーを PVA という機械的エネルギーへと変換する効率、つまり収縮効率を表す。

そこで、まずはじめに病態モデルの心臓でのエネルギー代謝を比較しようと考え、自然発症性高血圧ラット(SHR)、これはいわゆる圧負荷モデルとし、同系統ラットから作成された SHR/cp、これは SHR のレプチン受容体の異常で過食により、高血圧と、脂質代謝異常と糖尿病を発症するラットで、これらのラットの心臓を比較するために、網羅的に代謝経路を調べることができるメタボローム解析を、ヒューマンメタボロームテクノロジーズ社(HMT)の外部委託した。

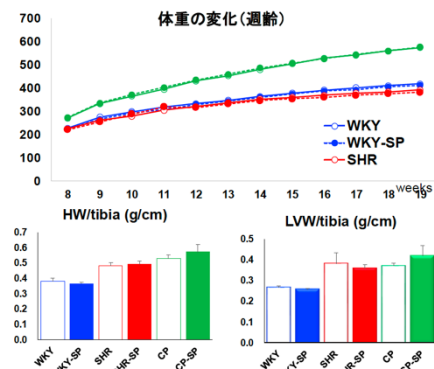


図4 体重の変化と心重量(HW)または左室重量(LVW) / 脛骨比

### 4. 研究成果

正常群として WKY (wistar kyoto rat)、高血圧群として自然発症性高血圧ラット(SHR)、メタボリックシンドロームのモデル動物として SHR/NDmc-cp (SHR-cp)をそれぞれ 8 週齢から飼育を始めた。体重は SHR-cp 群で過食によりどんどん増加していった(図 4)。

19 週齢で屠殺し、心臓を摘出し、心重量及び左室重量比を計測したところ、病態群で有意に増加していた。一方、重量比において、病態群でスペルミジンは有意ではないが増悪して流うよう

全となる。その発症機序は不明であり、現在有効な治療法がない。リスクファクターとして高血圧に加えて肥満、脂質代謝異常、糖尿病が強く関連することが示されている。つまり、エネルギー代謝と心機能(この場合は拡張機能)の関係性が示唆される。一方、熟成したチーズ、マメ類、全粒穀物などの食品に含まれる天然のポリアミンであるスペルミジンに拡張機能障害の改善と寿命の延長が報告された。スペルミジンは心筋の ATP 産生を抑制



あった。ただ、これはあくまでも心臓の重量の問題であり、機能を測定する必要性を示した。

中隔壁を有する左心室を横断面で切断した左室横断面のブロックを4%パラホルムアルデヒド固定した。また、一部の左室横断面(自由壁側)ブロックはドライアイスで凍結し、トレパンにて 10 mg x 3-4 箇所を採取し、メタボローム解析用に HMT へと送付した。

メタボローム解析のヒートマップの結果を示す(図5)。Wistar Kyoto rat を正常群、SHR を高血圧群、SHR/cp を高脂血症・糖尿病群とし比較した。縦軸は様々な代謝経路の代謝物質である。各群で非常に特徴的な傾向を示していた。同じように高血圧による負荷があっても、SHR-cp のように脂質代謝異常と糖尿病があることで代謝物質量が異なることを示しており、この結果は大変興味深いと言える。しかし、各群でスペルミジン(SP)はほとんど影響がなかった。

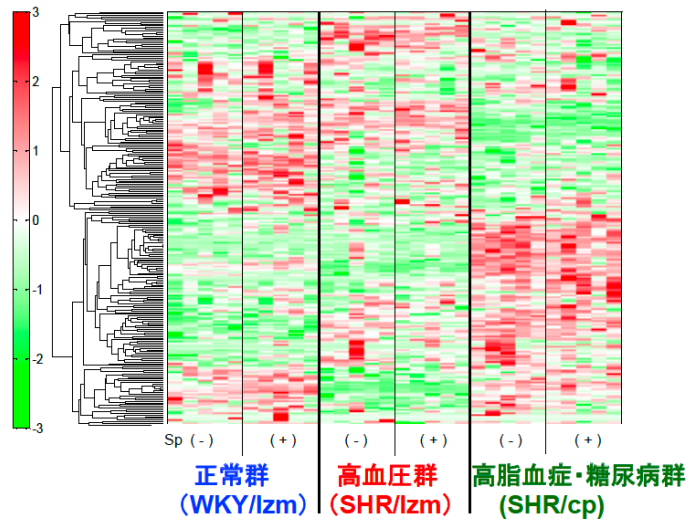


図5 メタボローム解析結果(ヒートマップ)

次に、パスウェイマップの結果を示す(図6)。様々な代謝系ののパスウェイが調べられており、中には各群間で差がみられないものもあったが、いくつかの代謝産物量で差がみられた。代表例として、図7左で示したように解糖系の代謝物がSHR/cpのみで増加していた。膨大なデータであるため、現在まだ解析中である。今後、特徴的な代謝経路をいくつかピックアップし、心機能との関係性を調べていく予定である。また、これらのモデル動物を用いて摘出心臓の血液交叉灌流実験系によりその心臓のメカノエナジェティクス解析をすることで、その力学的エネルギー学的性質を明らかにする。

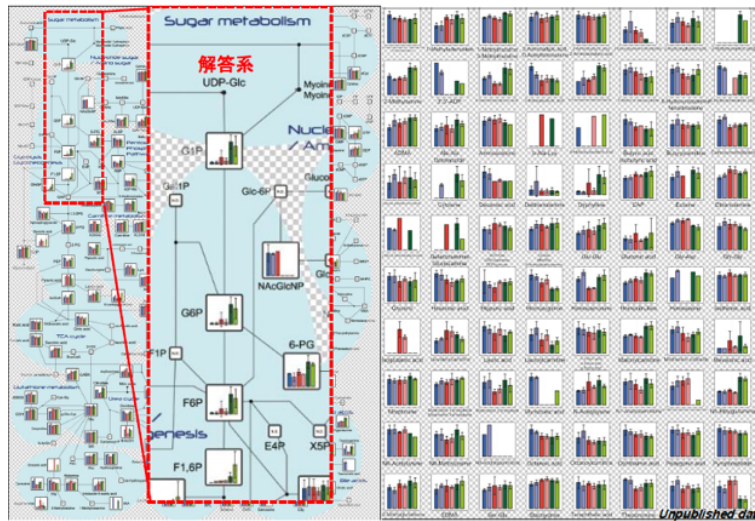


図6 メタボローム解析結果(パスウェイマップ)

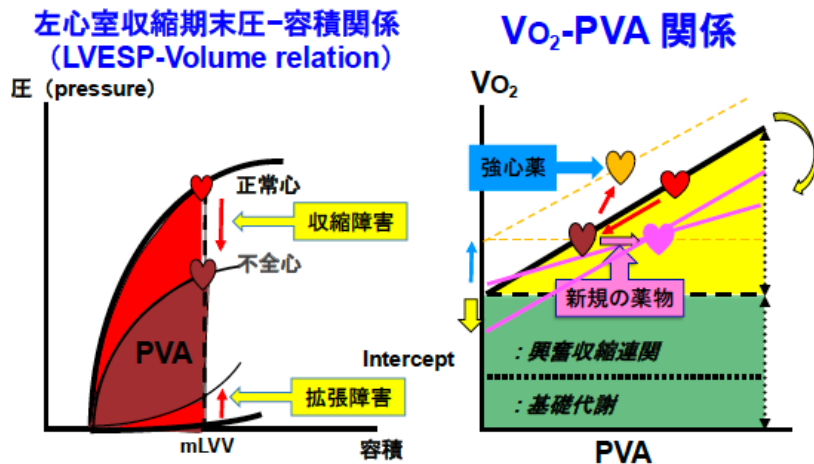


図8 エネルギー効率を良くする仕組み(薬物)の開発

やすことなく、大きな PVA を発揮できると考えられる。今後も本研究を発展させることで、新しい心不全治療法や治療薬の開発につながると考えられ、近い将来に訪れる心不全パンデミックへの対処の一助となると期待している。

心不全治療において、強心薬は結局のところ、興奮収縮連関の酸素消費を増大させることで、PVA を多くしているに過ぎず、長期的に見れば、エネルギー消費の増大により、心臓が弱ってしまう。そこで、図8右のように、収縮効率を変えるあるいは、Y軸切片、つまり興奮収縮連関か基礎代謝あるいはその両方を減少させることができる薬物があれば、エネルギー消費を増

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 小畑孝二	4. 巻 5
2. 論文標題 心臓病治療薬開発に向けた左心室メカノエナジェティクス解析の重要性	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Precision Medicine誌	6. 最初と最後の頁 87-89
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 小畑孝二、高木 都	4. 巻 35(9)
2. 論文標題 左心室メカノエナジェティクス解析による心臓病治療に向けた収縮効率の重要性	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 59-62
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 小畑孝二、高木 都	4. 巻 47(1)
2. 論文標題 心臓病治療に向けた左心室メカノエナジェティクス解析による収縮効率の重要性	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 40-42
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 Obata Koji、Morita Hironobu、Takaki Miyako	4. 巻 392
2. 論文標題 The energy-saving effect of a new myosin activator, omecamtiv mecarbil, on LV mechanoenergetics in rat hearts with blood-perfused isovolumic contraction model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1065 ~ 1070
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00210-019-01685-4	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 Obata Koji, Morita Hironobu, Takaki Miyako	4. 巻 70
2. 論文標題 Mechanism underlying the negative inotropic effect in rat left ventricle in hyperthermia: the role of TRPV1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12576-020-00734-5	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 Obata Koji, Takaki Miyako	4. 巻 1816
2. 論文標題 Methods for the Preparation of an Excised, Cross-Circulated Rat Heart	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 117 ~ 132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-8597-5_9	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 Obata Koji, Takeshita Daisuke, Morita Hironobu, Takaki Miyako	4. 巻 8
2. 論文標題 Left ventricular mechanoenergetics in excised, cross-circulated rat hearts under hypo-, normo-, and hyperthermic conditions	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16246
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-34666-3	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1件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小畑孝二, 森田啓之, 高木 都
2. 発表標題 ラット摘出心臓の血液交叉灌流実験系を用いた温度変化による左心室メカノエナジェティクス解析 TRPV1の役割
3. 学会等名 第97回 日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2020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 分担 者	高木 都  (Takaki Miyako)  (00033358)	奈良県立医科大学・医学部・研究員   (24601)	

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