

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03659

研究課題名(和文)慢性腎臓病に合併する心不全発症におけるアフターロードミスマッチの分子機序の解明

研究課題名(英文)Molecular mechanism for after-load mismatch involved in the development of acute heart failure accompanied by chronic renal dysfunction

研究代表者

齋藤 能彦(Saito, Yoshihiko)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：30250260

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：急性心不全の発症病態の1つとして急性の心臓後負荷に対する不適合(afterload mismatch)が以前より広く認められているが、その分子機序は明らかではなかった。申請者らは、急性心不全の原因の一つである、タコツボ症候群の発症に心筋細胞での アドレナリン受容体(ADR)の活性化とそれに引き続いて生じる ADRの脱感作が関与していることを世界で初めて患者検体を用いて証明したが、この実績を参考に、afterload mismatchの発生過程に、血管の ADRの脱感作(血管の収縮を引き起こす)が関与していることをモデルマウスを用いて検討し証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国は、超高齢社会に突入するとともに、少子高齢化の影響を強く受け、今後、全人口は減少していくが、75歳以上人口のみは、今後20年間にわたり増加することが推測されている。この75歳以上の後期高齢者において、現在でも第1位の死因は脳卒中を含む循環器病であり(悪性腫瘍ではない)、中でも心不全の占める割合が今後増加することが確実視されている。本研究において、急性心不全の比較的頻繁に認められるafterload mismatchの分子機序を証明したことで、今後急性心不全予防のために、どのような治療的アプローチを取るべきかを見出ししていく重要なステップとなる。

研究成果の概要(英文)：Although afterload mismatch has been more widely recognized as one of the pathological conditions of acute heart failure than before, its molecular mechanism has not been clarified. Applicants found by using patient specimens that activation of α -adrenergic receptor (ADR) in myocardium and subsequent desensitization of ADR are involved in the development of Takotsubo syndrome, which is one of the causes of acute heart failure. With reference to this achievement, we proved the model mice which had the desensitization of ADR in blood vessels (causing contraction of blood vessels) developed afterload mismatch. This study is the first one in the world to prove that desensitization of the vascular endothelium causes an afterload mismatch.

研究分野：急性心不全

キーワード：急性心不全 アフターロードミスマッチ アドレナリン受容体 脱感作

1. 研究開始当初の背景

我が国は超高齢社会に突入するとともに少子高齢化の影響を強く受け、全人口は減少していくが75歳以上人口のみは今後20年間にわたり増加することが推測されている。この75歳以上の後期高齢者において、現在でも第1位の死因は脳卒中を含む循環器病であり(悪性腫瘍ではない)中でも心不全の占める割合が今後増加することが確実視されている。

心不全は、あらゆる心臓疾患の終末像であるが、その原因によらず、急性心不全あるいは慢性心不全の急性増悪時は、臨床病態の観点からClinical Scenario (CS)として5つの病型に分類されている。CS1は、発症時の収縮期血圧が140mmHgより高いと定義されており、いわゆる後負荷不適合; afterload mismatchによる急性心不全と理解されている。心臓の一回拍出量は、単純化すると後負荷、前負荷、収縮性の3つで規定されている。後負荷の増大は一回心拍出量を減少させるが、正常心臓では前負荷と収縮性を増加させることにより一回拍出量を維持するように調節されている。しかし病的(異常)心臓では、後負荷の増大に呼応して前負荷と収縮性を上手く制御できずに一回拍出量が低下し急性心不全が発症する。これをafterload mismatchと称している。このような血行動態は以前よりよく理解されており、その原因として、心肥大や動脈硬化による心室と血管のエラスタンスの増加が関与していると考えられているが、afterload mismatchの原因となる分子機序の理解は不十分である。

Afterload mismatchによるCS1の心不全症例は、入院時には収縮期血圧が200mmHgを超えることも少なくないが、退院時には収縮期血圧は正常近くまで低下していることが稀でなく、一過性の急激な後負荷の増大とそれに対する不適合が特徴である。一過性の昇圧には、交感神経系の活性化が寄与しており、CS1の発症に交感神経系の関与を考えるのは理に叶っている。一般的に、交感神経系が活性化すると、血管の受容体系により血管抵抗は増加し昇圧に働く。一方、

受容体系が活性化すると、心室では1系を介して陽性変力作用を惹起し、血管は2系を介して血管平滑筋を拡張させ後負荷は減少し、双方の作用を介して一回拍出量が増加する方向に働く。しかし、afterload mismatchの発症機序における交感神経系、特にアドレナリン受容体(ADR)系の役割はあまり研究されていなかった。

2. 研究の目的

最近申請者は、カテコラミンがその病因に関与していると考えられている、たこつぼ症候群の急性期生検組織を用いて、1ADR系が急性脱感作している所見を確認し(Nakano T et al Sci Rep 2018;8:12731)、受容体脱感作に引き続く収縮不全がたこつぼ症候群の発症に関与しているとの学説を提唱した。この発見を受けて、申請者はafterload mismatchとたこつぼ症候群の発症機序に類似性が存在するのではないかと着想した。つまり、心臓においては心筋細胞の1受容体脱感作により心筋収縮が障害され、血管では血管平滑筋の2受容体脱感作により、血管が収縮した後負荷の増加が惹起されているとの仮説を想起した。本研究ではこの仮説を証明するために、脱感作に関連する蛋白を血管平滑筋で高発現するモデルマウスを作成し、検証を行った。

3. 研究の方法

1) 心筋細胞での脱感作誘導および抑制の検証

交感神経系、特に1アドレナリン受容体のシグナル系には、過剰なカテコラミン刺激により、GRK2やarrestin2のリン酸化と細胞膜への移行により、1受容体下流へのシグナル伝達が遮断され、いわゆる脱感作が生じる。本研究ではこれらGRK2やarrestin2を心筋細胞に過剰発現させ、脱感作の起こりやすい状況を誘導し、カテコラミン刺激により、心不全が惹起されるかを検討する。具体的には、心臓(心筋細胞)への導入効率の高いAdeno Associated Virus (AAV) 9ベクターを用いGRK2あるいはarrestin2の過剰発現、あるいはsiGRK2, si arrestin2発現ベクターを作成し、ノックダウン実験を実施する。これらをマウスに導入し。その後、カテコラミン刺激とTAC負荷を行い、GRK2やarrestin2の心不全の発症への効果をin vivoで確認する。

2) 血管平滑筋細胞での脱感作誘導および抑制の検証

血管平滑筋細胞にGRK2やarrestin2を過剰発現させる為、Myh11プロモータにより制御されるAAVベクターを使用する。これによりGRK2やarrestin2を血管平滑筋細胞に過剰発現させ、カテコラミン刺激あるいは運動負荷を実施し、過剰な高血圧の誘導とそれともなう心不全の発症をin vivoで確認する。siGRK2, si arrestin2によるノックダウン用ベクターも作成し、裏実験を行う。

4. 研究成果

本研究では、afterload mismatchの発症に、心臓と血管のADR系の脱感作が関与しているかを検討した。そのために、ADR系の脱感作に関するキー分子であるGRK2を野生型マウスからクローニングし、AAVベクターを用いてMyh11プロモータにより血管内皮特異的にGRK2を過剰発現するマウスを作製した。

GRK2 過剰発現マウスではベースラインの血圧がコントロールマウスに比して高値であり、血管平滑筋が平常時から収縮傾向であることが示された。さらにカテコラミン刺激による血圧上昇が野生型マウスに比較して極めて高度であった。すなわち GRK2 過剰発現マウスでは、通常認められる 2 ADR 刺激による平滑筋弛緩作用による血管拡張が打ち消され、1 作用による血管収縮のみが認められることが示された。この結果は、afterload mismatch による血圧上昇に、血管平滑筋における ADR の脱感作が関与していることを示唆するものであった。

以上のように本研究では afterload mismatch による急性心不全の病態を再現することができ、afterload mismatch の発症機序に ADR の脱感作が関与していることを証明することができた。

心筋細胞における脱感作誘導に関しては、心筋細胞特異的に GRK2 を過剰発現させるマウスモデルを作成し、たこつば症候群の発症への影響を検討中であり、引き続きこちらの研究も継続して行っていきたい。

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 Nakada Y, Onoue K, Nakano T, Ishihara S, Kumazawa T, Nakagawa H, Ueda T, Nishida T, Soeda T, Okayama S, Watanabe M, Kawakami R, Saito Y.	4. 巻 9
2. 論文標題 AST-120, an Oral Carbon Absorbent, Protects against the Progression of Atherosclerosis in a Mouse Chronic Renal Failure Model by Preserving sFlt-1 Expression Levels.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 15571
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-51292-9	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 Nakada Y, Kawakami R, Matsui M, Ueda T, Nakano T, Nakagawa H, Nishida T, Onoue K, Soeda T, Okayama S, Watanabe M, Okura H, Saito Y.	4. 巻 83
2. 論文標題 Value of Placental Growth Factor as a Predictor of Adverse Events During the Acute Phase of Acute Decompensated Heart Failure.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circ J.	6. 最初と最後の頁 395-400
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1253/circj.CJ-18-0523	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2件（うち招待講演 2件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yoshihiko Saito
2. 発表標題 Molecular mechanism for cardio renal connection
3. 学会等名 2019 XXIII ISHR WORLD CONGRESS（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenji Onoue
2. 発表標題 たこつぼ症候群におけるカテコラミンシグナル動態
3. 学会等名 第26回日本心不全学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

奈良県立医科大学循環器内科ホームページ
<https://www.naramed-u.ac.jp/~1int/>
奈良県立医科大学循環器内科学教室ホームページ
<http://www.naramed-u.ac.jp/~1int/index.html>

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	尾上 健児 (Onoue Kenji) (90510173)	奈良県立医科大学・医学部・講師 (24601)	
研究 分 担 者	熊澤 拓也 (Kumazawa Takuya) (10745441)	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
---------	---------