

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17528

研究課題名（和文）睡眠障害を来した心不全におけるメラトニン誘導性オートファジーの機能解明

研究課題名（英文）Evaluation of melatonin-induced autophagy in heart failure resulting in sleep disturbance

研究代表者

高橋 佳世（TAKAHASHI, KAYO）

愛媛大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60837152

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）：野生型C57B/6JマウスにShamあるいは大動脈縮窄術(TAC; transverse aortic constriction)を施行したSham群11匹、心肥大群16匹、心不全群7匹、またオートファジーに関与するAtg5の心筋細胞特異的ノックアウト(cKO)マウスにTACを行い心不全を発症した7匹において、テレメトリーシステムを用いた概日リズムの比較検討を行った。結果、野生型マウス及びAtg5cKOいずれの心不全モデルにおいても、活動量は低下したが概日リズムは保たれていることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心不全モデルマウスの概日リズムの検討はこれまでに報告がなく、今回大動脈縮窄術を用いた心不全モデルとAtg5心筋細胞特異的KOマウスの心不全モデルの概日リズムを測定した。本研究の結果は、今後心不全と概日リズム異常との関連について検討していく上で有用な情報になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Circadian rhythms recorded by a telemetry system were compared among the following mouse models; 11 C57B/6J mice undergoing sham surgery, 16 C57B/6J mice with cardiac hypertrophy induced by transverse aortic constriction (TAC), 7 C57B/6J mice with TAC-induced heart failure, and 7 cardiomyocyte-specific Atg5, which is involved in autophagy, knockout mice with TAC-induced heart failure.

All of 4 mouse models showed a similar increase in the activity level during the dark cycle with no significant difference in circadian rhythms. Compared to control mice, the activity level was decreased in mice with TAC-induced cardiac hypertrophy while both mouse models of heart failure had a further decrease in activity.

研究分野：循環器内科

キーワード：心不全 概日リズム

1. 研究開始当初の背景

睡眠障害は心不全の発症リスクを増加させ、生命予後を悪化させる。不眠を訴える心不全患者は非常に多く、睡眠障害への介入による心不全予後改善効果が期待されるものの、その機序が未解明であるため確立された治療法は存在しない。近年、睡眠促進ホルモンであるメラトニンが、オートファジーを介して臓器保護効果を発揮することが報告された。しかし、メラトニンによる睡眠障害への介入が、心臓オートファジーへ及ぼす影響ならびにその心不全治療効果は不明である。本研究は、「睡眠障害を来した心不全におけるメラトニン誘導性オートファジーの機能解明」を目的とし、心不全において心保護的な効果を有するオートファジーが、睡眠障害によりどのような変化を来すのか、またメラトニンの心不全に対する治療効果及びその機序を解明する。

2. 研究の目的

本研究では、心不全において心保護的な効果を持つオートファジーが、睡眠障害を来すことによりどのような変化を来すのか、またメラトニンの治療効果及びそのオートファジーを介した機序を解明することを目的とし、以下の3点を中心に検討する。

- ①大動脈縮窄圧負荷心不全モデルにおける、概日リズム異常による心機能やオートファジーへの影響の検討
- ②概日リズムの異常の有無による心不全モデルでのメラトニンの効果の検討
- ③メラトニンの心不全に対する作用機序へのオートファジー関与の検討

3. 研究の方法

①大動脈縮窄圧負荷心不全モデルにおける、概日リズム異常による心機能やオートファジーへの影響の検討

1) 野生型 C57B/6J マウスに対して大動脈縮窄術(TAC; transverse aortic constriction)を用いて心不全モデルを作製する。

2) 明暗条件の変化により概日リズムの異常を来すことにより睡眠障害を誘導する。その後睡眠障害による心機能の変化、オートファジーの変化を検討する。睡眠障害モデルは、長時間のフライトやシフトワークなどによる概日リズムの異常を評価するのに用いられる慢性時差ぼけモデル(CJL; chronic jet-lag)を用いる。

②概日リズムの異常の有無による心不全モデルでのメラトニンの効果の検討

1) 野生型心不全モデルマウスにおいて概日リズム異常を誘導し、メラトニンを飲水内に希釈し経口投与(20mg/kg/day)を行う。

2) 上記各群において、心臓超音波法による心機能評価や、病理標本解析を行う。

③メラトニンの心不全に対する作用機序へのオートファジー関与の検討

1) LC3 や p62 などの生化学的解析、電子顕微鏡や蛍光免疫染色を用いたオートファゴソームの解析を行い、野生型マウス、Atg5KO マウスの心不全におけるメラトニンの効果を検討する。

4. 研究成果

野生型 C57B/6J マウスに Sham あるいは大動脈縮窄術(TAC; transverse aortic constriction)を施行し、術前、1 週目、4 週目、8 週目に超音波検査を行い、心機能の測定を行った。Sham 群 11 匹と 8 週目に心肥大及び心不全の発症を確認した心肥大群 16 匹、心不全群 7 匹にテレメトリー送信器を皮下に植え込み、正常な明暗リズム下でテレメトリーシステムによる活動量の測定を行った。結果、1 時間当たりの活動量の平均は、心肥大、心不全へと病態が進行するとともに減少を認めた(図 1)。活動量を明期及び暗期に分けて比較すると、暗期の活動量が減少していることが明らかになった(図 2)。続いて、活動量の変化から見る概日リズムを比較すると、過去の報告同様に Sham では夜間の活動量の増加を認めており、心肥大群、心不全群でも同様の傾向を認めた(図 3)。以上より、心不全モデルでは、病態の進行と共に活動量は低下するが、概日リズムは維持されていることが示唆された。

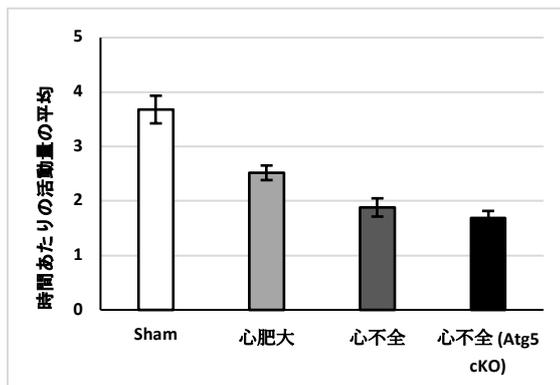


図 1 平均活動量の比較

続いて、オートファジーに関与する Atg5 の心筋細胞特異的ノックアウト (Atg5cKO) マウスに TAC を行い心不全を発症した7匹において、上記と同様にテレメトリーシステムを用いた概日リズムの測定を行った。結果、野生型マウスと同様に Atg5cKO マウスの心不全モデルにおいても、活動量は低下したが、概日リズムは維持されていた(図3)。

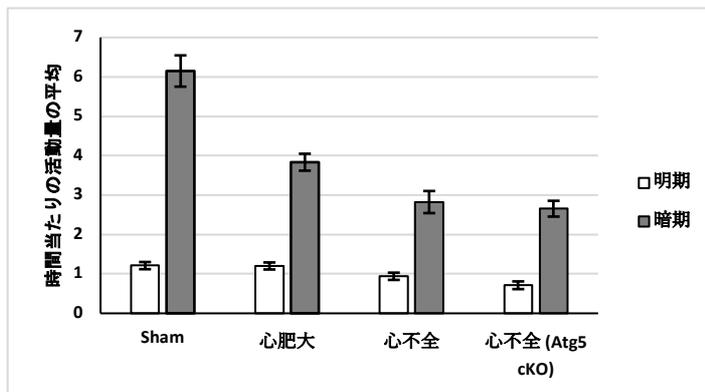


図2 明期及び暗期における平均活動量の比較

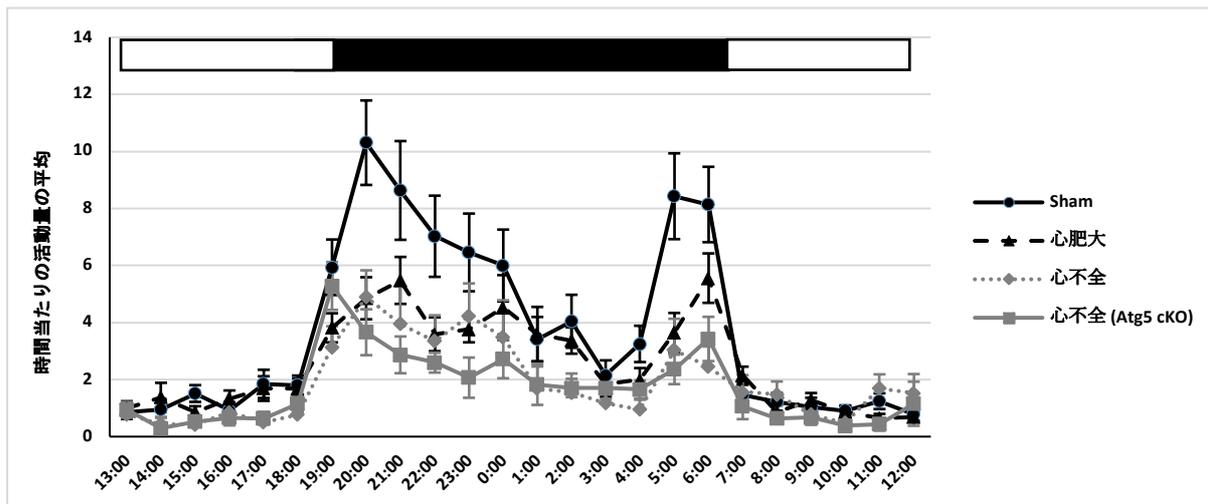


図3 概日リズムの比較

これらの結果より、心不全モデルマウスの概日リズムは維持されていることが示唆され、今後メラトニンの心不全に対する効果及びその機序を検討する上で、概日リズムの是正以外の因子に着目して検討を進めていくことが可能と考えられた。引き続き、心不全モデルマウスへのメラトニンの効果、オートファジー関与の検討など解析を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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