

機関番号：17401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20790537

研究課題名 (和文)

心臓からのステロイドホルモン産生とその心臓への作用と作用機序についての研究

研究課題名 (英文)

The Effects of Steroid Hormone to Heart.

研究代表者

山室 恵 (YAMAMURO MEGUMI)

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：50457587

研究成果の概要 (和文)：

基礎研究では、培養ラット心筋細胞を用いた実験によりアルドステロンが心筋細胞におけるアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 遺伝子発現を増加させることを示し、ACEと相同性を持つ酵素でアンジオテンシンIIを減らす方向に作用し心保護的に働く酵素としてACE2遺伝子発現がアルドステロンによって抑制されることについて仔ラット心筋細胞培養系を用いて証明し報告している (Circulation Journal 2008)。

臨床研究では、熊本大学循環器病態学に入院され治療された心不全患者に対して大規模に予後調査と評価を行い、心不全予後にかかわる因子を報告している。

研究成果の概要 (英文)：

In basic study, we reported that Aldosterone, but not angiotensin II, reduced ACE2 mRNA levels and increased ACE mRNA levels in rat cardiomyocytes via mineralocorticoid receptor. Aldosterone might play an important role in cardiac remodeling by upregulating ACE and downregulating ACE2 levels. (Circulation Journal 2008)

In clinical study, we reported that a plasma BNP level is a significant independent predictive factor for pump failure death in myocardial infarction and non-ischemic heart failure patients. Estimated GFR is a significant independent predictive factor for sudden cardiac death in myocardial infarction patients. (J Cardiol. 2010 ;55(1):55-64.)

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年	600,000	180,000	780,000
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：内科

科研費の分科・細目：循環器、高血圧

キーワード：①循環器・高血圧、②内科、③生理学、④病理学、⑤細胞・組織

1. 研究開始当初の背景

我々は虚血性心疾患、不整脈等のあらゆる心疾患の終末期病態である心不全を研究テーマとしてきた。心不全時には特に心臓はポンプ臓器のみならずホルモンを分泌し自己防衛する内分泌臓器となることが知られており、心臓内分泌学は現在の心不全治療に非常に重要な役割を果たしている。我々はナトリウム利尿ペプチドである ANP、BNP が不全心筋より分泌され、心保護的に働くことを報告した(JCI 1989)。また、我々は副腎でのみ分泌されると考えられていたミネラルコルチコイド：アルドステロンが、不全心筋から分泌されることをヒトにて世界にさきがけて初めて証明した (Circulation 1999)。心不全で死亡した症例から採取した剖検左室心筋組織におけるアルドステロン合成酵素である CYP11B2 の遺伝子発現が生前心疾患を有しなかった症例から採取した組織におけるそれよりも有意に高いことを示した(JCEM 2000)。アルドステロンの受容体であるミネラルコルチコイド受容体の存在は心臓においても証明されており、アルドステロンの心筋アポトーシス作用、心線維化作用に関する報告が多数存在するが、そのアルドステロンが不全心から分泌されるとは驚きであった。

また、我々は、健常心ではデヒドロエピアンドロステロン (DHEA) が産生され、これが不全心になると DHEA の産生低下を生じることも報告している。(Circulation 2006)。抗酸化作用、抗心筋肥大作用を有する DHEA は若年のしなやかに動く心臓では多く産生されており、その時、ANP、BNP はほとんど産生されていない。しかし、不全心に移行すると心臓では DHEA 産生系からアルドステロン産生系に移行し、それに対抗しようと ANP、BNP が不全心より産生される。この産生系のシフトは副腎では見られない現象であり、心臓で

のみ認められる。ANP、BNP が心臓でのみ産生されることと関連があるのかもしれないが、現在、そのメカニズムについて研究中である。

我々は不全心筋より分泌されるステロイドホルモンであるアルドステロンの心臓に作用するメカニズムについて研究し報告している。培養ラット心筋細胞を用いた実験によりアルドステロンが心筋細胞におけるアンジオテンシン変換酵素(ACE)遺伝子発現を増加させることを示している (Circulation 2000)。

アルドステロンは不全心筋から産生され、ACEに作用することでアンジオテンシンIIを増やしていく。心臓局所にレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系 (RAAS) のポジティブフィードバック機構が存在することを意味している。臨床的に心筋傷害進行過程の悪循環が形成されている可能性があると考えられる。また、ナトリウム利尿ペプチドはアルドステロン合成酵素遺伝子発現を抑制し心臓保護的に働くことも論文で報告している (Circulation 2002)。

我々はアルドステロンが塩分負荷と共に臓器傷害を生じていることに着目し、培養心筋細胞を用いて研究しそのメカニズムを報告している。細胞外液ナトリウム負荷時に、(i) アルドステロンは、早期にはNa/H exchanger 1 (NHE1)を介して細胞内へナトリウムを流入 (非ゲノム作用) させることで高浸透圧による心筋細胞脱水を防ぐ生理学的作用を有するものの、(ii) アルドステロンは、ナトリウムの長期負荷において、NHE1を介した心筋細胞肥大作用 (ゲノム作用) を有するということを報告した。つまり、不全心筋より分泌されるアルドステロンは過剰塩分摂取により相乗的に心筋細胞肥大を生じるそのメカニズムについて詳細に解明し世界で初めて報告した (Endocrinology 2006)。

アルドステロン単独では必ずしも心血管系に悪影響を及ぼさず、食塩と一緒に作用することで心筋障害を生じるということである。

以上、我々はアルドステロンが不全心から分泌されることを臨床研究で証明し、そのアルドステロンの心筋へのメカニズム、とりわけナトリウムを介して生じる現象を *in vitro* の実験系を用いて証明してきた。

2. 研究の目的

ACE と相同性を持つ酵素でアンジオテンシン II を減らす方向に作用し心保護的に働く酵素として ACE2 があるが、アルドステロンやコルチゾールが ACE2 に対してどのように作用するかについて基礎的手法（仔ラット心筋培養）を用いて研究した。

我々はこれまでと同様に心不全患者におけるアルドステロンやコルチゾールの作用について臨床的、また塩分との相関をふまえた基礎的研究でそのメカニズムを解明した。

3. 研究の方法

仔ラット心筋細胞培養系を用いた基礎研究と心不全患者の薬物治療前後、もしくは心臓カテーテル検査時の心臓各所や各臓器由来の静脈からの採血サンプルを用いる臨床研究を行った。

臨床研究では、当科に入退院時、外来受診時心臓カテーテル検査時に採取した血液サンプルの蓄積があり（インフォームドコンセント済み）、これを用いて酵素、ホルモンなどを定量し病態との関わりを研究した。

4. 研究成果

培養ラット心筋細胞を用いた実験によりアルドステロンが心筋細胞におけるアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 遺伝子発現を増加

させることを示し、ACEと相同性を持つ酵素でアンジオテンシンIIを減らす方向に作用し心保護的に働く酵素としてACE2遺伝子発現がアルドステロンによって抑制されることについて仔ラット心筋細胞培養系を用いて証明し報告している（Circulation 2000、Circulation Journal 2008：若手研究 B20790537 研究費からの成果：「心臓からのステロイドホルモン産生とその心臓への作用と作用機序についての研究」）。アルドステロンは不全心筋から産生され、ACE, ACE2 に作用することでアンジオテンシン II を増やしていく。心臓局所にレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系 (RAAS) のポジティブフィードバック機構が存在することを意味している。臨床的には、このポジティブフィードバック機構により心筋傷害進行過程の悪循環が形成されている可能性があると考えられる。仔ラット培養心筋細胞に対するコルチゾールの作用も検討したがこちらは十分な結果を得られなかった。

臨床研究としてコルチゾールと心不全の関与について大動脈、冠静脈洞からの採血サンプルを用いて検討したが明らかな相違はなくこちらの報告はしていない。その代り、臨床データを用いて予後調査を大規模に行い、心不全患者においてその予後を規定する因子を研究し日本心臓病学会誌に報告している。（血漿B型ナトリウム利尿ペプチドは心不全患者におけるポンプ不全死の独立予測因子である。また、腎機能評価因子の一つである糸球体濾過率は、陳旧性心筋梗塞患者における心突然死の独立予測因子である。J Cardiol. 55(1):55-64, 2009.）

そのほかに複数の基礎・臨床研究に携わり学会発表、論文発表に関与している。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

[雑誌論文] (計 7 件) すべて査読あり

1. Miyazaki Y, Kaikita K, Endo M, Horio E, Miura M, Tsujita K, Hokimoto S, Yamamuro M, Iwawaki T, Gotoh T, Ogawa H, Oike Y. C/EBP Homologous Protein Deficiency Attenuates Myocardial Reperfusion Injury by Inhibiting Myocardial Apoptosis and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 in press.
2. Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sugamura K, Nozaki T, Ohba K, Konishi M, Matsubara J, Sumida H, Kaikita K, Kojima S, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Izumiya Y, Iwashita S, Matsui K, Jinnouchi H, Kimura K, Umemura S, Ogawa H. Digital assessment of endothelial function and ischemic heart disease in women. *J Am Coll Cardiol.* 2010 20;55(16):1688-96.
3. Usuku H, Nakayama M, Sumida H, Yamamuro M, Izumiya Y, Suzuki S, Kusuhara K, Ueno H, Sugiyama S, Yoshimura M, Ogawa H. Pump failure death and sudden cardiac death in patients with cardiac dysfunction: a search for prognostic predictive factors--a long-term follow-up study. *J Cardiol.* 55(1):55-64. 2009.
4. Yamamuro M, Ogawa H. Ischemic heart disease. *Nippon Rinsho.* 2009; 67(4):764-70. Review.
5. Ueno H, Yoshimura M, Nakayama M, Yamamuro M, Nishijima T, Kusuhara K, Nagayoshi Y, Kojima S, Kaikita K, Sumida H, Sugiyama S, Ogawa H. Clinical factors affecting serum

potassium concentration in cardio-renal decompensation syndrome. *Int J Cardiol.* 21;138(2):174-81. 2008

6. Yamamuro M, Yoshimura M, Nakayama M, Abe K, Sumida H, Sugiyama S, Saito Y, Nakao K, Yasue H, Ogawa H. Aldosterone, but not angiotensin II, reduces angiotensin converting enzyme 2 gene expression levels in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circ J.* 2008 ;72(8):1346-50.
7. Ueno H, Nakayama M, Kojima S, Kusuhara K, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Nishijima T, Usuku H, Kaikita K, Sumida H, Yamabe H, Sugiyama S, Yoshimura M, Ogawa H. The synergistic combined effect of anemia with high plasma levels of B-type natriuretic peptide significantly predicts an enhanced risk for major adverse cardiac events. *Heart Vessels.* 23(4):243-8. 2008.

[学会発表] (計 17 件)
2010年

第 14 回日本心臓血管内分泌代謝学会学術総会, 2010. 3. 31-4. 1, 奈良県新公会堂

1. Yamamuro M, Nakayama M, Yoshimura M, Ogawa H. Effect of Aldosterone and Sodium on Cardiomyocytes.

American College of Cardiology 2010, 59th Annual Scientific Session, 2010. 3. 14-16, Atlanta, GA USA

2. Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sumida H, Sugamura K, Nozaki T, Oba K, Kaikita K, Kojima S, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Izumiya Y, Sakamoto K, Konishi M, Matsubara J, Akiyama E, Iwashita S, Matsui K, Jinnouchi H, Kimura K, Umemura S, Ogawa H. Digital Assessment of Endothelial Function Predicts Coronary Plaque Vulnerability in High Risk Patients Suspected Coronary Artery Disease.

第 74 回日本循環器学会総会・学術集会,

2010. 3. 5-7, 京都国際会議場

3. Yamamuro M, Takashio S, Izumiya Y, Sakamoto K, Tsujita K, Kaikita K, Hokimoto S, Sumida H, Sugiyama S, Ogawa H.
Low Apolipoprotein C3 and AI Levels Enhanced Risk of Cardiovascular Re-attacks in Patients with Heart Failure.
4. Kusahara K, Fukuda M, Yamamuro M, Nakayama M, Ogawa H.
Interpretation of B-type Natriuretic Peptide of Elderly Population in a Sanatorium.
5. Ohba K, Sugiyama S, Sugamura K, Nozaki T, Matsuzawa Y, Matsubara J, Konishi M, Akiyama E, Sumida H, Kaikita K, Kojima S, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Izumiya Y, Sakamoto K, Hokimoto S, Yamabe H, Ogawa H.
Paradoxical Angina Pectoris: Occurrence of Myocardial Ischemic Attack with Paradoxically Increasing Coronary Blood Supply through Non-obstructive Coronary Artery.

American Heart Association the 82nd Scientific Sessions, 2009. 11. 14-18, Orlando, FL USA

6. Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sumida H, Sugamura K, Nozaki T, Ohba K, Kaikita K, Kojima S, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Izumiya Y, Sakamoto K, Konishi M, Matsubara J, Akiyama E, Iwashita S, Matsui K, Jinnouchi H, Kimura K, Umemura S, Ogawa H.
Digital Assessment of Endothelial Function Predicts Coronary Plaque Vulnerability in High Risk Patients Suspected Coronary Artery Disease.
7. Ohba K, Sugiyama S, Sugamura K, Nozaki T, Matsuzawa Y, Matsubara J, Konishi M, Akiyama E, Sumida H, Kaikita K, Kojima S, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Izumiya Y, Sakamoto K, Hokimoto S, Yamage H, Ogawa H.
Paradoxical angina pectoris: occurrence of myocardial ischemic attack with paradoxically increasing coronary blood supply through non-obstructive coronary artery.

XV International Symposium on

Atherosclerosis 2009, 2009. 6. 14-18, Boston, MA USA

8. Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sumida H, Sugamura K, Nozaki T, Ohba K, Konishi M, Matsubara J, Kaikita K, Kojima S, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Izumiya Y, Iwashita S, Matsui K, Kimura K, Umemura S, Ogawa H.
Digital Assessment of Endothelial Function and Ischemic Heart Disease in Women.
9. Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sumida H, Sugamura K, Nozaki T, Ohba K, Kaikita K, Kojima S, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Izumiya Y, Sakamoto K, Konishi M, Matsubara J, Akiyama E, Iwashita S, Matsui K, Jinnouchi H, Kimura K, Umemura S, Ogawa H.
Digital Assessment of Endothelial Function Predicts Coronary Plaque Vulnerability in High Risk Patients Suspected Coronary Artery Disease.

第 73 回日本循環器学会総会学術集会, 2009. 3. 20-22, 大阪国際会議場

10. Yamamuro M, Sakanashi T, Nakayama M, Yoshimura M, Ogawa H.
Aldosterone, but Not Angiotensin II, Reduces Angiotensin Converting Enzyme 2 Gene Expression Levels in Cultured Neonatal Rat Cardiomyocytes.
11. Ohba K, Sugiyama S, Matsubara J, Matsuzawa T, Konishi M, Nozaki T, Morihisa K, Uemura T, Tanaka Y, Oe Y, Sugamura K, Sakamoto K, Yamamuro M, Nagayoshi Y, Kojima S, Izumiya Y, Kaikita K, Soejima H, Sumida H, Yamabe H, Ogawa H.
12. Sumida H, Sugiyama S, Matsuzawa Y, Kaikita K, Kojima S, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Izumiya Y, Sakamoto K, Ohba K, Nozaki T, Sugamura K, Konishi M, Hokimoto S, Ogawa H.
Post Procedural Creatinine Increase is Associated with Endothelial Dysfunction in Patients with Early Stage of Chronic Kidney Disease.
13. Nakayama M, Yamamuro M, Kusahara K, Ueno H, Usuku H, Ogawa H. Plasminogen Activator Inhibitor 1 Gene Expression in Platelets is Significantly Correlated with Glucose and Lipid Metabolism and with Occurrence of Acute Coronary

Syndrome.

2008 年度

American Heart Association Scientific Sessions 2008, 2008.11-8-12, New Orleans, Louisiana USA

14. Nakayama M, Yamamuro M, Kusahara K, Ueno H, Usuku H, Ogawa H. Plasminogen Activator Inhibitor 1 Gene Expression in Platelets is Significantly Correlated with Glucose and Lipid Metabolism and with Occurrence of Acute Coronary Syndrome.

第 72 回日本循環器学会総会・学術集会, 2008.3.28-30, 福岡国際会議場

15. Matsuzawa Y, Sugiyama S, Nozaki T, Sugamura K, Yamamuro M, Nagayoshi Y, Kojima S, Kaikita K, Sumida H, Ogawa H. Abdominal Obesity is a Significant Determinant of Endothelial Dysfunction in High Risk Patients with or without Metabolic Syndrome.
16. Yamamuro M, Nakayama M, Ueno H, Kusahara K, Usuku H, Nishijima T, Suzuki S, Sugiyama S, Ogawa H. Synergistic Interaction of Plasma BNP and Glucose Levels for Enhanced Risk for Cardiovascular Re-attacks in Patients with Heart Failure.
17. Matsuzawa Y, Sugiyama S, Nozaki T, Sugamura K, Yamamuro M, Nagayoshi Y, Kojima S, Kaikita K, Sumida H, Ogawa H. Improvement of Endothelial Function is a Potential Clinical Target for Heart Failure Patients with Systolic or Diastolic Dysfunction.

[図書] (計 8 件)

1. 山室 恵, 小川久雄. 虚血性心疾患. 日本臨牀 67(4):764-770;2009
2. 山室 恵, 小川久雄. 狭心症・心筋梗塞. 日本臨牀 67(7):389-392;2009
3. 山室 恵, 小川久雄. 心血管イベントにおける選択的アルドステロンブロッカーの抗凝固作用をみる: 選択的アルドステロンブロッカーのすべて(猿渡享男 編), pp150-153, 先端医学社 2009
4. 山室 恵, 小川久雄. 狭心症・心筋梗塞: 高血圧⑥—日本における最新の研究動向—臨床編, pp389-392, 日本臨牀 2009
5. 山室 恵, 小川久雄. 虚血性心疾患. 日本臨牀 67(4):764-770;2009

6. 山室 恵, 小川久雄. ジギタリス、利尿剤: 重症心不全の予防と治療 (北風雅史編), pp224-227, 中外医学社 2009
7. 山室 恵, 杉山正悟, 小川久雄. 「CKD ×糖尿病」の薬物療法・服薬管理 Q&A④. 薬局 59(12): 49-50;2008
8. 山室 恵, 小川久雄. 心不全のバイオマーカーと治療戦略. カレントセラピー 26(11):26-29;2008

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山室 恵 (YAMAMURO MEGUMI)

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号: 50457587