

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08492

研究課題名(和文) PAR-2シグナルによる心臓特異的炎症機構の解明と新たな心臓病治療法の開発

研究課題名(英文) Mechanism of cardiac-specific inflammation mediated by PAR-2 signaling and development of new cardiac disease therapies

研究代表者

植松 悦子 (UEMATSU, Etsuko)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・教務補佐員

研究者番号：10352080

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で、PAR-2シグナルを中心とした炎症および線維化による心房細動進展のメカニズムを明らかにし、新しい機序による心房細動アップストリーム治療薬としてのXa阻害薬の可能性が示唆された。慢性心不全の加療に関しては、交感神経系やRAA系の抑制による加療が主流であるが、慢性炎症をターゲットとした治療法は未だ確立されていない。本研究でPAR-2シグナルを介した心不全の新たなメカニズムを解明し、今までとは全く別のアプローチによる心不全加療の開発に取り組んだ。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、Xa-PAR-2シグナル活性化に伴う炎症反応が心房細動の発症に関与している可能性と線維化に関与している可能性が示され、新しい機序による心房細動アップストリーム治療薬としてのXa阻害薬の可能性が示唆された。また、CNP投与は、HFPEFモデルにおける左室拡張障害を改善しており、その要因のひとつとして左室線維化の軽減が考えられた。以上のことより、Xa阻害薬による心房細動進展抑制効果および慢性心不全での心機能改善作用による、新しいアプローチによる治療薬として臨床応用につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, I elucidated the mechanism of atrial fibrillation progression by inflammation and fibrosis centered on PAR-2 signaling, suggesting the potential of Xa inhibitors as upstream treatment for atrial fibrillation through a novel mechanism. Although treatment of chronic heart failure is mainly based on inhibition of the sympathetic nervous system and RAA system, therapies targeting chronic inflammation have not yet been established. In this study, we elucidated a new mechanism of heart failure mediated by PAR-2 signaling, and worked to develop a completely different approach to the treatment of heart failure.

研究分野：循環器内科

キーワード：循環器 プロテアーゼ活性化受容体(PAR) 心房細動 心筋梗塞

1. 研究開始当初の背景

近年の研究により、複数の凝固因子は血栓形成に寄与する一方で、さまざまな細胞のプロテアーゼ活性化受容体 (Protease-activated receptors: PAR) を活性化し、炎症反応に関与することが知られている。心疾患の病態に慢性炎症のプロセスが関与していることが明らかになっているが、PAR 特に PAR-2 による心臓での炎症制御機構は不明な点が多く残されている。本研究では、最初に、炎症・線維化が深くかかわっている心房・心室リモデリングおよびそれに伴う心房細動・心不全における心臓での PAR-2 シグナルの関与を心筋細胞、心房内皮細胞、間質細胞、炎症性細胞などを中心に調べる。そして、PAR-2 のリガンドで抗凝固薬としてすでに臨床応用されている経口 Xa 阻害薬の抗炎症作用による新たな心臓病 (心房細動並びに心不全) 治療薬としての可能性を探ることを目的とする。

2. 研究の目的

心房細動の発症基盤として慢性炎症の存在がクローズアップされているが、未だ詳細なメカニズムは不明のままである。本研究で、PAR-2 シグナルを中心とした炎症による心房細動進展のメカニズムが明らかになれば、新たなアプローチによるアップストリーム治療の開発が期待される。また、慢性心不全の加療に関しては、交感神経系や RAA 系の抑制による加療が主流であるが、慢性炎症をターゲットとした治療法は未だ確立されていない。本研究で PAR-2 シグナルを介した心不全の新たなメカニズムが解明されれば、今までとは全く別のアプローチによる心不全加療の確立へとつながることが期待される。

本研究において経口 Xa 阻害薬による心房細動進展抑制効果および慢性心不全での心機能改善作用が証明されれば、新しいアプローチによる治療薬として早期の臨床応用が可能である。特に左心室の収縮が正常な心不全である HFpEF (heart failure with preserved ejection fraction) については収縮不全に対してエビデンスを有している RAA 系阻害薬や 遮断薬の効果が乏しく、経口 Xa 阻害薬の抗炎症・抗線維化作用による拡張機能改善作用が臨床応用へ向け期待される。実際、経口 Xa 阻害薬は抗凝固薬としてすでに臨床応用されており、心房細動患者や極端な心機能低下がみられ心室内血栓の可能性を有する患者では抗凝固薬として使用可能なことから、抗心房リモデリング薬あるいは心不全治療薬としての効果を検証する臨床試験も行いやすい環境にあると推察される。

3. 研究の方法

(1) 野生型マウスおよび PAR-2 KO マウスに対しアンジオテンシン II (AngII) の持続的投与を施行し、心房・心室組織および浸潤炎症細胞での PAR-2 の発現と心房・心室の重量や線維化の程度との関係を調べ、PAR-2 シグナルが炎症性変化や線維化に関与しているかを検証する。また、AngII 持続投与を施行した野生型及び PAR-2 KO マウスに心房・心室の高頻度ペーシングを行い心房細動誘発の有無を比較検討する。

(2) Dahl salt-sensitive ラットに 8%NaCl を負荷し HFPEF モデルを作成した。そして、浸透圧ミニポンプを用いて CNP (0.1 µg/kg/min) または Vehicle として 5%ブドウ糖液の持続静注を 4 週間行った。そして、心臓超音波検査により心機能を評価し、心臓カテーテル検査により血行動態を評価した後、心臓を摘出し、生化学的・病理学的評価を行った。

4. 研究成果

(1) 10 週齢の PAR-2KO マウス及び C57BL/6 マウス (野生型) をそれぞれ AngII 投与群と非投与群に分け (計 4 群) それぞれの群において、浸透圧ミニポンプを用いて AngII (2ug/g/day) または生理食塩水を 4 週間持続投与した。投与期間中は継時的に体重と血圧を測定した。いずれの群においても AngII 投与群では体重の増加は抑制され (表 1)、血圧は顕著に上昇した (図 1)。心房のパラフィン包埋切片を作成し、Masson trichrome 染色による組織学的評価を行ったところ、PAR-2KO マウスでは野生型マウスに比べて心房の線維化が抑制される傾向が見られた (図 2)。心房組織における PAR-2、collagen1、collagen3 などの発現による評価からも同様の傾向が示された (図 3)。AngII 持続投与を施行した野生型及び PAR-2 KO マウスに心房・心室の高頻度ペーシングを行い心房細動誘発の有無を比較検討したところ、PAR-2KO マウスでは野生型マウスに比べてレニン-アンジオテンシン系の刺激による心房細動の誘発率が有意に低かった (図 4)。

群名	WT control	PAR-2KO control	WT Ang II	PAR-2KO Ang II
サンプル数(匹)	10	7	9	9
体重(g)	25.4±0.4	31.3±0.6	26.1±1.0	27.4±0.6
体重/心重量(g/g)	0.008	0.006	0.008	0.006
心拍数	680±25	691±21	656±35	656±13

表1 マウスの基本特性

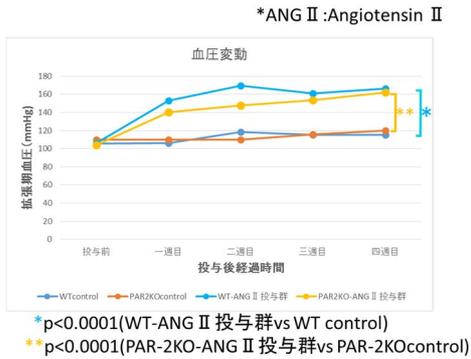


図1 血圧の推移

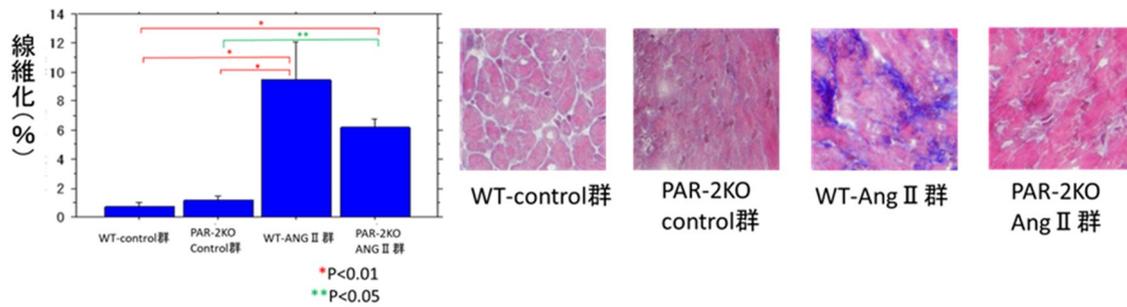


図2 心房の繊維化の組織学的評価

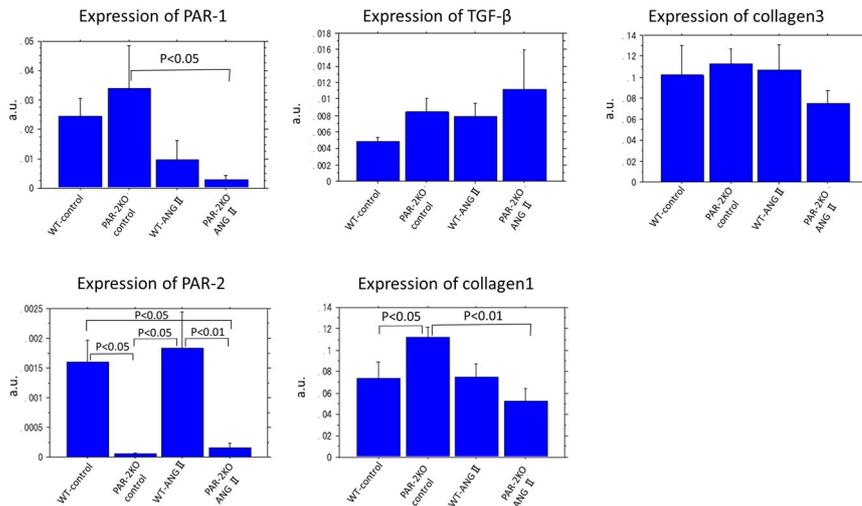
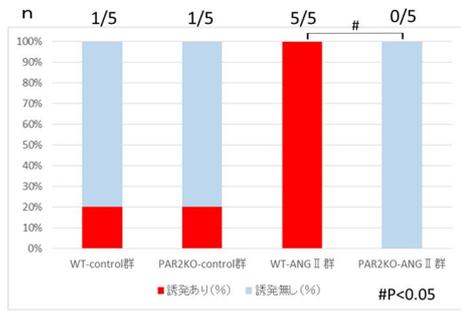


図3 心房の炎症関係遺伝子の発現



*pacing前に死亡したものは除外した。

図4 心房細動誘発率

(2)

心臓超音波検査において、左室収縮能に関しては CNP 投与群と Vehicle 群の間に有意差はみられなかった。心臓カテーテル検査においては、両群とも高血圧を示しており、CNP 投与により収縮期血圧は低下傾向を示したが有意差はみられなかった。左室拡張末期圧 (LVEDP) に関しては、CNP 投与群において有意に Vehicle 群より低値であった (図5)。

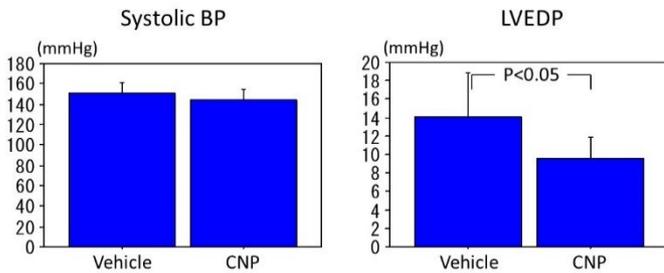


図5 HFPEFモデルラットにおける血行動態(1)

また、CNP 投与群は左室最小 dP/dt が Vehicle 群よりも改善していたが、最大 dP/dt に関しては両群で有意差はみられなかった (図6)。

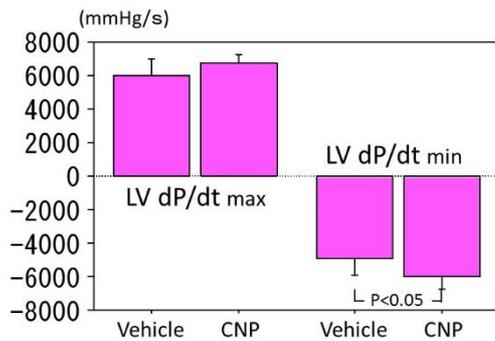


図6 HFPEFモデルラットにおける血行動態(2)

また、CNP 投与群では左室の形態学的コラーゲン密度が Vehicle 群よりも有意に低下していた。

以上より、CNP 投与は、HFPEF モデルにおける左室拡張障害を改善しており、その要因のひとつとして左室線維化の軽減が考えられた。

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
研究分担者	添木 武 (SOEKI Takeshi) (60393211)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・特任教授 (16101)	

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