

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08084

研究課題名(和文) たこつぼ症候群の発症メカニズム解明を通じた新規心不全治療ターゲットの探索

研究課題名(英文) Research for new heart failure treatment targets by elucidating the pathogenic mechanism of Takotsubo syndrome

研究代表者

尾上 健児 (Onoue, Kenji)

奈良県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：90510173

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：我が国の心不全患者数は増加の一途を辿り、より効果的な治療法が求められている。急性心不全で発症するたこつぼ症候群(TTS)は一過性の心収縮能低下を特徴とする疾患群で、急性カテコラミン毒性による心臓交感神経系障害が主な発症機序と考えられている。本研究では、加齢と共に増加する交感神経系制御因子GRK2を心筋で高発現させたマウス作製を行い、TTSを誘発して心機能および交感神経系分子に及ぼす影響を解析した。野生型およびGRK2高発現マウスにTTSを誘発したところ、後者でより重症化することがわかり、活性酸素種の産生増加などの関与が認められた。本研究で得られた知見を心不全診療に活かせるよう研究を継続したい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢社会を迎える我が国において心不全患者数は増加の一途にあり、より効果的な治療法を探索することが喫緊の課題となっている。心不全患者では交感神経活性が亢進しており、カテコラミン濃度が高い患者ほど予後不良であるため交感神経活性が予後規定因子とされる。交感神経活性が強く関与する疾患として、急性心不全で発症するたこつぼ症候群(TTS)がある。本研究では交感神経系シグナル制御因子で加齢とともに増加が報告されているGRK2の過剰発現がTTSの病態を悪化させることが判明した。本研究で得られた知見が心不全全般に認められるか検討する必要があるが、新たな心不全治療の標的となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The number of heart failure patients in Japan continues to increase, and more effective treatment methods are needed. Takotsubo syndrome (TTS), which develops acute heart failure, is a group of diseases characterized by a transient decrease in cardiac contractility, and cardiac sympathetic nervous system disorder due to acute catecholamine toxicity is thought to be the primary pathogenic mechanism.

In this study, we created mice with high expression of the sympathetic nervous system regulator GRK2, which increases with age, in the myocardium, induced TTS, and analyzed the effects on cardiac function and sympathetic nervous system molecules. When TTS was induced in wild-type and GRK2-high-expressing mice, the latter became more severe, and the production of reactive oxygen species was involved.

We want to continue our research so that the knowledge obtained in this study can be utilized for heart failure treatment.

研究分野：心不全

キーワード：急性心不全 たこつぼ症候群 カテコラミン心毒性

## 1. 研究開始当初の背景

超高齢社会を迎える我が国において、全ての心疾患の終末的病態である心不全患者数は増加の一途にあり、“心不全パンデミック”と呼ばれる事態が進行している。この心不全パンデミックに対応するため、心不全の病態評価や予後予測とともにより効果的な治療法を探索することが喫緊の課題となっている。心不全患者では交感神経活性が亢進しており、カテコラミン濃度が高い患者ほど予後不良であるため交感神経活性が予後規定因子とされる。すなわち交感神経系シグナルの調整が新たな心不全マネジメント法となり得る。

交感神経活性が強く関与する疾患として、急性心不全で発症するたこつぼ症候群 (Takotsubo syndrome; TTS) がある。TTS は一過性の心収縮能低下を特徴とする疾患群で、閉経後の高齢女性に好発し、身体的・精神的ストレスを背景として急性冠症候群に類似した症状で突然発症する。その機序については多枝冠動脈攣縮説、急性冠微小循環障害説、急性カテコラミン毒性説などが考えられている。このうちカテコラミン毒性による心臓交感神経系障害およびそれに引き続く心筋収縮不全は、最も有力な発症機序と考えられているが、実際の症例においてこれら交感神経系の障害・関与を直接証明した研究はなく、病因論も確立されていなかった。我々は先行研究で TTS 発症急性期の心筋生検組織を用いて、交感神経系シグナル制御因子である GRK2 や アレスチン 2 の発現が TTS 患者心筋で亢進するとともに、これら分子が細胞膜に移行し、受容体の脱感作を起こしている可能性を示唆する所見を観察し発表してきた (*Scientific Report* 8:12731, 2018)。これら TTS 発症機序に関わる分子を制御することが心不全に及ぼす影響は検討されておらず、本研究を考案するに至った。

## 2. 研究の目的

TTS 発症機序の解明は、同症の治療のみならず、心不全発症機序・増悪因子の一つにカテコラミンを含めた交感神経系シグナルの関与が考えられており、その病態を紐解き、病態に即した治療戦略を考案する端緒にもなると考えられる。本研究では我々の先行研究の知見に基づき、TTS モデルマウスを作製し、それを用いて TTS 発症機序、交感神経系シグナルの調整機構を検討し、新たな心不全治療のターゲットを探索することを目的とする。

この研究を通じて、心不全マネジメントに際しても、病態に即した治療戦略を講じることが可能になれば、現在進行している超高齢社会を迎えた我が国の医療にも非常に有益な研究になると考えられる。

## 3. 研究の方法

我々がすでにヒト臨床検体を用いて TTS の病態に関与することを明らかにした GRK2 や アレスチン 2 等の TTS 関連分子の心筋細胞における発現調整マウスを作製して、カテコラミン刺激による アドレナリン受容体シグナル関連分子の動態におよぼす影響を、正常コントロールおよび DCM モデルマウスとの比較検討を通じて解析する。また、これら分子動態におよぼす性差の影響、性ホルモンの影響、年齢の影響を検討し、高齢女性に好発するという TTS の臨床的特徴のメカニズムを追求する。さらに、病態を修飾する薬剤の検証、具体的には プロックターや心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) 等を投与し、その治療効果を検証して有用な治療手段を確立することをも目指す。

1) 動物モデル作製とその解析 ; TTS 発症に關与する アドレナリン受容体關連分子、とりわけアドレナリン受容体シグナルを抑制し、一過性に心筋収縮を抑制することに關与していると考えられる GRK2 および アレスチン 2 に着目し、これら分子の心筋細胞における高発現動物モデルを作成する。具体的には野生型マウスに対し GRK2 および アレスチン 2 の遺伝子を Adeno-associated virus (AAV)ベクターを投与しマウス心筋で高発現させる Transgenic (TG)モデルを作成する。これら TG モデルマウスにカテコラミンを腹腔内投与し、心臓での PKA シグナル等のアドレナリン受容体シグナルカスケードにおよぼす影響、ならびに心機能や全身血圧におよぼす影響を、正常コントロール心筋との比較検討を通じて検証する。また、心エコーによる心機能評価、蛋白および遺伝子の発現解析、および免疫染色による組織学的評価等で蛋白発現調整動物の野生型に対する反応性の違いを検証し、たこつぼ症候群におけるこれら分子の役割を検証する。

2) 動物モデルを用いた性差および年齢差の解析 ; 次に、TG マウスにおけるこれら血行・心機能・分子動態の変化に性差が存在するか、年齢差が存在するかを検証するため、若年オス・メスおよび高齢オス・メスに対して上記と同様の方法でモデルマウスを作製し検証を行う。

カテコラミン投与群およびコントロール群では投与 30 分後に心臓超音波検査を行い左室心筋の壁運動を評価する。また、各群の一部は投与 60 分後に心臓摘出を行い、組織学的・生化学的に アドレナリン受容体關連分子の発現やその分布などの解析を行う(急性期群)。各群のその他の動物はカテコラミン投与 7 日後に血圧測定および心臓超音波検査を行い左室心筋の壁運動を評価し、評価後に心臓摘出を行い組織学的および生化学的解析を行う(回復期群)。

以上、TTS 動物モデルを用いて、心臓での交感神経系、とりわけ アドレナリン受容体に着目し アドレナリン受容体シグナル経路に關わる TTS に特徴的な分子動態を検証する。これらの解析を通じて TTS 発症の分子機序解明に取り組み、その治療方法に關しても検証を行った。

#### 4 . 研究成果

本研究では、これまでに困難とされてきた TTS モデルマウスの作製に成功した。TTS の発症には性差および週齢が關与し、一定週齢の雌マウスでのみ TTS を発症することがわかった。また、試行錯誤の末、AAV ベクターを用いて交感神経系シグナル制御分子である GRK2 をマウス心筋で高発現させる TG モデル作製にも成功し、これらを利用した実験を行った。野生型マウスおよび GRK2-TG マウスに対するカテコラミン投与を行い、TTS 発症の変化について観察を行ったところ、GRK2 高発現マウスでより心機能が低下し、さらに心機能低下期間が遷延するなど、より重症化することがわかった。BNP など心不全關連分子の遺伝子発現や蛋白発現には急性期で両群に差の認められるものはなかった。急性期組織の免疫染色では、活性酸素種の産生が GRK2 高発現マウスでより多く認められ、病態の違いに關与すると推測された。

本研究で得られた知見が、TTS 以外の心不全病態に認められるか、今後も検討は必要であるが、交感神経系 アドレナリン受容体シグナル、中でも加齢とともに増加することが報告されている GRK2 に着目した心不全の制御は、今後新たな治療ターゲットとなる可能性がある。今後本研究で認められた現象の原因をさらに追求するとともに、新たな心不全治療が可能かも含めさらに検討を進めていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 尾上健児
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
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hidaka Otani, Kenji Onoue, Kodai Yamada, Shiho Tokinaga, Tomoko Ioka, Yasuki Nakada, Hitoshi Nakagawa, Shungo Hikoso.
2. 発表標題 The deteriorating effect of G protein-coupled receptor kinase 2 on mouse model of Takotsubo syndrome.
3. 学会等名 第7回日本循環器学会基礎研究部会
4. 発表年 2023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
研究協力者	山田 航大  (Yamada Kodai)		
研究協力者	大谷 飛貴  (Otani Hidaka)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	井岡 朋子  (Ioka Tomoko)		

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