

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08121

研究課題名(和文) 多角的アプローチによる拡張不全の病態解明と新規治療法の探索

研究課題名(英文) Pathophysiology and therapies of HFpEF

研究代表者

高野 博之 (Takano, Hiroyuki)

千葉大学・大学院薬学研究院・教授

研究者番号：60334190

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：マウスでは、高脂肪食とN-ニトロール-アルギニンメチルエステル(L-NAME)による一酸化窒素合成酵素阻害という代謝ストレスと高血圧ストレスを組み合わせた"Two-hit"モデルが拡張不全(HFpEF)の動物モデルとして知られている(Schiattarella G, et al., Nature, 2019)。HFpEFの発症機序を明らかにするために、我々は"Two-hit" HFpEFモデルを用いて加齢と性別が心機能に及ぼす影響を検討した。本研究結果から、"Two-hit" HFpEFモデルにおいて加齢や性差により拡張不全の発症に大きな差がある可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

わが国の心不全患者数は年々増加している。心臓の左室収縮能を示す左室駆出率が低下した収縮不全(HFrEF)の研究は進んでおり、診断・治療に関する知見は多い。一方、心不全症例の約半数は、左室駆出率が保たれた拡張不全(HFpEF)であることがわかってきた。収縮不全は男性に多いが、拡張不全は女性に多いという興味深い特徴がある。また拡張不全患者は高齢者に多いため、超高齢社会を迎えたわが国において拡張不全に対する対応は重要課題である。疾患モデルマウスを用いて、性差や加齢などの視点から多角的にアプローチすることで、拡張不全の新たな病態解明が可能となる。

研究成果の概要(英文)：The number of patients with heart failure is increasing year by year in Japan. Research on heart failure (HFrEF) is progressing and there is a lot of knowledge regarding diagnosis and treatment. It has been recently found that approximately half of heart failure patients have diastolic dysfunction (HFpEF). Although HFpEF is more common in women and the elderly, there are many points that are not clear. By using disease model mice and approaching from multiple angles such as gender difference and aging, it becomes possible to elucidate the pathophysiology of HFpEF. It has been suggested that there may be differences in the onset of HFpEF depending on gender difference and aging.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心不全 拡張不全 治療法 性差 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心不全はあらゆる心血管疾患の終末像である。患者は息切れや呼吸困難などの症状により日常生活での行動が制限されるだけでなく、心不全悪化による入退院を繰り返すことが多い。心不全症例の約半数は、左室収縮能を示す左室駆出率 (LVEF) が保たれた拡張不全 (HFpEF) であることがわかってきた (図 1)。拡張不全の併存疾患として、最も多いのは高血圧症であり、他に心房細動、冠動脈疾患、糖尿病、脂質異常症などがあげられる。拡張不全の予後は LVEF が低下した従来の収縮不全 (HFrEF) と同様に不良であるが、収縮不全とは異なり拡張不全には生命予後改善効果のエビデンスを有する治療法は現時点で存在しない。収縮不全は男性に多いが、拡張不全は女性に多いという興味深い特徴もある。また拡張不全患者は高齢者に多いため、超高齢社会を迎えたわが国において患者数は今後さらに増加すると予測される。拡張不全患者の心臓死や心不全による入院などの心血管イベントの発生率は性別や年齢で異なることが知られている (Duca F, et al. *Sci Rep.* 2018; Dewan P, et al. *Circ Heart Fail.* 2019; Tromp J, et al. *J Am Coll Cardiol.* 2019)。大規模臨床試験の結果でも、拡張不全に対する薬物治療の効果は男女間で異なることが報告されている (McMurray JJ, et al. *Circulation.* 2020)。これらの理由を臨床研究のみから解明することは困難である。基礎研究で確立された疾患モデルマウスを用いて、性差や加齢などの視点から多角的にアプローチすることで、拡張不全の新たな病態解明が可能となる。

2019 年に Schiattarella らは拡張不全モデルマウスの作製に成功した (Schiattarella G, et al. *Nature.* 2019)。このマウスでは心筋細胞の小胞体 (ER) ストレスに対する応答反応が障害されていた。最近、糖尿病治療で用いられる dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) 阻害薬が拡張不全を抑制するという動物実験結果が報告されたが、機序に関して詳細は不明であった。DPP-4 阻害薬で発現量が増加する DPP-4 基質の GLP-1 が神経変性疾患 (パーキンソン病、アルツハイマー病など) や糖尿病における ER ストレスを抑制するという報告は数多くある。申請者らは、これまで収縮不全と DPP-4 に関する研究成果を複数報告してきた。DPP-4 阻害薬などによる ER ストレス調節が、拡張不全に対しどのような効果を及ぼすか検討することで、拡張不全の新規治療法の探索につながる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、拡張不全モデルマウスを用いて、ヒトで報告されている性別や年齢による臨床経過や治療反応性の違いについて分子レベルで解明することである。拡張不全に関する臨床での疑問点を基礎研究により解明することは、拡張不全の病態解明だけでなく新たな治療法や診断バイオマーカーの探索にもつながる。新規の拡張不全モデルマウスを用いて、性差や加齢などの視点から多角的アプローチにより病態を解明する研究は、国内外でもまだ進んでいないことから学術的独自性の高い研究と考えられる。

本研究により、これまで十分な病態解明が進まなかった拡張不全に関する基礎および臨床研究が、飛躍的に発展すると期待される。病態解明により創薬標的分子が同定できれば、拡張不全に対する新

規治療薬の探索につながる。あるいは、すでに他疾患の治療薬として使用されている既存薬や上市に至らず開発中止となった薬剤から、拡張不全に効果のある薬剤を見つけ出すドラッグ・リポジショニングにより、比較的早期から使用可能な治療薬を発見できる可能性もある。超高齢社会を迎え拡張不全の患者数が増加することから、有効な治療薬の開発で心不全悪化による入院が抑制できれば、その医療経済効果は多大なものとなる。さらに、病態解明により関連シグナル経路を詳細に調べることで、これまで存在しなかった拡張不全診断のための新規バイオマーカーを開発できる可能性もある。早期診断・早期介入により拡張不全の発症や進行を抑制できる時代の到来が期待される。

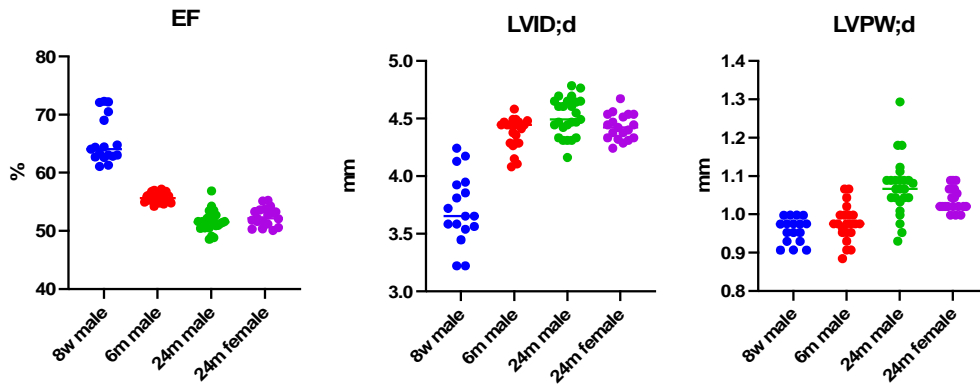
循環器疾患では、病気の発症・進行や治療に対する反応、予後などに性差が認められることは以前から報告されてきたが、その分子機序までは十分解明されていない。特に拡張不全は高齢者や女性に多いことや、治療効果に性差があることが報告されており、本研究の成果は今後の性差医学にも貢献できると考えられる。

3. 研究の方法

2019年に Schiattarella らは、代謝ストレス(高脂肪食)とメカニカルストレス(L-NAME 投与)の2つのストレスを与えることで、拡張不全モデルマウス(Two-hit HFpEF モデル)の作製に成功した(Schiattarella G, et al. *Nature*. 2019)。高脂肪食による肥満、耐糖能異常とL-NAME(NOS 阻害薬)による高血圧という拡張不全の主原因を組み合わせることで、15週後に左室駆出率が保たれた心不全(HFpEF)を呈した。このマウスでは、心筋細胞のERストレスに対する応答反応が障害されていた。申請者らはこの方法を用いて、15週で拡張不全を呈することを確認した。そこで、このTwo-hit HFpEFモデルを用いて加齢と性別が心機能に及ぼす影響を検討した。

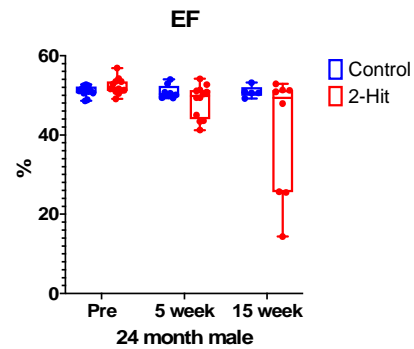
4. 研究成果

まず8週齢の雄、6ヵ月齢の雄および2歳齢の雌雄マウスの心機能を心臓超音波検査で評価した。心臓超音波検査は小動物用超音波高解像度イメージングシステム Vevo1100 システムを用いて実施した。心機能はE/A(拡張機能の指標)、左室収縮率(EF)、左室内径短縮率(FS)、心室中隔壁厚(IVSd)、左室拡張末期径(LVIDd)、左室後壁厚(LVPWd)を測定し評価した。8週齢の雄および2歳齢の雌雄マウスは左室壁厚および左室内径の増大を示した。左室収縮率は8週齢の雄マウスに比べて低下しており、2歳齢マウスの心機能に明らかな性差は認められなかった(図1)。



(図 1)

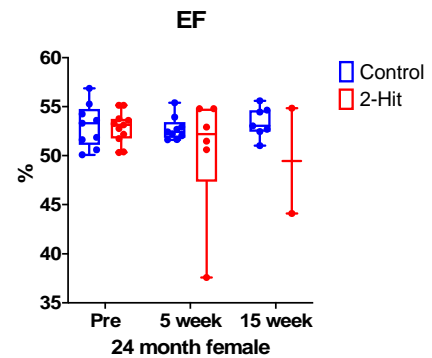
次に6ヵ月齢の雄および2歳齢の雌雄マウスを対照群と実験群に分け、15週間にわたり通常食または高脂肪食とL-NAMEを摂取させた。各年齢のC57BL/6Nマウスに対し高脂肪食は超高脂肪飼料(リサーチダイエツ社、60kcal%脂肪含有量、ラード使用)を自由摂取させた。L-NAMEは0.5g/Lを飲水に溶解し、経口投与した。実験開始5、15週時点の心機能を心臓超音波検査で評価した。



(図 2)

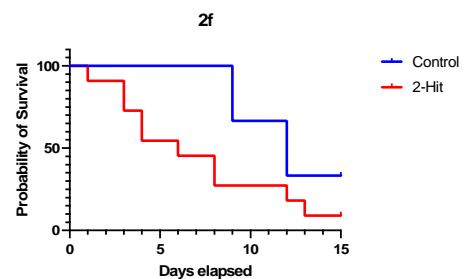
5週後、6ヵ月齢マウスはHFpEFの特徴である拡張機能障害と左室肥大を示した。これとは対照的に、2歳齢マウスの一部は左室収縮能が著しく低下していた(図2、3)。

さらに、2歳齢マウスの一部は、15週目に心不全の症状を示し、6ヵ月齢マウスよりも多様な結果を示した。特に6ヵ月齢は観察されなかった駆出率の低下を伴う心不全(HFrEF)を発症したマウスもいた。多くの高齢メスマウスは重度の心機能障害を示し死亡した(図4)。



(図 3)

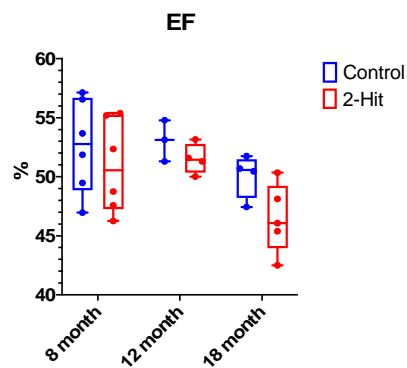
これらの結果により、"Two-hit HFpEFモデルにおいて加齢や性差により心不全の発症に大きな差が生じる可能性が示唆された。



(図 4)

次に、Two-hit HFpEF モデルに対するさらなる反応差を解析するために、8 ヶ月齢、1 歳齢および 1.5 歳齢の雄マウスに 5 週間通常食または高脂肪食と L-NAME を摂取させた後、心機能を心エコーで評価した。

8 ヶ月齢および 1 歳齢マウスは若齢マウスと同様に HFpEF の特徴である拡張機能障害と左室肥大を示した。一方、1 歳齢および 1.5 歳齢マウスにおいて一部左室収縮能が低下したことから、Two-hit HFpEF モデルに対する反応の違いは 1 歳齢を境に生じるものと考えられた (図 5)。



(図 5)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5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 Takakura Yuki, Machida Moeka, Terada Natsumi, Katsumi Yuka, Kawamura Seika, Horie Kenta, Miyauchi Maki, Ishikawa Tatsuya, Akiyama Nobuko, Seki Takao, Miyao Takahisa, Hayama Mio, Endo Rin, Ishii Hiroto, Yamaguchi Naoto, Takano Hiroyuki, Akiyama Taishin, Yamaguchi Noritaka	4. 巻 15
2. 論文標題 Mitochondrial protein C15ORF48 is a stress-independent inducer of autophagy that regulates oxidative stress and autoimmunity	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-024-45206-1	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 Takakura Yuki, Suzuki Takayuki, Hirai Naoto, Araki Takuro, Ohishi Mai, Sato Hiromi, Yamaguchi Naoto, Takano Hiroyuki, Yamaguchi Noritaka	4. 巻 669
2. 論文標題 VGLL3 confers slow-twitch muscle differentiation via PGC-1 expression in C2C12 myocytes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 30~37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2023.05.073	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hori N, Takakura Y, Sugino A, Iwasawa S, Nomizo K, Yamaguchi N, Takano H, Yamaguchi N.	4. 巻 26
2. 論文標題 Vestigial-like family member 3 stimulates cell motility by inducing high-mobility group AT-hook 2 expression in cancer cells.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Cell Mol Med.	6. 最初と最後の頁 2686-2697
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jcmm.17279	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 Kawamura T, Takehara Y, Hori N, Takakura Y, Yamaguchi N, Takano H, Yamaguchi N.	4. 巻 123
2. 論文標題 VGLL3 increases the dependency of cancer cells on de novo nucleotide synthesis through GART expression.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Cell Biochem.	6. 最初と最後の頁 1064-1076
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcb.30251	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takakura Y, Hori N, Terada N, Machida M, Yamaguchi N, Takano H, Yamaguchi N.	4. 巻 35
2. 論文標題 VGLL3 activates inflammatory responses by inducing interleukin-1 secretion.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FASEB J.	6. 最初と最後の頁 e21996
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202100679RR	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計20件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 高倉勇氣、秋山伸子、高野博之、秋山泰身、山口憲孝
2. 発表標題 中枢性免疫寛容を制御する胸腺オートファジー誘導因子の解析
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 山口憲孝、高野博之
2. 発表標題 中枢性免疫寛容を制御する胸腺オートファジー誘導機構の解析
3. 学会等名 第97回日本薬理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高倉勇氣、秋山伸子、高野博之、秋山泰身、山口憲孝
2. 発表標題 胸腺上皮細胞の恒常的なオートファジー誘導因子の同定
3. 学会等名 日本生化学会関東支部例会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hagiwara K, Ishii T, Takano H, Manabe I
2. 発表標題 Identification of a transcription factor network in macrophages in tissue remodeling
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting & Courses Program (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hagiwara K, Ishii T, Takano H, Manabe I
2. 発表標題 Aging engances tissue remodeling-associated gene expression in macrophages
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting & Courses Program (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kim H, Kudo F, Takano H, Manabe I
2. 発表標題 Different responses to the two-hit model of HFpEF by age and gender
3. 学会等名 Keystone Symposia Conference (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金里恵、高橋陸、原田紀歩、工藤藤美、高野博之、真鍋一郎
2. 発表標題 Depressive stress induces heart failure through hematoimmune system
3. 学会等名 第6回日本循環器学会基礎研究フォーラム (BCVR)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hirose M, Yamaguchi N, Kobayashi Y, Takano H
2. 発表標題 Protective effect of GLP-1 on cardiac fibrosis in heart failure
3. 学会等名 第39回国際心臓研究会 (ISHR) 日本部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堀直人、鈴木孝行、荒木拓郎、石川千夏、南須原杏律、高野博之、山口憲孝
2. 発表標題 転写因子Teadの調節分子Vgll3による遅筋誘導
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高倉勇気、高野博之、山口憲孝
2. 発表標題 NF- κ B依存的オートファジー誘導因子による細胞増殖
3. 学会等名 2022年度日本生化学会関東支部例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堀直人、鈴木孝行、荒木拓郎、石川千夏、南須原杏律、高野博之、山口憲孝
2. 発表標題 転写因子Teadの調節分子による遅筋と速筋の分化制御
3. 学会等名 2022年度日本生化学会関東支部例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 秋原健太、石井貴浩、高野博之、真鍋一郎
2. 発表標題 老化に伴うマクロファージにおける組織リモデリング関連遺伝子発現の活性化を司る転写因子ネットワークの機能解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hirose A, Yamaguchi N, Takano H, Kobayashi Y
2. 発表標題 Anti-fibrotic signaling pathway of GLP-1 in heart failure
3. 学会等名 第87回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金恵理、原田紀歩、工藤藤美、高野博之、真鍋一郎
2. 発表標題 駆出率の維持された心不全（HFpEF）モデルに対する加齢と性別による反応の相違
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高倉勇氣、高野博之、山口憲孝
2. 発表標題 新規NF- κ B標的遺伝子による飢餓非依存的オートファジーの誘導メカニズムと機能解明
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 廣瀬雅教、山口憲孝、小林欣夫、高野博之
2. 発表標題 心不全におけるDPP-4阻害薬の心臓線維化抑制メカニズムに関する探索
3. 学会等名 第69回日本心臓病学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金恵理、高野博之、真鍋一郎
2. 発表標題 加齢・性差に伴う心機能の評価
3. 学会等名 第65回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秋原健太、高野博之、真鍋一郎
2. 発表標題 老化はマクロファージのTLR応答を変容させる
3. 学会等名 第65回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田上優月、高野博之、真鍋一郎
2. 発表標題 がん細胞によるマクロファージの機能制御
3. 学会等名 第65回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀直人、高倉勇氣、町田萌香、寺田菜摘、野溝航太、梶山瞭、高野博之、山口憲孝
2. 発表標題 自己免疫疾患関連因子VGLL3によるNF- B経路活性化
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021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 分担者	眞鍋 一郎 (Manabe Ichiro) (70359628)	千葉大学・大学院医学研究院・教授 (12501)	
研究 分担者	山口 憲孝 (Yamaguchi Noritaka) (80399469)	千葉大学・大学院薬学研究院・准教授 (12501)	

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