

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 13 日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790737

研究課題名（和文） 貧血合併心不全における分子機構解明と新規治療への応用

研究課題名（英文） Novel Mechanisms of Chronic Heart Failure with Anemia

研究代表者

内藤 由朗 (NAITO YOSHIRO)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：10446049

研究成果の概要（和文）：

貧血、特に鉄欠乏性貧血が心機能に及ぼす分子機構について、ノックアウトマウスを用いた基礎研究より検討した。エリスロポエチン(EPO)受容体ノックアウトマウスを用いた検討より、鉄欠乏による貧血合併心において心臓の内在性EPO-EPO受容体を介したシグナル伝達系が心保護に作用していることが示された。一方、アンジオテンシンII受容体(1a型; AT1aR)ノックアウトマウスを用いた検討では、鉄欠乏による貧血合併心において腎臓AT1aRを介したEPOが心保護に作用していることが示唆された。以上より、貧血合併心不全において腎臓AT1aR-EPO-心臓EPO受容体を介した経路が心保護に作用していることが示された。

研究成果の概要（英文）：

We revealed that angiotensin II type 1a receptor (AT1aR) and erythropoietin receptor (EpoR) signal pathways are involved in the mechanism of iron deficiency induced cardiac remodeling. Dietary iron-restricted EpoR rescued mice, which express EpoR only in the hematopoietic lineage, demonstrated anemia and systolic dysfunction, thereby inducing heart failure and decreasing a survival rate. On the other hand, AT1aR knock-out mice attenuated Epo secretion in response to iron deficiency. As a result, our data suggests that modulation of AT1aR and cardiac EpoR signaling may represent a therapeutic target for anemia-induced heart failure.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：循環器・高血圧、内科、基礎

1. 研究開始当初の背景

心不全患者は、貧血を高率に合併する。一方、貧血が心不全の発症・増悪因子になりうることはよく知られている。しかし、心不全患者における貧血の成因について、その分子機構は解明されていない。我々は、貧血と心不全が互いに増悪しあうという観点から、貧血、特に鉄欠乏性貧血が心機能に及ぼす分子機構を明らかにした (Naito Y et al. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009)。この検討から、鉄欠乏性貧血による心機能低下に対し造血ホルモンであるエリスロポエチン (EPO) が心保護的に作用し、長期間貧血が続くと心臓における EPO 受容体発現の亢進も認められ、心臓における内在性 EPO-EPO 受容体を介したシグナル伝達系が貧血合併心に重要な役割を果たしていることが示唆された。一方、アンジオテンシン II による内因性 EPO 生成促進作用が報告され、心不全治療に不可欠なレニン・アンジオテンシン系抑制薬 (RAS 抑制薬) による EPO 生成抑制が懸念される。つまり、RAS 抑制薬が心不全における貧血の増悪因子とも考えられるが、未だ科学的に解明されていない。

2. 研究の目的

本研究は、我々が発見した貧血合併心不全の分子機構において、心臓における内在性 EPO-EPO 受容体を介したシグナル伝達系が心保護に作用するのか、心不全治療に不可欠な RAS 抑制薬であるアンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) が心不全合併貧血の増悪因子なのか、などの問題をノックアウトマウスを用いた実験より検討し、患者に貢献するための研究基盤の確立を目指す。

3. 研究の方法

本研究は心不全と貧血の関係において、心臓における内在性 EPO-EPO 受容体を介したシグナル伝達系が貧血合併心に保護的に作用するのか、心不全治療に必要不可欠な RAS 抑制薬が貧血増悪に関係するのかなどの問題をノックアウトマウスを用いた実験より検討する。

(1) EPO 受容体ノックアウト (EPORO) マウスを用いた検討

EPO は赤芽球系細胞の分化と誘導を担う腎臓で産生されるサイトカインであるが、最近 EPO 受容体が、赤芽球系の細胞のみならず心臓など多くの臓器に発現していることが確認されている。赤芽球系の EPO 受容体遺伝子ノックアウトマウスは胎生致死であるが、今回検討する EPORKO マウスは、赤芽球系以外の組織 (例えば心臓) における EPO 受容体遺伝子を欠損させたマウスで生存可能である。このマウスに鉄欠乏飼料を与え、貧血、特に鉄欠乏性貧血に伴う心機能の生理的変化・心臓におけるシグナル伝達系・生命予後を解析し、貧血合併心不全における心臓の内在性 EPO-EPO 受容体の役割を検討する。

(2) アンジオテンシン II 受容体ノックアウト (ATKO) マウスを用いた検討

次に、ATKO マウスを用い「RAS 抑制薬である ARB が EPO 生成を抑制するかどうか？」を *in vivo* の系で検討する。ATKO マウスは全身臓器のアンジオテンシン II 受容体 (1a 型; AT1aR) が欠損した動物で、このマウスを用いてこれまでに多くの研究・論文発表がなされている。この動物を用いて我々がこれまでに発表してきた鉄欠乏性貧血モデルの実験を行う。つまり、これまでの研究結果からラ

ット・マウスに鉄欠乏性飼料を与え貧血を誘導することにより、EPO 生成が促進されることは確認している。そこで、ATKO マウスに鉄欠乏性貧血を誘導することにより、EPO が正常に生成されるかどうか、野生型 (WT) マウスと比較検討する。つまり、EPO 生成に AT1aR を介した経路が存在するかどうかを in vivo の系で検討する。さらに、ATKO マウス鉄欠乏性貧血モデルにおける心機能の生理的変化、心臓におけるシグナル伝達系を解析し、AT1aR を介した経路が貧血時において心機能にどのように影響するのかを検討する。

4. 研究成果

(1) EPO 受容体ノックアウト (EPORO) マウスを用いた検討

EPORKO マウスに鉄欠乏飼料を与えたところ、WT マウスと同様に鉄欠乏性貧血を認めたが、その程度に有意差は認めなかった。WT マウスに鉄欠乏飼料を長期間与えると高心拍出性心肥大を呈するが、鉄欠乏飼料を与えた EPORKO マウスは WT マウスに比べ心肥大の程度が増大していた。さらに、WT マウスに比べ左心室駆出率の低下を認め、生存率が著明に低下した。鉄欠乏飼料を与えた EPORKO マウスの心重量や肺重量は鉄欠乏飼料を与えた WT マウスに比べ増加していたことから、生存率の低下は心不全死によると考えられた。つまり、鉄欠乏による貧血合併心において心臓の内在性 EPO-EPO 受容体を介したシグナル伝達系が心保護に作用していることが示された。

(2) ATKO マウスを用いた検討

一方、ATKO マウスに鉄欠乏飼料を与えたところ、WT マウスと同程度に貧血を認めたが、血中 EPO 濃度および腎臓における EPO 遺伝子発現量は WT マウス鉄欠乏性貧血群に比べ、

ATKO マウス鉄欠乏性貧血群で低下していた (図 3)。つまり、EPO 生成に AT1aR を介した経路が存在することが in vivo の系で証明された。次に、ATKO マウス鉄欠乏性貧血群の心機能を解析したところ、高心拍出性心肥大の程度は抑制されていたが、左心室駆出率の低下を認めた。この変化より、鉄欠乏による貧血合併心において腎臓 AT1aR を介した EPO が心保護に作用していることが示唆された。以上より、心不全・貧血関連ネットワークにおいて腎臓 AT1aR-EPO-心臓 EPO 受容体を介した経路が心保護に作用していることが示された。

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 14 件)

1. Naito Y, Tsujino T, Fujimori Y, Sawada H, Akahori H, Hirotsu S, Ohyanagi M, Masuyama T. Impaired expression of duodenal iron transporters in Dahl salt-sensitive heart failure rats. *J Hypertens.* 29: 741-748; 2011. 査読有
2. Naito Y, Hirotsu S, Sawada H, Akahori H, Tsujino T, Masuyama T. Dietary iron restriction prevents hypertensive cardiovascular remodeling in dahl salt-sensitive rats. *Hypertension.* 57: 497-504; 2011. 査読有
3. Sawada H, Naito Y, Hirotsu S, Akahori H, Iwasaku T, Eguchi A, Okuhara Y, Fujii A, Ohyanagi M, Mitsuno M, Miyamoto Y, Tsujino T, Masuyama T. Involvement of bone morphogenetic protein-binding endothelial regulator

- in aortic valve stenosis. *Int J Cardiol.* 152: 107-109; 2011. 査読有
4. Yoshida C, Goda A, Naito Y, Nakaboh A, Matsumoto M, Otsuka M, Ohyanagi M, Hirotsu S, Lee-Kawabata M, Tsujino T, Masuyama T. Role of plasma aldosterone concentration in regression of left-ventricular mass following antihypertensive medication. *J Hypertens.* 29: 357-363; 2011. 査読有
 5. Wakabayashi K, Tsujino T, Naito Y, Ezumi A, Lee-Kawabata M, Nakao S, Goda A, Sakata Y, Yamamoto K, Daimon T, Masuyama T. Administration of angiotensin-converting enzyme inhibitors is associated with slow progression of mild aortic stenosis in Japanese patients. *Heart Vessels.* 26: 252-257; 2011. 査読有
 6. Akahori H, Tsujino T, Naito Y, Matsumoto M, Lee-Kawabata M, Ohyanagi M, Mitsuno M, Miyamoto Y, Daimon T, Hao H, Hirota S, Masuyama T. Intraleaflet hemorrhage is associated with rapid progression of degenerative aortic valve stenosis. *Eur Heart J.* 32: 888-896; 2011. 査読有
 7. Naito Y, Tsujino T, Akahori H, Ohyanagi M, Mitsuno M, Miyamoto Y, Hao H, Hirota S, Masuyama T. Increase in tissue and circulating pentraxin3 levels in patients with aortic valve stenosis. *Am Heart J.* 160: 685-691; 2010. 査読有
 8. Naito Y, Tsujino T, Akahori H, Matsumoto M, Ohyanagi M, Mitsuno M, Miyamoto Y, Masuyama T. Increased Serum Neopterin in Patients with Nonrheumatic Aortic Valve Stenosis. *Int J Cardiol.* 145: 360-361; 2010. 査読有
 9. Naito Y, Tsujino T, Akahori H, Ohyanagi M, Mitsuno M, Miyamoto Y, Masuyama T. Augmented cannabinoid receptors expression in human aortic valve stenosis. *Int J Cardiol.* 145: 535-537; 2010. 査読有
 10. Naito Y, Tsujino T, Wakabayashi K, Matsumoto M, Ohyanagi M, Mitsuno M, Miyamoto Y, Hao H, Hirota S, Okamura H, Masuyama T. Increased interleukin-18 expression in nonrheumatic aortic valve stenosis. *Int J Cardiol.* 144: 260-263; 2010. 査読有
 11. Tamaki H, Naito Y, Lee-Kawabata M, Taniguchi Y, Hao H, Hirota S, Hasegawa S, Masuyama T, Ogawa H. Sustained improvement in cardiac function with persistent amyloid deposition in a patient with multiple myeloma-associated cardiac amyloidosis treated with bortezomib. *Int J Hematol.* 92: 655-658; 2010. 査読有
 12. Matsumoto M, Tsujino T, Lee-Kawabata M, Naito Y, Akahori H, Sakoda T, Ohyanagi M, Tomosugi N, Masuyama T. Iron

Regulatory Hormone Hepcidin Decreases in Chronic Heart Failure Patients With Anemia. *Circ J.* 74: 301-306; 2010. 査読有

13. Matsumoto M, Tsujino T, Lee-Kawabata M, Naito Y, Sakoda T, Ohyanagi M, Masuyama T. Serum interleukin-6 and C-reactive protein are markedly elevated in acute decompensated heart failure patients with left ventricular systolic dysfunction. *Cytokine.* 49: 264-268; 2010. 査読有

〔学会発表〕(計9件)

1. 藤井 彩, 内藤由朗, 澤田 悠, 辻野 健, 佐々木尚子, 赤堀宏州, 大柳光正, 増山 理. 慢性腎臓病モデルにおける鉄の関与. 第34回日本高血圧学会総会, 栃木, 2011. 10. 20-22.
2. 澤田 悠, 内藤由朗, 辻野 健, 奥原祥貴, 江口明世, 岩破俊博, 赤堀宏州, 廣谷信一, 大柳光正, 光野正孝, 宮本裕治, 増山 理. 大動脈弁狭窄症弁組織における Bone morphogenetic protein-binding endothelial regulator (BMPER) 発現. 第59回日本心臓病学会学術集会, 神戸, 2011. 9. 23-25.
3. Naito Y, Tsujino T, Sawada H, Eguchi A, Iwasaku T, Akahori H, Hirotsani S, Ohyanagi M, Masuyama T. Altered expression of iron regulating system in heart failure model rats: a possible mechanism of anemia associated with heart failure. 第75回日本循環器学会総会・学術集会, 横浜, 2011. 8. 3-4.

〔図書〕(計4件)

1. 内藤 由朗, 増山 理. エリスロポエチン. 循環器 Circulation; 島本和明総編, 筒井裕之編: 医学出版、東京: 122-131, 2012
 2. 内藤 由朗, 増山 理. 心腎連関と貧血. Cardiovascular Frontier: メディカルレビュー社、東京: 24-29, 2012
 3. 内藤 由朗, 増山 理. 心不全における貧血. 循環器臨床サピア CKD と心血管病を理解する-診療に活かすためのステップアップ; 永井良三総編、筒井裕之編: 中山書店、東京: 179-181, 2010
6. 研究組織
(1) 研究代表者
内藤 由朗 (NAITO YOSHIRO)
兵庫医科大学・医学部・講師
研究者番号: 10446049