

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591042

研究課題名(和文)心不全における心腎連関のメカニズム - 機能的腎予備力評価からのアプローチ -

研究課題名(英文)The mechanism of cardio-renal interaction in heart failure-the approach from functional renal reserve-

研究代表者

真野 敏昭 (MANO, Toshiaki)

大阪大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90379165

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：心不全における腎機能障害は重要な予後規定因子であるが、腎機能障害が心不全の病態にどのような影響を持っているかについては不明な点が多い。本研究では、心不全のうち特に拡張不全患者における機能的腎予備力評価を、腎血流ドプラを用いた生理学的指標、探索的研究による生化学的代謝指標を用いて行い、腎動脈抵抗が拡張不全患者で増加しており、また特異的な免疫因子の拡張不全患者血中での増加が認められ、心機能と関連があることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Decreased renal function is an independent risk for cardiovascular adverse outcomes in patients with heart failure. However, the impact of renal function, especially functional renal reserve on the pathophysiology of heart failure remains unknown. This study clarified that intrarenal vascular resistance as a physiological parameter of functional renal reserve plays an important role in the development of heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) and the existence of a cytokine specific for HFpEF and diastolic dysfunction from comprehensive screening.

研究分野：循環器内科学

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：心腎連関 腎予備力 心不全

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 心臓と腎臓は密接に関連しており、近年、心腎連関として注目されている。しかし、心不全において腎機能障害が起こる機序、また腎機能障害が心不全の病態にどのような影響を持っているかについては不明な点も多く、リスク評価法、治療法も確立されていない。我々のグループは心不全の約 40% を占め、高齢化社会において大きな問題となると考えられている左室駆出率が保たれた心不全 (HFPEF) において、腎機能低下に依りて、心不全発症率が高まることを報告している。心不全、とくに HFPEF は急速な血圧上昇、腎血流の変化、または著明なナトリウム負荷などの負荷が腎臓にもかかる状態である。このような負荷に対する腎臓予備力がどのようになっているかは、血清クレアチニンとそれに基づいて計算される eGFR では全く知ることができない。よって、心不全における腎機能障害の指標を求めようとする場合は、この機能的腎予備力を判定する指標が必要となる。

(2) 生理的指標として、以前より我々は、腎血流ドプラに注目している。腎血流ドプラは特定の部位の血管の流速の時間的変化を求める手法である。Color Doppler 法で血流シグナルを観察しながら sample volume の位置を決めることによって、腎臓内の任意の血管血流速度の時間的変化パターンを real time で求めることができる。健常人の腎動脈血流速度パターンは収縮期に急峻に立ち上がり、ピークに到達したあと徐々に傾きを緩めながら速度は減衰していくが、拡張末期でも前向きに流れ続ける。このパターンを resistance index (RI) = (最大収縮期血流速度 - 拡張末期血流速度) / 収縮末期血流速度 として数量化することが可能であり、この RI は臨床上、血管抵抗の指標として用いられている。腎血管抵抗が高い症例は、血圧の急激な上昇、食塩負荷のような状況で心不全発症につながりやすいと考えられる。また腎予備力が低下すると、代謝産物には早期から影響が出ると考えられる。しかし、その代謝産物とは多様であり、効率よく探索することは困難であった。近年、代謝中間体、ホルモン、シグナル分子、二次代謝産物などを含む生体中の小分子の濃度を網羅的かつ定量的に評価するメタボローム解析、あるいは一度に多くのタンパク質の濃度を網羅的かつ定量的に評価するビーズサスペンションアレイ法などを用いることで、多くの物質の血中あるいは組織中の濃度を短時間で評価することが可能となり、これまで着目していなかった物質の病態への関与を見出すことができる。

## 2. 研究の目的

(1) 心不全患者において腎血流ドプラの RI を用いることにより、安静時でも腎臓機能の予備力につながる血管の硬さを評価することができ、心不全発症リスク予想につながるかどうかを明らかにする。

(2) 高血圧性うつ血性心不全モデル動物、心不全患者の試料において有意に濃度の低下あるいは上昇が認められる小分子やタンパク質を探索し、その中から、腎臓にて代謝される物質の正常、心不全での変化を検討し、これらの生理的意義から診断あるいは治療への応用を目指す。

## 3. 研究の方法

(1) 腎血流ドプラを用いた生理学的腎予備力評価としての RI 値の有用性について、臨床研究を行い、観察研究として心不全症例において関連性をみた。対象は外来通院中で心エコー検査を施行した連続症例。心不全症状・心不全の既往のない、eGFR 15 ~ 59 ml/min/1.73m<sup>2</sup> (CKD stage 2 ~ 4) の患者群 (CKD 群) と Framingham Heart Study の心不全診断基準を満たし、心不全での入院歴がある患者群 (心不全群 eGFR 15 ~ 59 ml/min/1.73m<sup>2</sup>) (さらに左室収縮力低下の有無により HFPEF、HEREF の 2 群に分類) において比較検討を行った。要因として腎エコーによる腎機能障害の程度、アウトカム変数は腎エコーによる腎機能指標 (RI)、説明変数として年齢、性別、身長、体重 (BMI) 心エコーデータ (LVDd/Ds, IVSd/s, LVPWd/s, EF, TMF (E, A, E/A, DT), TDI (E', A', E/E', S')) 採血データ (BNP、血清 Cr (eGFR に換算)) 内服薬 (利尿剤、降圧剤の有無・用量) を用いた検討を行った。

(2) 我々が開発した HFPEF 動物モデルである、6 週齢より高食塩食を与えるダール食塩感受性ラットを用いた。心室線維化や心筋細胞肥大、拡張機能障害を有し、かつ左室拡大や左室駆出率低下を認めず、HFPEF 患者に認められる主要な特徴を有している。対照は正常食で飼育したダール食塩感受性ラットを用いた。ラット HFPEF モデル動物の血液、尿サンプルを用いたメタボローム解析を行った。メタボローム解析ではキャピラリー電気泳動法 (CE) と飛行時間型質量分析法 (TOFMS) と組み合わせた CE-TOFMS 法を用いて、約 600 程度の陽イオン性代謝物質、陰イオン性代謝物質、ヌクレオチド類代謝物質の濃度測定を行った。次に濃度の変化が特異的な物質を選択し、HFPEF 病態における役割について検討した。

(3) 心不全症例 (HFPEF、HEREF)、正常対照症例の 3 群において、血液サンプルをビーズサスペンションアレイ法を用い網羅的に解析し、HFPEF 症例で特異的に発現量が変化

している物質の同定を行い、つぎに HFPEF 症例における心機能との関連について検討した。

#### 4. 研究成果

(1) 腎血流量が同等と考えられる非心不全症例と比較して、HFPEF 症例では RI が高値であり腎内血管の動脈硬化が伸展していることが示された(図1, 2)。腎内血管の動脈硬化が HFPEF の病態に関与していると考えられる。RI が高値であることは、腎動脈 elastance の予備能が低下していると考えられる。その場合、全身の血行動態の変化に伴う腎血行動態への影響が大となるため、腎予備能の低下に結びつき、心不全が容易に発症あるいは増悪する一因となっている可能性がある

HFpEF群のRI

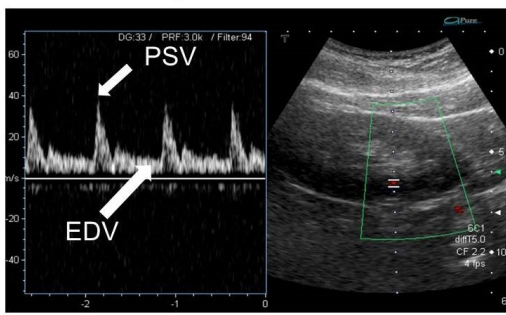


図1

RI

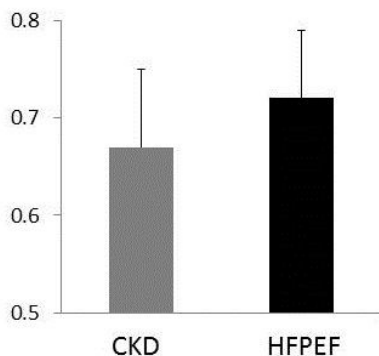


図2

(2) ラット HFPEF モデル動物の食塩負荷開始直後、代償性肥大期、心不全期の血液、尿サンプルを用いたメタボローム解析により、特異的变化を示す物質としてカルニチンを同定した(図3)。

この変化は HFPEF 患者血清でも同様であり、また HFPEF ラットの心不全期に血中および心臓中で減少しているカルニチンを補充投与することにより、心不全発症が抑制された。心臓中では線維化が抑制され、左室拡張機能のうちスティフネスの亢進が抑制されていた。このことにより血中、心臓組織中のカル

ニチン低下が HFPEF 発症に関与しており、HFPEF の新たな治療ターゲットの候補と考えられた。

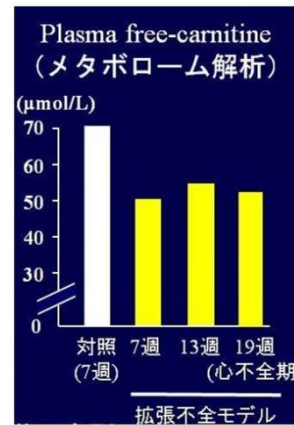


図3

(3) 心不全症例 (HFPEF、HEREF)、正常対照症例の3群の血液サンプルの網羅的解析から HFPEF に特異的に増加している因子として IL-16 を特定した(図4)。IL-16 高値は心不全症例、HFPEF モデルラットにおける拡張機能低下と有意な相関が認められ、HFPEF 診断に有用と考えられた。このことは心臓特異的 IL16 過剰発現マウスモデルを用いた検討でも確認された。またマウス心線維化モデルにおいて IL16 中和抗体投与が心線維化を抑制し、左房拡大を抑えることから HFPEF の治療ターゲットの候補の可能性も示された。

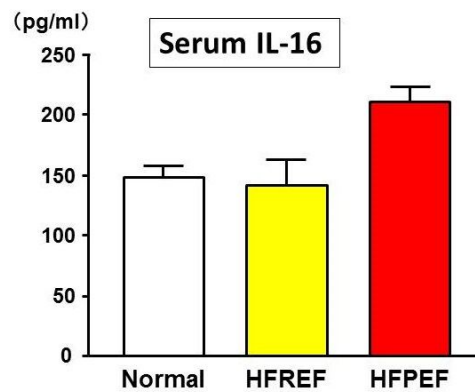


図4

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Tamaki S, Mano T, Sakata Y, Ohtani T, Takeda Y, Kamimura D, Omori Y, Tsukamoto Y, Ikeya Y, Kawai M, Kumanogoh A, Hagihara K, Ishii R, Higashimori M, Kaneko M, Hasuwa H, Miwa T, Yamamoto K, Komuro I. Interleukin-16 promotes cardiac fibrosis and myocardial stiffening in heart failure with preserved ejection fraction.

PlosOne. 2013;8:e68893、査読有  
doi:10.1371/journal.pone.0068893

Omori Y, Ohtani T, Sakata Y, Mano T,  
Takeda Y, Tamaki S, Tsukamoto Y,  
Kamimura D, Aizawa Y, Miwa T,  
Komuro I, Soga T, Yamamoto K.  
L-Carnitine prevents the development of  
ventricular fibrosis and heart failure  
with preserved ejection fraction in  
hypertensive heart disease. J  
Hypertens. 2012;30:1834-44、査読有  
doi: 10.1097/HJH.0b013e3283569c5a

〔学会発表〕(計 1 件)

真野敏昭、玉置俊介 Interleukin-16 is  
associated with diastolic dysfunction,  
promotes cardiac fibrosis and accelerates  
myocardial stiffening in heart failure  
with preserved ejection fraction  
日本心不全学会学術集会、2013年11月 大  
宮

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：拡張性心不全を治療、診断するた  
めの組成物およびその利用

発明者：真野敏昭 坂田泰史 玉置俊介 萩  
原圭祐

権利者：同上

種類：特許

番号：特許出願 2013-018992

出願年月日：2014年1月17日

国内外の別：国際

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

真野 敏昭 (MANO, Toshiaki)

大阪大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90379165

### (2) 研究分担者

坂田 泰史 (SAKATA, Yasushi)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00397671

山本 一博 (YAMAMOTO, Kazuhiro)

鳥取大学・医学系研究科・教授

研究者番号：90303966