

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 1 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591094

研究課題名(和文) インスリン・シグナルを標的とした心不全エネルギー代謝異常治療法の開発

研究課題名(英文) Insulin signaling as a therapeutic target of heart failure

研究代表者

塩井 哲雄(Shioi, Tetsuo)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：50360095

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：心不全は心臓、および骨格筋などの非心臓組織の代謝の変化を伴う。本研究課題においては、ダールラット心不全モデルに対する分岐鎖アミノ酸の効果を検討した。分岐鎖アミノ酸は心不全による死亡を抑制し、体重減少を予防し、心機能を改善した。心不全を呈したラットでは骨格筋においてミトコンドリア機能関連遺伝子の発現低下が見られたが、分岐鎖アミノ酸投与によりその減少は軽減していた。以上により、分岐鎖アミノ酸投与が心不全の治療法となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Heart failure (HF) is associated with changes in energy metabolism of the heart, as well as in extra-cardiac organs such as skeletal muscles. We tested the hypothesis that BCAA ameliorate HF. We used Dahl salt-sensitive (DS) rats fed a high-salt diet as a model of HF. In HF rats, BCAA treatment decreased the heart rate, preserved the cardiac function, and prolonged survival. BCAA also prevented body weight loss, associated with preservation of the skeletal muscle weight. Moreover, the decrease of gene expression related to mitochondrial biogenesis and function was prevented by BCAA in skeletal muscles. In conclusion, BCAA ameliorated HF in a rat model.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心不全 インスリン ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

(1) 心不全は典型的な加齢関連疾患であり人口の高齢化に伴いその患者数が増加している。心不全に伴い心臓のエネルギー代謝は劇的に変化する。ミトコンドリアは心臓において主にエネルギー産生を行う細胞内小器官である。心不全に伴うエネルギー代謝の変化の中でも、ミトコンドリア異常は中心的な役割を果たすと考えられ、その異常がおこるメカニズムの解明は心不全の病態解明と治療法開発を目指す上で極めて重要である。

(2) 申請者はダールラット高血圧性心不全モデルを用いて、心肥大はあるが心機能は保たれている時期(心肥大期)と非代償性の心不全を発症した時期(心不全期)において、心筋代謝の変化を検討した。心肥大から心不全への移行に伴い、MR スペクトロスコピー(MRS)にて測定したクレアチニン酸(PCr)は減少し、脂肪酸取り込みが低下し糖取り込みは増加した。この研究では、心肥大期に、心臓のミトコンドリアの数や機能を調節する遺伝子の発現は変化していなかったが、心不全期になるとほとんどの遺伝子の発現低下がみられた。

(3) 分枝鎖アミノ酸 (branched chain amino acids, BCAA) もミトコンドリアを調節する。マウスに長期間 BCAA を投与することにより心臓と骨格筋のミトコンドリアが増加し平均寿命を延長したと報告されている。心不全時には骨格筋の減少、ファイバタイプの組成などの変化がおこり運動耐用能を低下させる原因となるが、その変化がおこる仕組みは廃用だけでは説明できずメカニズムの解明が待たれている。また、BCAA はシグナル分子として働きインスリン・シグナルの重要な構成分子である。

2. 研究の目的

インスリン・シグナルの重要な構成分子である BCAA の心不全モデルにおける効果を検討する。

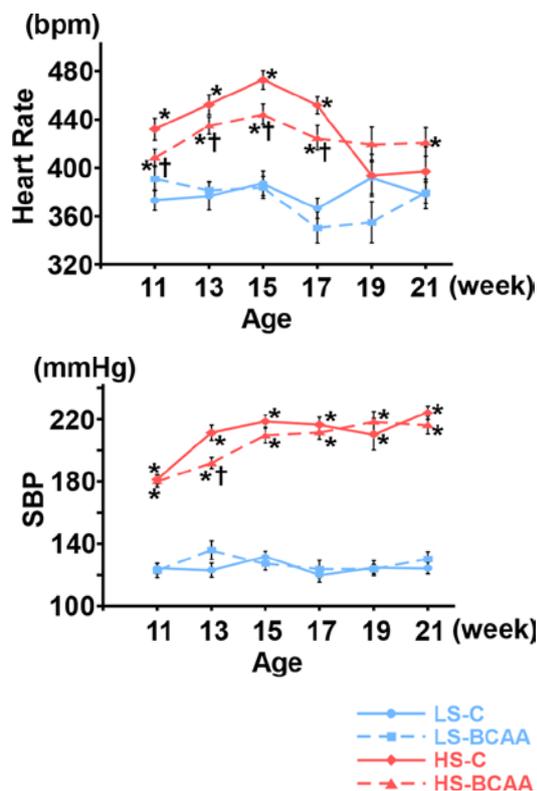
3. 研究の方法

ダール食塩感受性ラットを心不全モデルとして用いた。ダール食塩感受性ラットに高塩分食を与えると高血圧を発症し、心臓では代償性心肥大を経て心不全を発症し、心臓悪液質を伴い、動物は死亡する。低塩分食を与えたダール食塩感受性ラットを対照群とした。(実験 1) 11 週齢のダール食塩感受性ラットに BCAA を 48 時間投与し心拍数と血圧の変化を測定した。(実験 2) 代償性心肥大を呈する 11 週齢から分枝鎖アミノ酸を投与した。生存率と心機能を持続的に観察し、21 週齢においてラットを屠殺し解析した。

4. 研究成果

(1) BCAA の血行動態に与える影響

高塩分食を負荷したダールラットでは心拍数が上昇するが、実験 1 の結果、BCAA の短

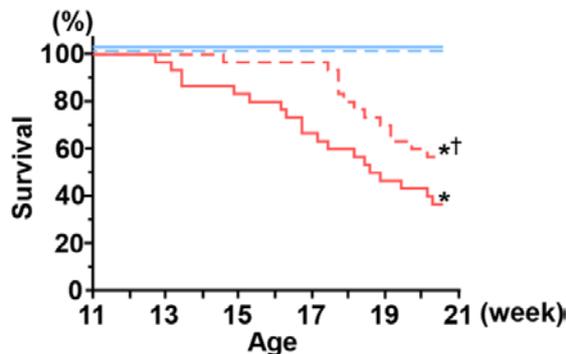


【図 1】 BCAA がダール食塩感受性ラットの心拍数と血圧に与える影響。Heart rate: 心拍数; SBP: 収縮期血圧; LS-C: 低塩分食負荷で BCAA 投与なし; LS-BCAA: 低塩分食負荷で BCAA 投与あり; HS-C: 高塩分食負荷で BCAA 投与なし; HS-BCAA: 高塩分食負荷で BCAA 投与あり。(*P<0.05 vs HS-C, †P<0.05 vs HS-BCAA)

期投与は心拍数上昇を軽減することが分かった。また、実験 2 における BCAA の長期投与においても心不全を発症していない時期において心拍数上昇を抑制した。BCAA 投与は血圧を軽度低下させる傾向にあった(図 1)。

(2) BCAA の生存率に与える影響

BCAA はダール食塩感受性ラットの生存率を改善した(図 2)

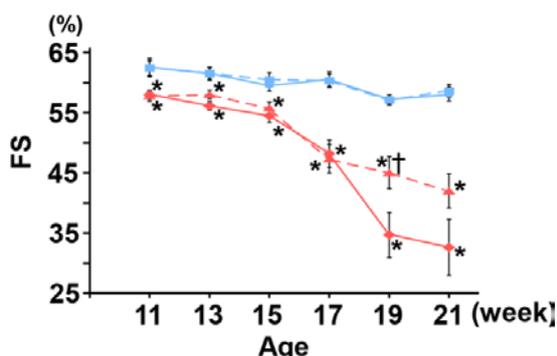


【図 2】 BCAA がダール食塩感受性ラットの生存率に与える影響。

(3) BCAA の心機能に与える影響

心臓超音波検査で観察により、BCAA がダール

食塩感受性ラットの心機能低下を有意に抑制することが分かった(図3)。またダール食塩感受性ラットでは心不全の進行に伴い体重減少が見られるが、BCAAはこの体重減少を軽減した。



【図3】BCAAがダール食塩感受性ラットの心機能に与える影響。FS (Fractional Shortening:短縮率)

(4) BCAAが心臓と骨格筋のミトコンドリア機能関連遺伝子発現に与える影響

定量的PCR法を用いて主なミトコンドリア機能関連遺伝子の発現量を定量した。心不全の発症に伴い心臓および骨格筋においてミトコンドリア機能関連遺伝子の発現低下が見られた。BCAAは骨格筋におけるミトコンドリア機能関連遺伝子の低下を軽減したが、心筋における発現に影響を与えなかった。

(5) 考察

BCAA投与は高血圧性心不全モデルの心拍数を低下させ、心機能を保持し、生存率を改善した。生存率を改善した機序の1つとして、心拍数を低下させたことが関与している可能性がある。また、BCAAは体重減少を予防し骨格筋におけるミトコンドリア機能関連遺伝子の発現量を修飾したことから、心不全に伴う悪液質を改善したことも生存率改善に寄与した可能性が考えられる。

(6) 結論

BCAAは心不全モデルにおいて血行動態と生存率を改善した。

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5件)

- ① Kawamoto A, Kato T, Minamino-Muta E, Okano Y, Shioi T, Kimura T. Relationships between nutritional status and markers of congestion in patients with pulmonary arterial hypertension. *Int J Cardiol*. 査読有、187、27-28、2015
- ② Kawamoto A, Kato T, Shioi T, Okuda J, Kawashima T, Tamaki Y, Niizuma S,

Tanada Y, Takemura G, Narazaki M, Matsuda T, Kimura T. Measurement of technetium-99m sestamibi signals in rats administered a mitochondrial uncoupler and in a rat model of heart failure. *PLoS One*. 査読有、10、e0117091、2015

- ③ Wende AR, O'Neill BT, Bugger H, Riehle C, Tuinei J, Buchanan J, Tsushima K, Wang L, Caro P, Guo A, Sloan C, Kim BJ, Wang X, Pereira RO, McCrory MA, Nye BG, Benavides GA, Darley-Usmar VM, Shioi T, Weimer BC, Abel ED. Enhanced cardiac Akt/protein kinase B signaling contributes to pathological cardiac hypertrophy in part by impairing mitochondrial function via transcriptional repression of mitochondrion-targeted nuclear genes. *Mol Cell Biol*. 査読有、35、831-846、2014
- ④ Okuda J, Niizuma S, Shioi T, Kato T, Inuzuka Y, Kawashima T, Tamaki Y, Kawamoto A, Tanada Y, Iwanaga Y, Narazaki M, Matsuda T, Adachi S, Soga T, Takemura G, Kondoh H, Kita T, Kimura T. Persistent overexpression of phosphoglycerate mutase, a glycolytic enzyme, modifies energy metabolism and reduces stress resistance of heart in mice. *PLoS One*. 査読有 8、e72173、2013
- ⑤ Tamaki Y, Iwanaga Y, Niizuma S, Kawashima T, Kato T, Inuzuka Y, Horie T, Morooka H, Takase T, Akahashi Y, Kobuke K, Ono K, Shioi T, Sheikh SP, Ambartsumian N, Lukanidin E, Koshimizu TA, Miyazaki S, Kimura T. Metastasis-associated protein, S100A4 mediates cardiac fibrosis potentially through the modulation of p53 in cardiac fibroblasts. *J Mol Cell Cardiol*. 査読有、57、72-81、2013

〔学会発表〕(計4件)

- ① Tanada Y, Shioi T, Kawamoto A, Okuda J, Kimura T. Branched-chain amino acids prevent heart failure in rats. International academy of cardiology, 19th world congress on heart disease. 2014年7月25-28日、Boston、USA
- ② Tanada Y, Shioi T, Kawamoto A, Okuda J, Kimura T. Branched-chain amino acids prevent cardiac cachexia in rats. The 7th Cachexia conference. 2013年12月9-11日、神戸
- ③ Tanada Y, Shioi T, Kawamoto A, Okuda J, Kimura T. Branched-chain amino acids ameliorate heart failure in rats. The 85th Scientific Sessions of American Heart Association. 2013年11月16-20

- 日、Dallas、USA
- ④ Okuda J, Niizuma S, Shioi T, Kato T, Inuzuka Y, Kawashima T, Tamaki Y, Kawamoto A, Tanada Y, Iwanaga Y, Narazaki M, Matsuda T, Adachi S, Soga T, Takemura G, Kondoh H, Kita T, Kimura T. Effect of persistent overexpression of phosphoglycerate mutase, a glycolytic enzyme, on energy metabolism and stress resistance of heart in mice. The 2nd HD Physiology International Symposium: Multi-Level Systems Biology. 2013年6月29日、東京

〔図書〕(計2件)

- ① 塩井哲雄、南山堂、この症状を見逃さないー戦略的循環器疾患の診かたー、全身性浮腫、2014、142-148
- ② 塩井哲雄、南山堂、この症状を見逃さないー戦略的循環器疾患の診かたー、咳嗽、2014、46-52

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://kyoto-u-cardio.jp/kisokenkyu/sinfuzen/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塩井 哲雄 (SHIOI TETSUO)

京都大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：50360095

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：