

博士論文（要約）

左室駆出率が保たれた
心不全 (HFpEF) マウスモデルに対する
SGLT2阻害薬 (カナグリフロジン) の効果の検討

齋藤 義弘

1. 背景と目的

心不全は、左室駆出率が低下した心不全 (HFrEF)、または保たれた心不全 (HFpEF) に大きく分類される。様々な薬物治療が発展したHFrEFに比べて、HFpEFは、心血管イベント改善のエビデンスが明らかな薬物治療が確立されていない。ナトリウム-グルコース共輸送体2 (SGLT2 : sodium glucose cotransporter 2) 阻害薬は、近年相次いで報告された大規模臨床試験によって心不全関連のアウトカムを大幅に改善しうる薬剤であることが明らかになった。HFrEFに続き、HFpEFにおいても大規模臨床試験により心血管死及び、心不全入院の抑制効果が明らかになりつつある。しかし、その詳細な機序は依然として不明である。

HFpEFはインスリンシグナルや糖・脂質代謝などの基質代謝の変化や他臓器との連関や合併症が複雑に関与している。一方、SGLT2阻害薬は、尿糖を出すことにより糖尿病改善のみならず様々な臓器保護効果を発現する。

本研究では、SGLT2阻害薬であるカナグリフロジン (CANA) が様々な全身の代謝機能や遺伝子発現を改善して心機能や心不全改善効果を発揮することを仮説とし、HFpEFモデルマウスの表現型解析によってその仮説を検証し、トランスクリプトーム解析を用いてその分子機序を探索することを目的とした。

2. 方法

近年、開発されたHFpEFマウスモデルを、L-NAME (N ω -nitro-L-arginine methyl ester) 投与と高脂肪食 (HFD: high fat diet) 給餌し作成した。CANA

(30mg/kg/day) を、HFpEFマウスに15日間連続経口投与した。マウスは、標準飼料摂取マウス (Chow)、HFpEFマウス (HFpEF)、CANA投与を行うHFpEFマウス (HFpEF+CANA) の3群に分けられ、各群にそれぞれ実験を行なった。表現型解析として体重、血圧、走行距離の測定、心エコー、P V loopなどの血行動態検査、血清生化学検査（脂質）、Oil red O染色、ピクロシリウスレッド染色による組織内脂肪滴の沈着および線維化の評価、RT-PCRによるmRNA発現量の評価を行った。RNA-seqによる心臓、肝臓、腎臓トランスクリプトーム解析を行った。CANA投与による発現変動遺伝子 (DEG) をiDEP、Metascapeを用いてエンリッチメント解析をした。

3. 結果

1. HFpEFマウスは、有意に体重増加と高血圧を示し走行距離が低下した。CANA投与は、体重増加と走行距離の低下を抑制したが、高血圧は抑制しなかった。

2. HFpEFマウスは、心エコーにて有意なE波、E/Aの増高を示し、心拍数依存性PV loopにおいて有意なtau (τ) の延長を示したことから弛緩障害を認めた。

EDPVRの有意な増加から左室心筋スティフネスの上昇を認め、HFpEFマウスの左室拡張障害を示した。CANA投与は、E波、E/Aの増高の抑制と、 τ の延長とEDPVRの増加の抑制を示し有意に左室拡張障害を抑制した。

3. 血清生化学検査（脂質）では、HFpEFマウスで有意な総コレステロールの

増加を認めCANA投与により総コレステロールの低下および遊離脂肪酸の有意な増加を認めた。

4. 組織学的な解析結果からHFpEFマウスは、著明な心肥大と心筋線維化を示した。CANA投与でいずれも有意に抑制した。HFpEFマウスは、肝臓、腎臓重量の著明な増加を示し、CANA投与にて有意に肝臓、腎臓重量の抑制を認めた。

5. HFpEFマウスは、著明に内蔵脂肪、皮下脂肪を増加した。Oil red O染色の結果から、異所性脂肪である心筋内の著明な脂肪滴蓄積を認めた。CANA投与によって有意な内臓脂肪、皮下脂肪の蓄積抑制を認め、SGLT2阻害薬による心筋内脂肪蓄積の減少を認めた。さらに、HFpEFマウスにおける肝臓、腎臓においても脂肪滴の増加を認めCANA投与で脂肪滴減少を示唆する所見を得た。

6. HFpEFマウスでは、左室心筋組織においてBNP、IL-6、TGF- β のmRNA発現量の有意な増加を認め、CANA投与でそれぞれ有意な増加の抑制を示した。

7. RNA-seqによる心筋トランスクリプトーム解析の結果から、CANA投与によって脂質代謝、オートファジー、飢餓反応に関わる遺伝子群がアップレギュレートし、炎症反応に関わる遺伝子群がダウンレギュレートするという結果であった。具体的なシグナル因子として、PPARシグナル (PPAR δ 、PPAR α 、PPAR γ)、mTORシグナル、AMPKシグナル、インスリンシグナル、長寿シグナル、FoxOシグナル (Foxo4、Foxo1)、オートファジー、 β 酸化などに関係する遺伝子群をアップレギュレートし、細胞接着因子、捕因子生

合成、TNFシグナル、ファゴソーム、白血球遊走などに関係する遺伝子群のダウンレギュレーションを示した。

8. 肝臓ではCANA投与がプリン体代謝シグナル、MAPKシグナル、mTORシグナル、オートファジーなどに関係する遺伝子群をアップレギュレーションし、細胞周期、細胞接着、代謝、p53シグナル、リソソーム、PPARシグナル、アポトーシスなどに関係する遺伝子群をダウンレギュレーションした。腎臓ではCANA投与がペルオキシソーム、PPARシグナル、代謝、インスリンシグナル、リソソーム、ファゴソームなどに関係する遺伝子群をアップレギュレーションし、細胞老化、細胞周期、代謝、細胞接着などに関係する遺伝子群をダウンレギュレーションした。

4. 考察

本研究では、HFpEFマウスの著明な体重増加、高血圧、走行距離の低下を示し、心エコーでE/Aの増高、および心拍数依存性PV loopにて著名な τ の延長およびEDPVRの増加により左室拡張障害を示した。組織学検査から著明な心肥大、心筋線維化を認めた。また、qPCRの結果から心不全ストレスマーカーであるBNPの上昇と、炎症マーカーの1つであるIL-6、線維化マーカーの1つであるTGF- β の上昇を認めた。以上から本実験で作成したHFpEFマウスが、HFpEFモデルマウスとしての表現型を有意に発現したことを示した。

カナグリフロジンは、HFpEFマウスの体重増加、走行距離低下を有意に抑制し、心エコーおよびPV-loopにおける拡張能パラメータの増悪を有意に抑制した。また、組織学検査において線維化、脂肪滴蓄積の著明な抑制を示した。カナグリフロジンは、BNP、IL-6、TGF- β の増加を抑制した。以上から

カナグリフロジンがHFpEFマウスの表現型の発現を有意に抑制したことを示した。特に、高血圧の抑制なく心肥大を改善した結果は注目に値する。また、CANA投与による心筋内の脂肪滴蓄積の抑制を初めて示した。これは、SGLT2阻害薬が心筋内の脂肪滴蓄積の抑制を示した初めての報告である。

CANA投与による心筋トランスクリプトーム応答の結果からカナグリフロジンが脂質代謝、オートファジー、飢餓反応に関わる遺伝子群をアップレギュレートし、炎症反応に関わる遺伝子群をダウンレギュレートする可能性が示唆された。今後は、本研究で示された個々の標的分子の検証を行っていきたい。本研究でカナグリフロジンが左室拡張能に与える影響とその機序の一部が明らかとなったことにより、有効なSGLT2阻害薬を含めた新たなHFpEF治療薬開発に繋がっていくと期待される。