

論文の内容の要旨

論文題目 心不全の病態生理においてドパミン受容体が果たす役割の解明

氏名 山口 敏弘

高齢社会の進展や生活習慣の変容に伴う虚血性心疾患の増加により、慢性心不全の患者数は年々増加している。β遮断薬やレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系拮抗薬等の内科的治療の普及により慢性心不全患者の予後は以前より改善しているものの、未だ不良である。慢性心不全患者の最大死因は心臓突然死とされ、重症心不全患者では死因の33%を占めている。心臓突然死の多くは不整脈によると考えられており、心不全患者の85%に認められる心室性頻脈性不整脈は死亡率とも相関することが知られている。心不全患者の不整脈突然死に対する治療として、植込み型除細動器の有効性が示されているが、β遮断薬やレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系拮抗薬とは異なる新たな心不全治療薬の開発が望まれている。そのためにはさらなる心不全の病態生理の解明が必要である。

私は心不全の新たな病態生理に迫るテーマとしてドパミン受容体に注目した。ドパミンはチロシンから誘導される神経伝達物質カテコラミンの一種であり、その代謝産物としてβアドレナリン受容体のリガンドであるエピネフリン・ノルエピネフリンが存在する。ドパミンは1960年代にエピネフリンやノルエピネフリンと異なる作用機序を持つ強心薬として注目されるようになり、1963年Goldbergらはドパミンのうっ血性心不全に対する治療効果について報告している。その後、ドパミンは急性心不全の血行動態や臨床症状を改善する治療薬として広く普及し、慢性心不全の予後延長効果も期待されるようになった。1980年代以降、慢性心不全患者に対するドパミンアナログ(イボパミン)の長期投与に関する臨床試験が行われた。しかし、1997年Lancet誌において同薬はむしろ生命予後を悪化させると報告された。イボパミンの臨床試験のサブ解析結果に着目してみると、生命予後の悪化の理由は心不全の増悪ではなく、突然死の増加が招いていた。同時期にβ遮断薬が慢性心不全患者の予後を改善するという報告が出てきたこともあり、以後ドパミンに注目した心不全研究は減少した。その後、β遮断薬は心不全治療薬や抗不整脈薬としての有効性が確立されていったが、ドパミン受容体拮抗薬は心疾患領域においては注目されず、その使用は薬物中毒や統合失調症患者など中枢神経・精神疾患系の領域に限られてきた。

現在、心不全の基礎研究領域では横行大動脈縮窄術(TAC)により誘導された圧負荷心不全モデルマウスを用いた研究が広く行われている。私はこの圧負荷心不全モデルマウスの心臓から抽出したmRNAの網羅的解析結果を基に、ドパミン受容体の最も主要なサブタイプであるドパミン受容体D1(マウス遺伝子名*Drd1*)に注目した。*Drd1*の発現量は正常なマウスの心臓では少ないものの、圧負荷心不全に陥ったマウスでは40倍以上に発現量が増加していた。この変化は他のカテコラミン受容体と比較しても最も大きな変化であり、心不全のマーカーとして頻用される心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)の遺伝子*Nppa*

の増加率 (49 倍) とも近似していた。

私は圧負荷心不全モデルマウスの mRNA の網羅的解析結果と過去の臨床研究の結果を基に、ドパミン受容体のシグナルを抑制することが β 遮断薬と同様に心不全や不整脈の新規治療法の開発に繋がるのではないかという仮説を立てた。

基礎研究領域におけるドパミン受容体の研究に関しては、その発現が脳基底核に最も多いことから中枢神経領域での研究が中心である。心臓に関しては心筋細胞にドパミン受容体 D1 (DIR) が存在するという報告や培養心筋細胞にドパミンを投与すると DIR を介してアポトーシスが誘導されるといった限られた報告しかなく、報告が乏しい。

そこでまず私は DIR が心臓のどの細胞種に存在しているかを明らかにするとともに、圧負荷心不全モデルマウスで DIR が再現性を以て増加するかを検証した。

ラットの培養心筋細胞と心臓線維芽細胞の mRNA の比較検討を行ったところ、*Drd1* は心筋細胞により多く発現していた。また、DIR agonist の投与実験により機能性を持った DIR が心筋細胞に発現していることが確認された。

次に細胞質膜画分を抽出して行ったイムノブロットング法による評価を行ったところ、圧負荷心不全モデルマウスにおいて蛋白レベルでも心臓 DIR の増加が再現された。さらに圧負荷心不全モデルマウスの単離心筋細胞の mRNA の評価、ドキシサイクリン制御性 DIR 発現マウスの TRE 応答配列による *Drd1* と *LacZ* の双方向性発現システムを利用した β ガラクトシダーゼ染色の評価により、圧負荷心不全時に増加している DIR も心筋細胞に由来したものであることが明らかとなった。

圧負荷心不全モデルマウスの心筋細胞において増加している DIR の役割を検証するために、心筋細胞特異的 *Drd1* ノックアウトマウスを作成した。同マウスを使用し、まず単離心筋細胞の mRNA の評価を行い、圧負荷心不全時に *Drd1* が大きく抑制されていることを確認した。次に同マウスの TAC 後の心機能を検証したが、対照群と比較して心機能に有意な差はなかった。しかし、術後の経過を引き続き観察していたところノックアウトマウス群では低心機能の個体の死亡率が低い印象であったため、不整脈死が少ないのではないかという仮説を立てた。

仮説の証明のために、鎮静下に心電図を記録したところ、対照群マウスでは心不全時の心室性不整脈が増加していたものの、ノックアウトマウスでは有意に抑制されていた。

以上の結果より、圧負荷心不全マウスではもともと発現量の少なかった DIR が心筋細胞において経時的に増加しており、心筋細胞に発現する DIR は心室性不整脈の発症に寄与していることが本研究により明らかとなった。

今後は①心筋細胞特異的 *Drd1* ノックアウトマウスの心不全時の予後の評価、② DIR 増加のメカニズムの解明、③ DIR が上昇する他のモデルマウスが存在するかについての検証が必要であり、最終的にはヒト臨床での新規治療法の開発に繋げるために④ヒト心不全で同様に DIR が増加する疾患群が存在するかについて検証していきたいと考える。