

## 181. 飢餓応答からみた心不全の代謝変化の検討と介入

加藤 貴雄

Key words : ミトコンドリア, 心不全, 悪液質, 骨格筋

\*田附興風会 医学研究所 北野病院  
第2研究部

### 緒言

心不全に伴う悪液質（低栄養状態）は、患者の生活の質の低下のみならず、易感染を惹起し肺炎を併発したり筋肉の衰えから誤嚥を引き起こす。また生命予後も悪化することが研究で知られている。心不全における全身での代謝変化の検討は十分なされているとは言えず、簡便な採血マーカーの発見や心不全患者でしばしば起きる低栄養状態の効果的な治療の実現につながる可能性がある。このような知見から、心不全は心臓と全身の飢餓応答という仮説を検証し、新たな治療戦略や検査マーカーを模索する事を着想した。そのためにうっ血と栄養状態がどのように連関するか、またエネルギー代謝の要であるミトコンドリア機能がどのように変化しているかを *in vivo* で評価する方法について検討した。

### 方法および結果

#### 1. うっ血と栄養状態の評価

うっ血がどのように栄養状態や肝臓の代謝に影響するかを明らかにする目的で、8人の安定した肺高血圧症患者において、採血・栄養指標・主観的な栄養スコア・エコーデータを検討した<sup>1)</sup>。採血は前日夜からの絶食として採血を行った。

Spearman's rank correlation tests を関連性の評価に、多変量解析で Body mass index (BMI) に関連する因子を評価した。どのような因子と互いに相関しているかを Fig. 1 に示す。BMI は、白血球数 ( $rs = 0.84, p = 0.03$ ), 空腹時インスリン濃度 ( $rs = -0.57, p = 0.03$ ) と正に相関し、aspartate aminotransferase (AST,  $rs = -0.47, p = 0.02$ ), 血清 Na 濃度 ( $rs = -0.60, p = 0.03$ ), 下大静脈径 ( $rs = -0.76, p = 0.04$ ) と反比例した。血中尿素窒素は主観的な栄養スコア SGA scores ( $rs = 0.81, p < 0.01$ ) と BNP ( $rs = 0.68, p = 0.04$ ) に正に相関し、左室拡張末期径とは反比例した ( $rs = -0.87, p < 0.01$ )。BMI は、白血球数 ( $p = 0.008$ ), 推定肺動脈圧 ( $P = 0.0008$ ), Na 濃度 ( $p = 0.001$ ), AST 値 ( $p = 0.0005$ ), 下大静脈径 ( $p = 0.0042$ ) が関連する因子であった。

\*現所属：京都大学 大学院医学研究科 循環器内科学

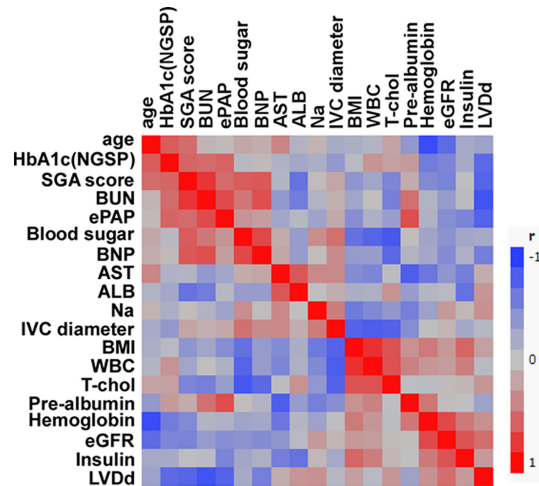


Fig. 1. Clustered correlation map of nutritional marker and parameters of echocardiography in patients with pulmonary artery hypertension.

This map showed that factors cluster more closely together based on how closely they are associated. HbA1c: haemoglobin A1c, SGA: subjective global assessment, BUN: blood urea nitrogen, ePAP: estimated pulmonary artery pressure, BNP: brain natriuretic peptides, AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase, Na: sodium, IVC: inferior vena cava, BMI: body mass index, WBC: white blood cell, T-chol: total cholesterol, eGFR: estimated glomerular filtration rate, LVDD: left ventricular diastolic dimension.

## 2. 心臓のミトコンドリア機能のモニタリング

Technetium-99m sestamibi ( $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ ) は培養細胞を用いた検討により主にミトコンドリア膜電位に依存して集積することが知られている。本研究の目的は  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  の集積が生体内におけるミトコンドリア膜電位の推定に有用であるかを検討した<sup>2)</sup>。Sprague-Dawley (SD) ラットより摘出した心臓を  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  で灌流し、さらにミトコンドリア脱共役剤 CCCP (carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone) を投与した。 $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  の集積はミトコンドリア膜電位の指標である tetramethylrhodamine ethyl ester の集積と同程度に減弱した (Fig. 2)。

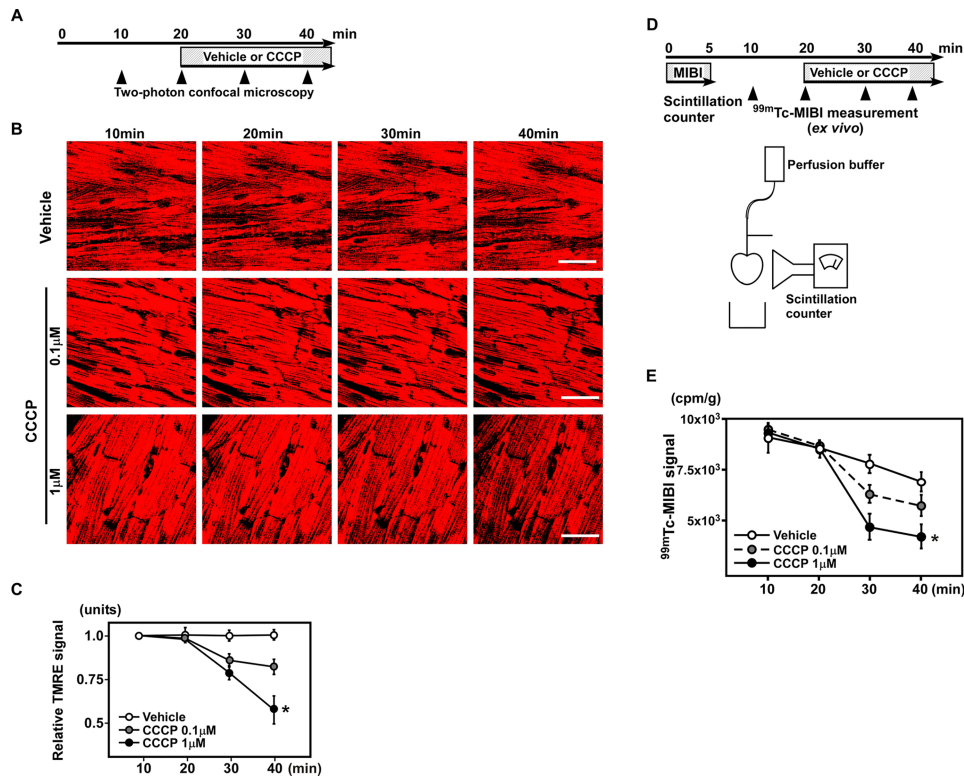


Fig. 2. CCCP decreased TMRE signals and  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI signals in *ex vivo* perfused hearts.

A) Schematic of the experiment. Hearts were perfused with TMRE, and the signals were observed using two-photon laser microscopy. The images were obtained serially from hearts perfused with buffer containing vehicle or CCCP (0.1 or 1  $\mu$  M). B) Representative images of TMRE signals. Scale bar: 50  $\mu$  m. C) CCCP decreased the TMRE signals of perfused hearts in a dose-dependent manner 20 min after CCCP perfusion (n = 3-4 per group). \*P < 0.05 versus vehicle analyzed by ANOVA. D) A schematic of the experiment.  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI signals were serially analyzed in perfused hearts. E) The signals of  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI were decreased after perfusion of the same doses of CCCP used for the TMRE experiment. (n = 3-4 per group). \*P < 0.05 versus vehicle analyzed by ANOVA.

また CCCP を腹腔内に投与 (4 mg/kg) した SD ラットでは  $^{31}\text{P}$  MR スペクトロスコピーで測定したところ、心筋内のクレアチンリン酸および ATP 量は減少し、元々心筋に集積していた心臓の  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI の保持も低下した (Fig. 3).

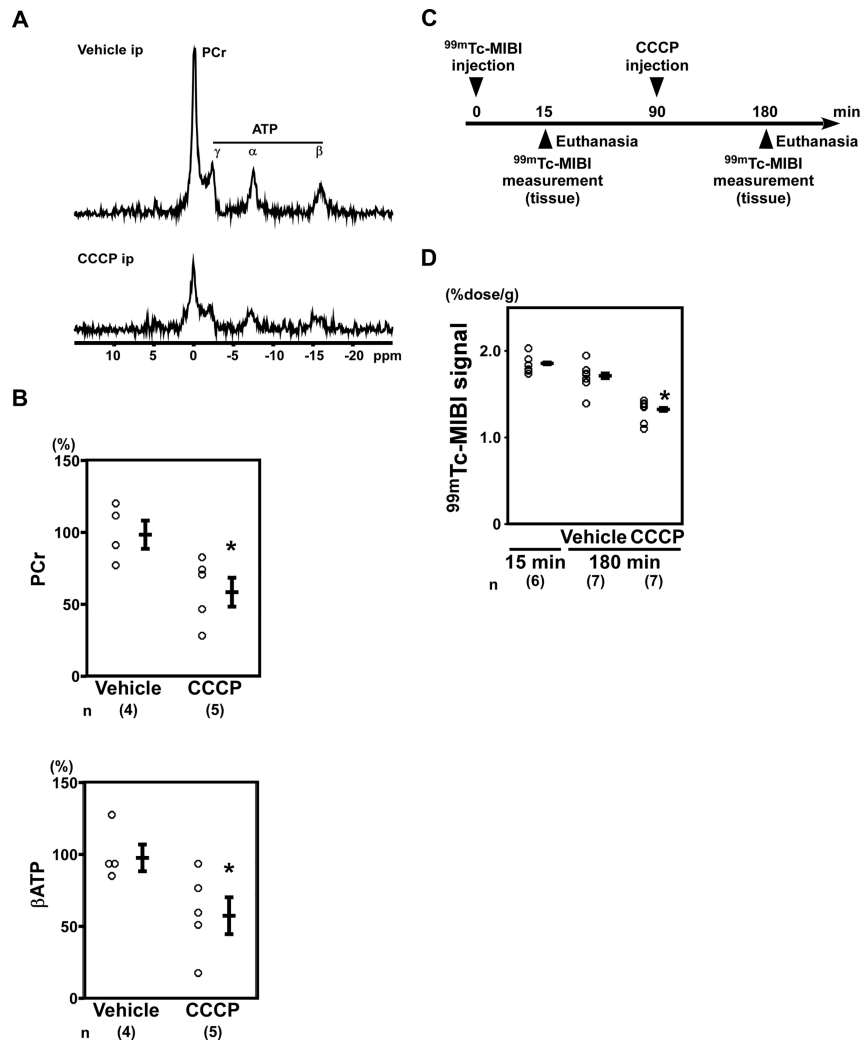


Fig. 3. Phosphocreatine and ATP were decreased and  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI signals were decreased in the hearts of rats administered CCCP.

A) Representative images of in situ cardiac  $^{31}\text{P}$  magnetic resonance spectra. ppm, parts per million. B) The rats administered CCCP showed decreased PCr and  $\beta$  ATP (Vehicle:  $n = 4$ , CCCP:  $n = 5$ ). \* $P < 0.05$  versus vehicle-administered rats analyzed by ANOVA. C) A schematic of the experiment to investigate whether CCCP decreased the  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI signals in rats. D) At 180 min after  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI injection, the  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI signals of the hearts in the CCCP group were significantly lower than those in the rats administered vehicle ( $n = 7$  in each group). \* $P < 0.05$  versus vehicle analyzed by ANOVA.

次に心不全モデルラット (Dahl 食塩感受性ラット) の生体内に  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI を投与して、心臓および肝臓における  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI の集積を測定した。  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI の心臓組織重量あたりの集積は、心臓重量 (Fig. 4) ・心房利尿ペプチド mRNA 量と反比例し、心臓の収縮能・脂肪酸酸化指標である  $^{125}\text{I}$ -15-(p-iodophenyl)-9-R,S-methylpentadecanoic acid の取り込みと正比例した。また肝臓における組織重量あたりの  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI 集積は、心筋におけるその集積より少なかった。

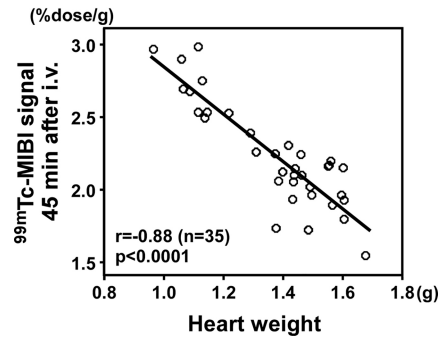


Fig. 4. Correlation between  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI signals and heart weight.

$^{99m}\text{Tc}$ -MIBI signal per gram of heart tissue 45 min after the injection was inversely correlated with heart weight ( $r = -0.88$ ,  $n = 35$ ,  $P < 0.0001$  analyzed by Spearman's rank correlation).

### 3. 心臓・骨格筋のミトコンドリア機能の心不全患者における観察

$^{99m}\text{Tc}$ -MIBI を心筋評価の検査薬として用い、通常の初期像に加えて後期像を撮影し、その差すなわち心臓からの洗い出し率を評価することでミトコンドリアの機能を評価した<sup>3)</sup>。同時に大腿筋群の洗い出し率を計測することにより、骨格筋のミトコンドリア機能を推定した。当院で慢性心不全と診断され急性悪化により入院加療を要した連続 45 例を対象に行った。検査のタイミングは急性期治療が終わり退院前の 4-5 日に行った。740 MBq (20 mCi) の  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI を安静で投与した。前日夜から絶食とし RI の投与後 20 分後に SPECT image を取った後に planar image を撮影した。後期像として 3 時間後も同様に撮影した。心臓の  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI の洗い出し率は、高値はすなわち保持が低下していることを示すが、BNP (brain natriuretic peptides) 値と正相関を認めた。また大腿の  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI の洗い出し率と相関を認めた (Fig. 5)。次に、心肺運動負荷検査が可能であった 22 例では、最大酸素消費量は大腿の  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI と相関した。また大腿径と弱い相関を認め左室収縮指標とも相関を認めた。

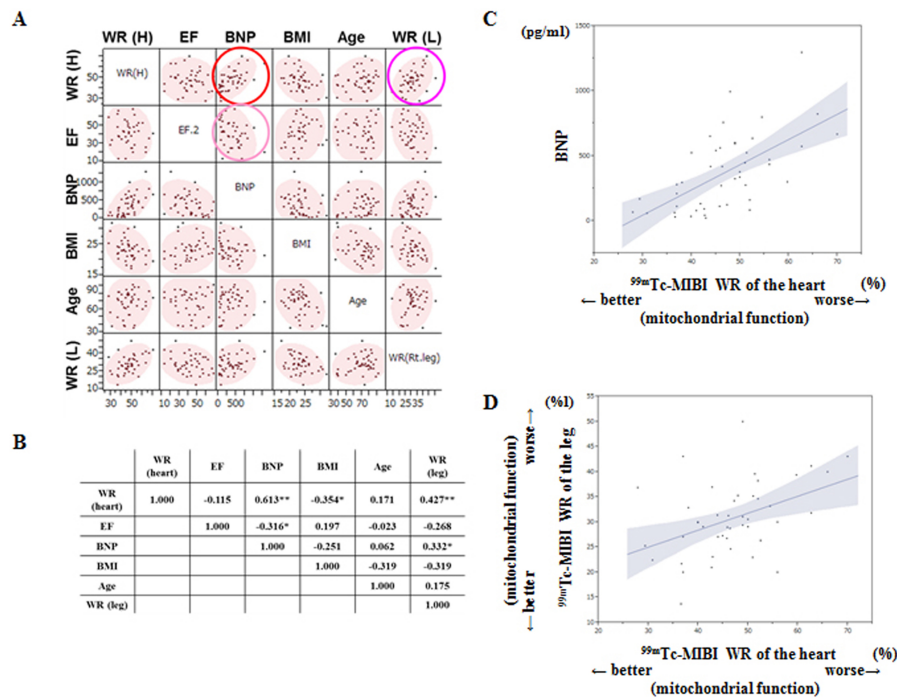


Fig. 5. Association between the MIBI washout rate of the heart and leg muscles.

A) Multiple scatter plots of the variables. A red circle focused in panel C. A purple circle focused in panel D. A pink circle indicated the relationship between  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  washout rate of the heart and left ventricular ejection fraction. B) Pearson's correlation coefficient. C) BNP levels and  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  washout rate of the heart and D)  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  washout rate of the heart and leg muscles. Line, linear correlation with standard deviation.

## 考 察

本研究は、肺高血圧の程度と栄養指標および体重が負に相関すること、 $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ の保持がミトコンドリア機能推定に役立つ心不全ラットにおいてミトコンドリア機能障害を認めること、 $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ の洗い出し率を用いて心不全患者においてミトコンドリア機能障害と、BNP値とが正の相関を示しかつ骨格筋のミトコンドリア機能と相関することを明らかにした。この研究は、多臓器にわたる栄養状態の連関とエネルギー状態の連関を明らかにし、 $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ がミトコンドリア機能の一種のマーカであり、運動療法などで介入しうる可能性が示唆された。

## 共同研究者

本研究の共同研究者は、京都大学大学院医学研究科の塩井哲雄、河本章、棚田洋平、牟田恵理、公益財団法人田附興風会医学研究所北野病院心臓センターの中根英策、宮本昌一、和泉俊明、春名徹也、猪子森明、野原隆司である。最後に、本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

## 文 献

- 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.*, **187** : 27-28, 2015.
- 2) Kawamoto, A., Kato, T., Shioi, T., Okuda, J., Kawashima, T., Tamaki, Y., Niizuma, S., Tanada, Y., 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*, **10** : e0117091, 2015.

- 3) Kato, T., Nakane, E., Funasako, M., Miyamoto, S., Izumi, T., Haruna, T., Nohara, R. & Inoko, M. : A potential linkage between mitochondrial function of the heart and leg muscles in patients with heart failure. *Int. J. Cardiol.*, **188** : 67-69, 2015.