

慢性心不全の薬物治療法の開発に向けて



研究ノート

東 純一*, 伊藤崇志, 松田貴久, 南畝晋平, 高谷朋夏

Key Words : The research toward development of therapy of chronic heart failure

心血管疾患は日本人の死因の第2位であり、特に心不全は欧米では5年生存率50%以下ときわめて生命予後が悪く、また高齢化社会を迎えたわが国にとってその治療法の開発は重大な課題である。現在の最先端高度医療、心移植をもってしても限界がある。最近では、ヒトのES細胞から効率よく心筋細胞に育て、心筋梗塞などの患部に移植して心機能を回復させる治療法に期待が寄せられているが、広く心不全の治療法として確立するには乗り越えるべき障壁が高い。

交感神経β遮断薬は、心不全治療薬としての地位を確立し、ACE阻害薬とならび第一選択薬となりつつある。β遮断薬は、その陰性変力作用から、従来、不全心の機能を悪化させると考えられ、心不全の禁忌薬とされていた。しかし、慎重にβ遮断薬を投与することにより、50~70%の症例において心機能および生命予後をも改善することが明らかになった。しかし現在、β遮断薬の問題点として、心機能の改善しない例では心不全を悪化させる可能性、さらに効果判定までに数ヶ月の月日を要し、その間、投与継続の可否の判断ができないことが指摘されている。

我々は約20年前に、慢性心不全患者への含硫アミノ酸タウリン投与による心不全症状の改善、臨床応用への可能性を報告した。現在、わが国では心不全治療薬として薬価収載されているが、汎用されるに

は至っていない。一方、動物実験において、種々の心筋症モデルでタウリンの効果を検討し、その有効性を報告した。さらに、心筋組織におけるタウリンの効果に着目し、カルシウムハンドリングの恒常性に寄与することから「カルシウムモデュレーター」として位置づけ、虚血傷害、アポトーシス、各種心筋障害モデルに対する心保護効果を報告してきた。

本稿では、4人の大学院生のテーマである心不全をとりあげ、タウリン(伊藤崇志、高谷朋夏)、培養心筋細胞(松田貴久)、β遮断薬の個別化適正医療(南畝晋平)について概説する。

タウリンについて：

含硫アミノ酸タウリン(2-アミノエチルスルホン酸)は、全身に広く分布し、また多くの健康ドリンク剤に含有されているので一般にも馴染みがあると思われる。生理作用として浸透圧調節作用、細胞膜安定化、神経伝達調節などが知られ、病態との関連では心疾患や肝機能異常、動脈硬化、疲労など幅広い領域で研究されている。特に心臓に高濃度に存在し、タウリン生合成能の低いネコをタウリン欠乏食で飼育すると、心筋タウリン量の低下に伴い心筋症が発症する。最近ではキャットフードにタウリンが添加されている。また興味深いことに、心筋タウリン量は心不全時に上昇することが知られ、ストレスに応じてタウリン量を調節する経路の存在が示唆されていた。この調節機構として、タウリンの細胞内への輸送を担うタウリントランスポーター(以下、TauT)の重要性を報告した。さらに、タウリン欠乏による不全心筋形成の要因の探索及び心筋タウリン量の調節機構の解明を目的とし、TauT欠損(TauT KO)マウスを作製した。ちなみに「ネコ」が天敵である「ネズミ」は全身タウリン含量の極めて多い動物である。



* Junichi AZUMA
1945年5月生
1971年大阪大学 医学部 卒業
現在、大阪大学大学院薬学研究所・
(兼)大阪大学大学院医学系研究科・
応用医療薬科学専攻・医療薬物科学
講座・臨床薬効解析学分野、教授、
臨床ゲノム薬理学、循環器内科学
TEL 06-6879-8258
FAX 06-6879-8259
E-Mail azuma@phs.osaka-u.ac.jp

タウリン・トランスポーター欠損マウス：

TauT KOマウスはメンデルの法則に従って生まれたことから、致死的障害には関与しないことが示された。測定したすべての臓器でタウリン含量の著しい低下が認められ、心臓においては検出限界以下にまで低下した。心筋の組織学的解析から、KOマウスの心室壁の被薄化・左心室内腔の拡張が認められた。さらに心筋組織から抽出したRNAを用いてNorthern blotを行った結果、心不全マーカーであるartrial natriuretic peptide (ANP)、brain natriuretic peptide (BNP)の発現亢進を認めた。以上、TauTが心筋におけるタウリンの高濃度維持に、また心筋の恒常性維持にもタウリンが必須であることを確認した。心筋中のタウリン含量減少が心不全のリスクとなることが示唆され、現在、このマウスにおける心筋症発症のメカニズムの解明を目的に検討を進めている。

心筋アポトーシスとタウリン：

心不全の代表的な基礎病態として虚血性心疾患がある。急性虚血心では、心筋細胞死が起こり、収縮能低下や器質的障害が起こり、心不全へと進行する。1995年頃、心不全の発症と進行に心筋細胞アポトーシスが関与することが明らかにされた。そこで虚血心筋誘発アポトーシスに対するタウリンの防御機序に関する解析を行った。まず、培養心筋細胞密封虚血モデルで誘発された心筋細胞アポトーシスは、ミトコンドリア経路を介するもので虚血誘発アポトーシスの解析モデルとして有用であることを示した。次いで、虚血心筋におけるタウリンの抗アポトーシス効果発現機序に、Apaf-1/Caspase-9 apoptosome形成抑制が関与していること、さらに、タウリンの抗アポトーシス作用はAkt生存シグナル経路に依存し、その効果発現機序としてAktの活性化を介したCaspase-9活性抑制が関与することを明らかにした。これまでのタウリン研究は、現象論的な報告がほとんどであったが、ここに初めて、分子生物学的にタウリンの作用発現機序を解明し、アポトーシス抑制による心筋細胞保護という新規な治療法の可能性を示した。

心不全と心筋細胞の構造異常：

心不全進展の原因には不明な点が多いが、心筋細胞の配列構造の異常や介在板とよばれる特殊な心筋の細胞間構造の異常に着目し、新たな知見を得た。心筋細胞介在板で機能するConnexin (Cx)43は、心筋細胞の協調した興奮・収縮にとって重要な役割を果たしている。心不全の発症・進展過程では、このCx43が介在板から細胞膜全体に分散する分布異常が起こり、心不全の悪化につながる。従って、Cx43の細胞内局在を決定する制御機構の解明は重要な課題である。我々は、メカニカルストレスであるストレッチ刺激にさらされたin vitro培養心筋細胞では、成熟動物の心筋細胞に類似した配列構造が形成されることを見出した。この細胞の長軸先端部には、Cx43やN-cadherin (Nc)が局在し、介在板構造が見られる。そこで本モデルを用いCx43局在制御機構メカニズムに関する検討を試みた。まず、アデノウイルスベクター(Ad)により細胞にDominant Negative(DN)Ncを導入したところ、Cx43は局在することなく細胞周囲に分散し、NcシグナルがCx43の局在に関与する事が示唆された。

MDCK細胞等ではカドヘリンがRho familyタンパクを活性化させる。心筋細胞ではNc下流シグナルの詳細は不明であるが、このRho family分子(RhoA, Rac1及びCdc42)が心筋細胞においてもNcの下流シグナルとして機能しているとの仮説をたて、Cx43局在過程のRho family分子活性について検討した。その結果、Cx43局在過程ではRhoA及びRac1の活性が上昇し、これらの活性はDN Ncの導入により阻害された。そこで、Rho family分子の活性阻害効果について検討するため、全てのRho familyの活性化を阻害するRho GDIのAdを作製した。Rho GDIを導入すると、Nc局在には影響しなかったが、Cx43局在が阻害された。すなわち心筋細胞の介在板へのCx43局在はNc/Rho経路によって制御されることが示唆され、心不全に対する新しい創薬ターゲットの可能性を示すものである。

心不全治療における β 遮断薬の意義：

慢性心不全の主因のひとつに拡張型心筋症がある。心拍出量の低下とそれに反応して活性化される神経体液因子による心筋リモデリング、その結果生じる

さらなる心拍出量低下という悪循環により、進行性に心機能が低下する。心不全から死にいたる疾患で、心移植の適応となる。近年、カテコラミンが悪循環の増悪因子として患者の予後を左右することが明らかになり、その受容体であるアドレナリン β 受容体に対する遮断薬が心不全の進行を抑制し、入院頻度の減少、死亡率の低下をもたらすことが示された。しかし、 β 遮断薬療法に関する未解決の問題も多く、 β 遮断薬療法に対し明らかにレスポンド、ノンレスポンドが存在し、ノンレスポンドへの β 遮断薬投与は心不全を増悪させる危険性が高いこと、さらに維持量が症例により著しく異なることから、現時点では処方設計に指標がない。そこで、慢性心不全における β 遮断薬療法の個別化適正医療の実現のため、薬物標的遺伝子の遺伝子多型(集団のなかで1%以上の頻度で存在する遺伝子変異のこと)判定によるレスポンド選定(質の適正化)と β 遮断薬の代謝酵素の多型判定に基づく投与量設定(量の適正化)を目的とする、「薬効ゲノム情報」に基づく β 遮断薬反応性の予測を試みた。

遺伝子多型とレスポンド：

まず、 β 遮断薬への応答性の個人差を検討する基盤研究として、心不全患者におけるアドレナリン受容体(AR)の5つの遺伝子多型(β_1 AR Ser49Gly, β_1 AR Arg389Gly, β_2 AR Arg16Gly, β_2 AR Gln27Glu, β_{2c} AR Del322-325)の頻度を健常人と比較検討した。その結果、 β_1 AR, β_2 AR遺伝子多型の頻度は、健常人と心不全患者との間で差がなかった。なかでも β_{2c} AR Del322-325は、黒人・白人では変異頻度が心不全患者で高値を示すと報告されているが、日本人では心不全発症に対するアドレナリン受容体遺伝子多型の影響は低いとの結果だった。

次に、 β 遮断薬反応性の個人差が β 遮断薬の標的分子である β ARの遺伝子多型(β_1 AR Ser49Gly, β_1 AR Arg389Gly, β_2 AR T-47C, β_2 AR Arg16Gly,

β_2 AR Gln27Glu)によって予測できるかを検討した。その結果、検討した全ての遺伝子多型で、 β 遮断薬のレスポンド群とノンレスポンド群との2群間で変異頻度に差はなかった。海外の報告では β_1 AR Arg389Gly, β_2 AR Gln27Gluが β 遮断薬による薬効の個人差に関与するとされている。日本と欧米との心不全の重症度の違い、例えば日本では欧米に比較して心不全5年生存率が高いのがこの理由かも知れない。これらの結果は、海外の報告をそのまま日本人に適用できないことを示すもので、我が国独自の研究が必要であることを認識させるものである。

遺伝子情報に基づく個別化適正医療：

β 遮断薬療法における有効率は、日本人においては約60%で、有効性の予測法の確立が期待されている。今回、73遺伝子(アドレナリン関連遺伝子 β ARのinternalizationに関する遺伝子 エンドセリン系遺伝子 Ca^{2+} 動態関連遺伝子 酸化ストレス関連遺伝子 レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系遺伝子 セカンドメッセンジャー関連遺伝子、その他心不全に関する遺伝子)の173SNPs(一塩基多型)および2 ins/del(挿入/欠失)多型と β 遮断薬の有効性との相関を検討したところ、7遺伝子・8SNPsに有意な相関を得た。また、eNOSとACEの遺伝子多型を組み合わせるにより、 β 遮断薬の有効性を予測できる可能性が示された。

数年以内に、遺伝子多型と治療有効性・副作用に関するさまざまな情報が欧米から流入するであろう。今回、日本人において海外の結果が当てはまるかどうかを検討する基礎データを得ることができた。上記の遺伝子多型を組み合わせるにより、また、さらに β 遮断薬の反応性に関わる他の遺伝子多型の探索や例数を重ね検討を行うことにより、 β 遮断薬の有効性の予測基準を提案したい。

