

「糖尿病性心筋症における早期診断バイオマーカーと治療法の確立」

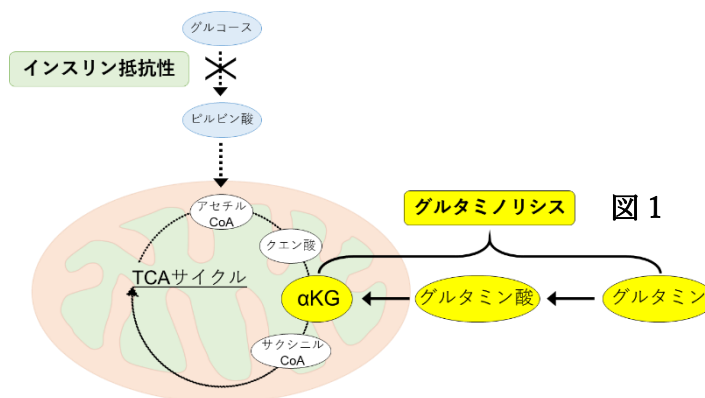
神戸大学大学院医学研究科 立証検査医学分野 長尾 学

1. 研究の背景と目的

高齢化及びライフスタイルの欧米化から、ここ数十年で2型糖尿病を合併した心不全患者が急増傾向にある。2型糖尿病は心不全の独立した危険因子であることが報告され、その原因として“糖尿病性心筋症”という病態が知られている。同病態は冠動脈疾患や高血圧に起因しない心室機能障害と定義され、心筋の肥大・線維化といった心リモデリングの進展により、最終的に心不全を発症することがわかっている。糖尿病患者の心不全発症リスクは、非糖尿病患者に比べ、男性で2倍、女性で5倍を超えると報告されており、2型糖尿病に限れば、75歳未満では心不全のリスクは約3倍、75歳～84歳では2倍となるという報告もある。また、心不全を合併する2型糖尿病患者は非患者群にくらべてQOLが低く、心不全もより重症になる傾向にある。このように2型糖尿病と心不全は密接な関係にあり、合併した場合は予後を相加的に増悪させる。

そこで本研究の目的は糖尿病性心筋症における早期診断バイオマーカーの確立と治療戦略の構築である。本研究ではがん治療で新たな治療標的とされているグルタミン代謝に注目し、独自開発した2型糖尿病モデル動物と糖尿病患者サンプルを用いて、糖尿病性心筋症の病態解明と治療応用を目指す。

グルタミンは血中に最も豊富に存在するアミノ酸で、細胞増殖に必要な核酸や脂質の合成に利用される他、“グルタミノリシス”と呼ばれる代謝経路を通して、生体の主要なエネルギー産生系であるTCAサイクルへ、 α -ケトグルタル酸を補填している(図1)。腫瘍学分野で



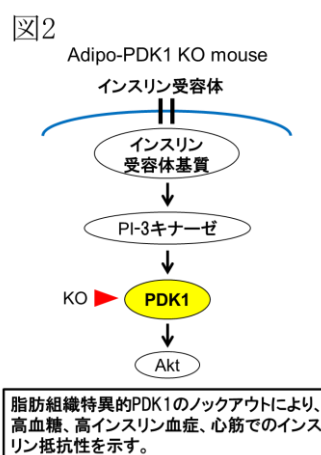
はグルタミノリシスは精力的に研究され、細胞増殖能の高い癌細胞は、グルタミンをエネルギー源としてのみでなく、細胞増殖に必要な核酸や脂質・タンパク質合成のための炭素・窒素の供給源として利用するため、グルタミンに強く依存することがわかっている。健常な心臓ではエネルギー産生の大部分を脂肪酸とグルコースに依存している一方で、糖尿病性心筋症では心筋のインスリン抵抗性により、グルコース利用が障害される中、どのようにグルタミノリシスが制御され、その病態に関わっているのかは不明である。国内外で糖尿病性心筋症におけるグルタミン代謝に主眼を置いた研究は基礎研究、臨床研究共に行われておらず、グルタミン代謝への介入が同病態の新たな治療法となり得るかを検討する本研究の独創性は非常に高い。今後超高齢化社会を迎える我が国にお

いて、ますますの増加が見込まれる“心不全”と“糖尿病”という二大疾病に関わる本研究は、疾病対策だけでなく、医療経済の観点からも非常に意義深い研究である。

研究方法・研究内容

1) 糖尿病性心筋症におけるグルタミノリシスの制御機構の解明

肥満・脂肪細胞肥大に伴ってインスリン抵抗性が惹起されることが、2型糖尿病の重要な病態メカニズムを担っている。本研究ではインスリンによる代謝作用の発現に中心的な役割を担う分子である3-ホスホイノシチド依存性プロテインキナーゼ（PDK1）を脂肪細胞特異的にノックアウトしたマウス（Adipo-PDK1KOマウス）を2型糖尿病のモデル動物として用いる（図2）。先行研究で同マウスは高インスリン血症・高血糖を呈し、心筋もインスリン抵抗性を示すことを確認している。最初に同マウスが糖尿病性心筋症患者に認められる心リモデリングを来すかどうかを検証する。また、心臓組織中・血液中のグルタミンをはじめとしたアミノ酸を液体クロマトグラフィー質量分析計によって測定する。続いて、グルコース利用障害によって、心筋のエネルギー産生系がグルタミノリシスに依存している可能性を考え、Adipo-PDK1KOマウスにおけるグルタミノリシスの律速酵素の発現を遺伝子・タンパク質レベルで評価する。さらに、安定同位体で標識したグルタミン、グルコースを同マウスに投与し、標識されたTCAサイクルの中間代謝物を測定することで、心臓のエネルギー産生系が2型糖尿病という病態下でグルタミノリシス、解糖系にどの程度依存しているかを定量評価する。



2) グルタミノリシス関連代謝物は糖尿病性心筋症のバイオマーカーとなり得るか

2型糖尿病患者に合併する心不全の多くは、左室の拡張機能障害によるものであることが明らかにされている。そこで、神戸大学医学部附属病院において、2型糖尿病患者の左室拡張能を心臓超音波検査法を用いて評価し、拡張障害の有無と種々の血中アミノ酸濃度の相関を検証する。左室拡張能の指標は心エコー図検査で測定された、E/e'、E/A、左房容積係数、左室心筋重量係数とし、血中アミノ酸は液体クロマトグラフィー質量分析計によって測定する。

3) グルタミノリシスの糖尿病性心筋症に対する生理作用の解明

Adipo-PDK1KOマウスに離乳後よりグルタミノリシスの律速酵素であるグルタミナーゼの阻害薬を6週間投与し、組織の染色、心重量体重比を通して心肥大が抑制されるか否かを検証する。

研究成果

Adipo-PDK1K0 マウス (糖尿病) は野生型マウス (野生型) の血中・心臓組織中の α KG、アミノ酸を測定したところ、血中ではグルタミンが有意に増加しており、心臓組織ではグルタミン、グルタミン酸、 α KG をはじめ、その他のアミノ酸も有意な増加を示した (図 3)。また同マウスは野生型マウスに比べて心重量が増加し、心筋肥大を呈すること共に心臓中のグルタミンと心重量に有意な相関も認められた (図 4)。これらの結果より、インスリン抵抗性を有する心筋ではグルタミノリシスの亢進が示唆されたため、その律速酵素の発現を評価した。しかし、グルタミナーゼを含む律速酵素の発現は遺伝子レベル、タンパク質レベルでも野生型と比較し、変化は認めなかった。心臓組織におけるグルタミンをはじめとしたアミノ酸の増加は同化ホルモンであるインスリンの作用不足による蛋白質の異化反応の亢進を反映している可能性もあり、今後さらなる検討が必要である。

図 3

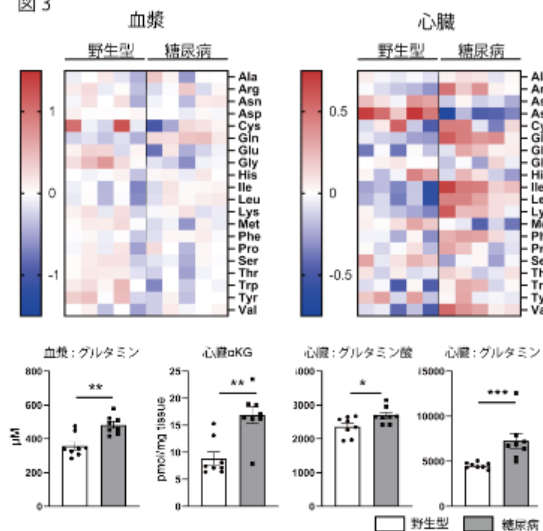
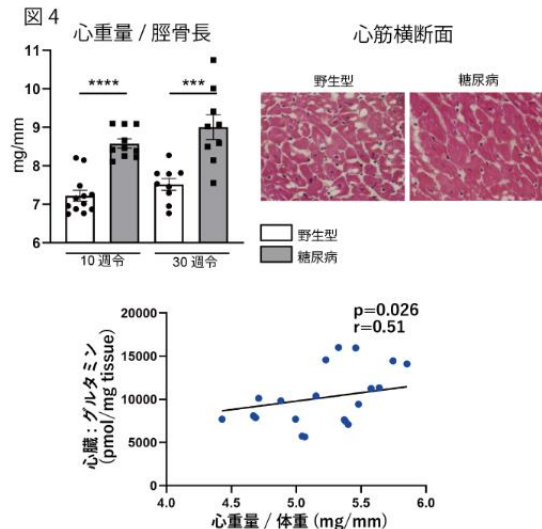


図 4



続いて、グルタミノリシスの薬剤による阻害が糖尿病性心筋症の心リモデリングへ及ぼす影響を検討するため、Adipo-PDK1K0 マウスに律速酵素の阻害薬である BPTES (グルタミナーゼ阻害薬) を離乳後より 6 週間投与した。図 5 に示すとおり、グルタミノリシスの阻害は心重量/脛骨長比を減少させる傾向があった。今後サンプルサイズを増やすとともに組織の染色や心臓超音波法を通して心肥大の抑制効果を検証し、そのメカニズムを解明する予定である。

今後、糖尿病患者群における心臓超音波検査の拡張障害の指標と血中アミノ酸濃度の相関を解析し、グルタミンや α KG をはじめとしたグルタミノリシス関連代謝物の拡張障害のバイオマーカーとしての有用性を検証する予定である。

研究がもたらす効果及び波及効果

近年、大規模臨床試験で2型糖尿病治療薬であるSGLT2阻害薬が糖尿病患者の心不全による入院・死亡を減らすことが証明され（N Engl J Med. 2015; 373:2117-2128.）、今後の2型糖尿病患者の心不全治療の一次予防・二次予防において新たな展開が期待されている。しかし、詳細な分子機序は明らかにされておらず、現時点ではその解明に至っていない。

本研究で着目したグルタミン代謝への介入は既にごん研究では治験段階にある薬剤も存在している。その一例として、グルタミンからグルタミン酸への変換酵素であるグルタミナーゼの阻害薬、“CB-839”は乳がん、肺がん、大腸がんをはじめとした種々の固形腫瘍に対して、癌細胞の増殖抑制効果が確認されている。心筋細胞は細胞分裂を行わない細胞であるが、申請者は糖尿病性心筋症における“心筋肥大”という病的な表現型の分子メカニズムにおいてもグルタミンが重要な役割を果たしていると考え、グルタミナーゼの阻害による心肥大の抑制効果を検証した。がん治療におけるグルタミナーゼ阻害薬の有効性・安全性が確認され、実用化された際には、ドラッグ・リポジショニングという観点でも、本研究の成果は心不全治療への応用をより現実的なものとする一助となる。また、心肥大の大部分は遺伝的な要因によるもの以上に、高血圧等による後天的な因子によって引き起こされることが多く、心肥大は心不全患者の約半数を占める拡張機能障害型心不全（heart failure with preserved ejection fraction; HFpEF）の素因となることも知られている。HFpEFの治療に関しては、循環器内科領域で盛んに議論され、新たな治療薬の探索が行われているにも関わらず、有効なものは確立されていない。本研究によって、グルタミノリシスへ介入による心肥大の抑制効果が証明されれば、今後のHFpEF治療への発展が見込める大きな研究成果となり得る。

心不全治療では心筋に不可逆的な心リモデリングが生じる前段階で、早期介入を行うことが重要であるため、今回の新規バイオマーカー・治療法の開発により、糖尿病性心筋症を基礎とした心不全発症率の低下が期待される。不可逆フェーズに入る前段階より積極的に介入する先制医療の重要性が唱えられている昨今において、本研究が社会へもたらす効果は極めて大きいと考える。

