

心筋細胞内のカルモジュリンおよびカルシウム動態に注目した新しい HFpEF 治療の探査

小田哲郎

山口大学医学部附属病院 第二内科

【研究の背景】

我が国は今後、超高齢化社会を迎えることが確実であり、今以上に心不全による死亡や入院が急激に増加する、いわゆる心不全パンデミックが到来することが予想される。心収縮力の保たれた心不全 (HFpEF) が多いのも高齢者の心不全には大きな特徴となっているが、HFpEF に有効な心不全治療薬は未だ少ないのが現状である。心収縮力の低下した心不全 (HFrEF) において、我々は、心筋筋小胞体 (SR) 膜上の Ca^{2+} 放出チャンネルであるリアノジン受容体 (RyR2) から RyR2 の修飾蛋白の一つであるカルモジュリン (CaM) が解離することが、不全心筋で見られる RyR2 からの異常な Ca^{2+} 漏出に関与しており、また、RyR2 から解離した CaM が、核内に移行することで病的肥大のシグナル伝達を活性化していることを報告した。さらに RyR 安定化薬であるダントロレンは CaM の RyR2 に対する結合親和性を高め、異常な Ca^{2+} 漏出を抑制し、HFrEF の進展を抑制することを報告してきた。しかし、心筋細胞内の Ca^{2+} および CaM の動態が HFpEF の成因になり得るかどうかは検証されていない。

【目的】

心筋細胞内の Ca^{2+} 、CaM の動態を制御することが、HFpEF に対して有効な治療法となり得るかどうか、HFpEF モデルを用いて検証することとした。

【方法】

マウスに高脂肪食および NOS 阻害薬である L-NAME を添加すること (two-hit 法) で HFpEF モデルを作成した。またその HFpEF モデルにダントロレンを付加し、心臓重量、肺重量、心筋細胞の肥大の評価、心エコーでの左室拡張能の評価、運動耐容能の評価を行った。さらに各モデルから単離した心筋細胞を用いて、心筋細胞内の Ca^{2+} 動態を Ca^{2+} 指示薬、CaM の心筋細胞内動態を細胞免疫染色法を用いて評価した。

【結果】

HFpEF モデルにおいて、左室拡張能の指標となる E/E' の上昇を認めたが、ダントロレンを付加することで、E/E' の上昇が抑制された。また、心臓重量や肺うっ血の指標となりうる肺重量の増加、心筋肥大の進行、さらには、HFpEF で見られる運動耐容能の低下もダントロレン付加では抑制されていた。次に、HFpEF モデル、及び HFpEF モデルにダントロレンを付加したモデルから単離した心筋細胞を用いて、心筋細胞内の Ca^{2+} 動態を Ca^{2+} spark、 Ca^{2+} content を測定することで評価した。その結果、HFpEF モデルでは、RyR2 からの異常な Ca^{2+} の漏出を認めたが、ダントロレン付加モデルにおいては、この異常な Ca^{2+} 漏出は抑制されていた。しかし、SR 内の Ca^{2+} 貯蔵量である、 Ca^{2+} content は両群間で同程度であった。また、RyR2 から CaM が HFpEF モデルにおいて解離していないかどうかを検討するため、心筋細胞の免疫染色法にて CaM の動態を評価した。その結果、HFpEF モデルにおいて、HFrEF モデルと同様に CaM は RyR2 から解離しており、核内へ移行していること、ダントロレンを付加することで CaM の RyR2 からの解離を抑制、その結果、CaM の核内への移行も抑制することを証明した。

【考 察】

我々は、RyR2 に結合している CaM の重要性について、数々の論文で報告してきた。すなわち、不全心筋では、CaM が RyR2 から解離し、異常な Ca²⁺漏出を引き起こすことを報告した。RyR2 から解離した後の CaM の細胞内動態についても研究したところ、RyR2 から解離した CaM は核内へ移行することにより、病的な心肥大を引き起こすシグナル伝達の経路を促進することが判明した。このことから RyR2 からの CaM の解離を抑制することができれば、心不全へと進展する病的な心肥大の抑制に効果がある可能性が示唆されたが、いずれの研究も HFrEF を対象とした研究であり、HFpEF に対して RyR2 からの CaM の解離の抑制が HFpEF にみられる病的な心肥大を抑制することができるか否かの検討はされていなかった。本研究では、人の HFpEF の病態に近いとされる two-hit 法にて作成した HFpEF マウスモデルを用いた。その結果、HFpEF の成因に、CaM の RyR2 への結合親和性の低下による RyR2 の機能異常、すなわち RyR2 からの拡張期の異常な Ca²⁺漏出(心筋の拡張障害を引き起こす)、さらにその RyR2 から解離した CaM が核内へ移行することで、HFpEF に多く見られる病的な心肥大の進展にも関わっていることが証明された。ダントロレンは、CaM の RyR2 に対する結合親和性を高めることにより、RyR2 からの異常な Ca²⁺漏出、CaM の核内移行を抑制することで HFpEF の進展または発症を抑制できる可能性があることが示唆された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

HFpEF は HFrEF に有効とされている薬剤の有効性は未だない。近年、報告された HFpEF モデル(“two-hit”モデル)において申請者らは、予備実験で左室拡張能の指標となる E/E' の上昇が、ダントロレン付加モデルで抑制できたことを確認している。この現象の機序をさらに詳細に検討することで、CaM の RyR2 への結合親和性の増強に特化した全く新しい HFpEF の治療法や薬剤の開発に繋がるものと思われる。

【参考・引用文献】

1. Schiattarella GG, Altamirano F, Tong D, French KM, Villalobos E, Kim SY, Luo X, Jiang N, May HI, Wang ZV, Hill TM, Mammen PPA, Huang J, Lee DI, Hahn VS, Sharma K, Kass DA, Lavandro S, Gillette TG, Hill JA. Nitrosative stress drives heart failure with preserved ejection fraction. *Nature*. 2019;568(7752):351-356.
2. Oda T, Yamamoto T, Kato T, Uchinomi H, Fukui G, Hamada Y, Nanno T, Ishiguchi H, Nakamura Y, Okamoto Y, Kono M, Okuda S, Kobayashi S, Bers DM, Yano M. Nuclear translocation of calmodulin in pathological cardiac hypertrophy originates from ryanodine receptor bound calmodulin. *J Mol Cell Cardiol*. 2018;125:87-97.
3. Ono M, Yano M, Hino A, Suetomi T, Xu X, Susa T, Uchinomi H, Tateishi H, Oda T, Okuda S, Doi M, Kobayashi S, Yamamoto T, Koseki N, Kyushiki H, Ikemoto N, Matsuzaki M. Dissociation of calmodulin from cardiac ryanodine receptor causes aberrant Ca²⁺ release in heart failure. *Cardiovasc Res*. 2010;87(4):609-17.