腎ナトリウムリン共輸送体阻害による心不全治療の試み

草場哲郎

京都府立医科大学 腎臓内科

【研究の背景】

近年の大規模臨床試験において、近位尿細管に発現する Na とブドウ糖の共輸送体である SGLT2 の阻害薬が、非糖尿病心不全患者の予後を大きく改善することが示された^{1,2)}。また他の近位尿細管の Na 再吸収抑制薬である Acetazolamide が心不全患者のうっ血を改善させることも示された³⁾。その機序として、近位尿細管での Na の再吸収抑制により、体液量の減少、血圧の低下などの複合的な機序を介して、臓器保護効果を発揮すると考えられている。このことより近位尿細管の Na チャネルは心不全に対する魅力的な治療標的であると考えられる。

近位尿細管に発現する Na の共輸送体の一つで、Na とリンの共輸送体である NaPi2a は原尿中のリンと Na の再吸収を行っている。血中リン濃度が上昇すると、リン利尿ホルモンである FGF23 が骨より分泌され、リンの尿中排泄が促進され、血中リン濃度の恒常性は保たれている。疫学研究では、血中リン濃度の上昇と血管石灰化には強い正相関を認めることに加え、血中 FGF23 の上昇も心血管系疾患の発症、左室肥大と強く相関している。基礎研究では FGF23 自体が FGFR4 を介して心筋肥大を誘導することが示されている⁴⁻⁶⁾。

【目 的】

血中リン濃度の低下を目指した治療戦略は、血管石灰化の抑制や FGF23 の低下を介して、心血管疾患の進展を包括的に抑制できると考えられる。今回我々は、その一つの方法として NaPi2a の機能抑制により尿中リンの排泄を介して、血中リン濃度の低下とそれに引き続き FGF23 の低下を目指すことを着想した。加えて、NaPi2a の機能抑制は、リンだけでなく、Na の尿中排泄も亢進させるため、体液量減少効果も期待できる。そこで今回の研究では、遺伝子改変による NaPi2a の機能喪失が、①Na 排泄に伴う体液量減少効果に加え、②血中リンの低下に伴う血管石灰化抑制効果、③FGF23 の低下に引き続く心筋肥大抑制などが複合して心血管疾患予防効果を発揮するという仮説を立て、研究を実施した。

【方 法】

本研究では、圧負荷心不全モデルおよび尿毒性心筋症モデルマウスを用いて、NaPi2a の機能喪失が心保護効果を発揮するかを検討する。まず 8 週齢の NaPi2a-KO マウス⁷⁾および野生型マウスに対して、胸部横行大動脈縮窄による圧負荷心不全モデル(TAC モデル)を作成した。8 週間の観察期間において、血圧測定、心臓超音波検査を経時的に行い、心収縮能、心サイズの推移を観察した。観察期間終了後に血液、尿、心臓を採取する。血液検査では血清リン、血清 Ca、血清 Na、FGF23、尿検査では Na やリン排泄率を測定した。心組織では、間質の線維化、心筋肥大などの病理学的変化 MTC 染色、HE 染色、Sirius Red 染色で検討する。TAC モデルでは心筋の DNA 損傷から組織の炎症が惹起されることが示されており、 γ H2AX 染色による心筋の DNA 損傷の評価を行った。加えて PCR による炎症性マーカーの定量的変化、 β MHC などの心筋障害マーカー、心筋のアポトーシスの定量的評価も行う。

次に、腎不全状態では、尿毒症性心筋症と呼ばれる心筋肥大、心組織の線維化を生じるが、NaPi2a-KO マウスでこれらの表現型が改善するかを検討した。8 週齢の NaPi2a-KO マウスおよび野生型マウスに対して 5/6 腎摘出術を行い、慢性腎不全モデルを作成する。観察期間は術後 12 週間とし、血液検査で腎機能や血清リン、カルシウム、FGF23 の濃度を経時的

に測定する。また血圧測定、心臓超音波検査を経時的に行い、心収縮能、心サイズの推移を観察する。観察期間終了後に、心臓を採取し、TAC モデルと同様に、心組織障害を統合的に評価した。

【結 果】

NaPi2a-KO マウスにおいて、定常状態では WT に比し尿中 Na や P の排泄が亢進し、血清 P や FGF23 は低下していた。心組織では ANP 発現の低下を認め、体液量の減少が示唆された。圧負荷心不全モデルに関して、WT、KO マウスに TAC を実施したところ、術後 4 週間では WT と比べ KO で左室径は短く、左心室駆出率 (LVEF) が保たれていた。WT に比し KO の心臓では、ANP や BNP、心筋傷害や線維化マーカーの発現が低下しており、心筋の DNA 損傷も抑制されていた。一方、血清 FGF23 は血清リン値のみと相関し、心重量(心肥大)の間に相関関係を認めなかった。

また尿毒症性心筋症の作成のために 5/6 腎摘を行い慢性腎不全を惹起し、その後 3 週間経時的に各種パラメーターの観察を行った。腎機能障害は手術後速やかに出現し、その後 3 ヶ月の間持続していた。LVEF は腎不全を誘導することで低下したが、WT と KO の間で差は認めなかった。心筋の線維化マーカーや心不全マーカーも WT、KO の間で差を認めなかった。今後、心筋組織の DNA 損傷などを検討する予定である。血清学的には WT、KO とも腎不全に伴い血清リン値および FGF23 は上昇していたが、両者の間に差は認めなかった。

【考 察】

NaPi2a の機能喪失は平常時には低リン血症、低 FGF23 血症を誘導したが、心機能への影響は見られなかった。一方で、圧負荷心不全において NaPi2a の機能喪失は、血清 FGF23 の低下ではなく、Na 利尿が LVEF の保持や心筋傷害、線維化の改善に寄与したことが示唆された。腎不全モデルによる尿毒症性心筋症での解析では、NaPi2a の機能喪失は新機能の改善効果を認めなかった。これは腎不全では、P の排泄を促すために最初から NaPi2a が抑制されていることに加え、今回は NaPi2a を介する Na の再吸収抑制による心不全効果を期待したが、機能ネフロン数が喪失しており、Na 排泄効果が発揮されにくかったことが挙げられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

SGLT2 阻害薬が心血管疾患の予後改善効果が見られたように、本研究でも近位尿細管 NaPi2a の抑制による Na、P の尿中排泄を更新させることで心機能の改善効果が明らかとなった。このことは、将来的に NaPi2a を始めとした近位尿細管の Na チャネルが心不全の新規治療標的となる可能性がある。しかしながら慢性腎不全状態ではその効果は明らかでなく、今後の検討課題と考えられる。

【参考・引用文献】

- ① N Engl J Med 2019; 381:1995-2008
- ② N Engl J Med 2021;385:1451-61
- ③ N Engl J Med 2023;387:1185-95
- ④ J Clin Invest. 2011;121(11):4393-4408
- ⑤ Kidney International (2018) 94, 60-71
- ⑥ Cell Metab 2015; 22; 1020-32
- ⑦ PNAS 2014 2014; 111(4):1527-32