

部署・職名 愛媛大学大学院医学系研究科
循環器・呼吸器・腎高血圧内科学講座・教授
氏名 山口 修

研究課題	Coronavirus Disease 2019に合併する 重症心筋障害・心不全・重症肺炎・急性呼吸促迫症候群の発症機序の検討
------	--

1. 研究概要

新型コロナウイルス感染症（以下COVID-19）は重症化すると、急性呼吸促迫症候群や多臓器不全を発症し、急激な病態の進行を伴い致命的になることが知られており、その病態進展のメカニズムを解明することは急務である。

COVID-19患者においてしばしば心筋障害を反映した心筋逸脱酵素 心筋トロポニンの上昇を認め、それ自体が病態の重症度や死亡率と関連があると報告されている(1, 2)。またCOVID-19の経過中に心筋障害を認めるとより予後が悪化することが報告されている。

これらのことから治療効果向上を目指すためCOVID-19に合併する心筋障害の分子機構を含めたメカニズムの解明は非常に重要な研究課題である。

細菌やウイルスなど病原体由来のRNA、DNAなどの核酸は自然免疫系を活性化する。これらの核酸を認識する受容体の一つとしてToll-like receptor (TLRs)が知られており、エンドソーム膜上に存在するTLR3、TLR7、TLR8、TLR9がその役割を担っている。これらのTLRsは抗ウイルス薬、アレルギー薬、ワクチンのアジュバンドなどのターゲットとして注目を集めている(3)。

TLRsのシグナル経路は心不全の新規治療薬ターゲットの一つになる可能性も報告されてきた(4)。

加えてTLRsはその刺激によりサイトカインストームを引き起こす。またCOVID-19もサイトカインストームを引き起こすことで心筋障害、肺障害など多臓器不全をきたすことが考えられTLRsがCOVID-19のサイトカインストーム、心筋障害に重要な役割を果たしている可能性が考えられる。

また我々は加齢や生活習慣病に伴う一般的な心筋障害、心不全の病態進行に心保護的機能を果たすオートファジーが重要な役割を担っていることを報告している。

現在全身のサイトカインストームに伴うCOVID-19関連心筋障害についてマウスサイトカインストームモデルを作成し研究を進めている。また心不全の既往のある患者がCOVID-19に感染した場合、致命率が高いことが報告されており(6, 7)、これらの病態進行メカニズムを検討することは非常に重要な研究課題である。加えて心筋炎症の進展に保護的な役割を持つ心筋におけるオートファジーとCOVID-19の心筋障害については報告がなく、これらに注目して研究を進めていくことは今後のCOVID-19の重症心臓合併症に対する新規治療戦略を開発する上で非常に重要な試みであると考えている。

1. Gupta AK, Jneid H, Addison D et al. Current perspectives on Coronavirus 2019 (COVID-19) and cardiovascular disease: A white paper by the JAHA editors. J Am Heart Assoc 2020:e017013.
2. Shi S, Qin M, Shen B et al. Association of Cardiac Injury With Mortality in Hospitalized Patients With COVID-19 in Wuhan, China. JAMA Cardiol 2020.
3. Medvedev AE, Sabroe I, Hasday JD, Vogel SN. Tolerance to microbial TLR ligands: molecular mechanisms and relevance to disease. J Endotoxin Res 2006;12:133-50.

4. Topkara VK, Evans S, Zhang W et al. Therapeutic targeting of innate immunity in the failing heart. *J Mol Cell Cardiol* 2011;51:594-9.
5. Oka T, Hikoso S, Yamaguchi O et al. Mitochondrial DNA that escapes from autophagy causes inflammation and heart failure. *Nature* 2012;485:251-5.
6. Alvarez-Garcia J, Lee S, Gupta A et al. Prognostic Impact of Prior Heart Failure in Patients Hospitalized With COVID-19. *J Am Coll Cardiol* 2020;76:2334-2348.
7. Bhatt AS, Jering KS, Vaduganathan M, Claggett BL, Cunningham JW, Rosenthal N, Signorovitch J, Thune JJ, Vardeny O, Solomon SD. Clinical Outcomes in Patients With Heart Failure Hospitalized With COVID-19. *JACC Heart Fail.* 2021 Jan;9(1):65-73.

2. 研究成果・進捗状況

前回の報告書に記載したように心臓疾患・動脈硬化疾患の病態解明をするためによく使用されるC57 black 6マウスにサイトカインストームを誘発する物質Xを投与することでサイトカインストームを発生させ心機能低下を来すモデルマウスの開発を開始した。さまざまな濃度の物質Xを投与し、マウスの生存率、心エコー図検査 (Vevo® 1100 i

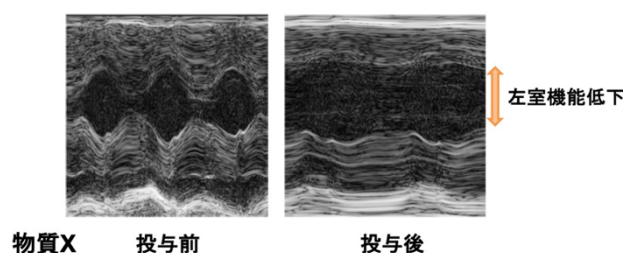


図1 心エコー検査

maging system, FUJIFILM VisualSonics社) を施行した。心臓拡大の指標として左室拡張期径/左室収縮期径、心機能の指標として左室内径短縮率% fractional shortening (%FS)を計測しサイトカインストームの重症度が心臓に与える影響を検討した。実際に物質Xを投与し、サイトカインストームを生じることで心機能低下を来すことは心エコー図検査で既に確認している (図1)。

また心不全既往歴がある患者は心不全既往歴がない患者よりも、入院期間が長く、人工呼吸管理になるリスクが高く、死亡率が高いことが報告されている(1)。加えて心不全で入院の既往のある患者がCOVID-19に感染すると入院中に4人に1人は死亡するという報告もある(2)。

これらのことから心不全を合併した患者におけるCOVID-19感染症の研究を進めていくことは非常に重要な研究課題の一つである。

そこで前回の報告書でも触れたように我々のグループでは新規心不全マウスモデルの作成に着手した。現在一般的に使用されている心不全モデルマウスは左室から出た大動脈弓を結紮する手術 (TAC : transverse aortic constriction) を行い圧負荷誘発性の心肥大および心不全を発症させるモデルで非常に有用なモデルである反面、その作成手技に熟練を要するため、手技習得に非常に時間がかかり、また確実な再現性を得ることもその手技の熟練度に多大に依存していた。そこで我々は図2のようにO-ringを用いた変法TAC心不全マウスモデル (OTAC心不全マウスモデル) を開発した。

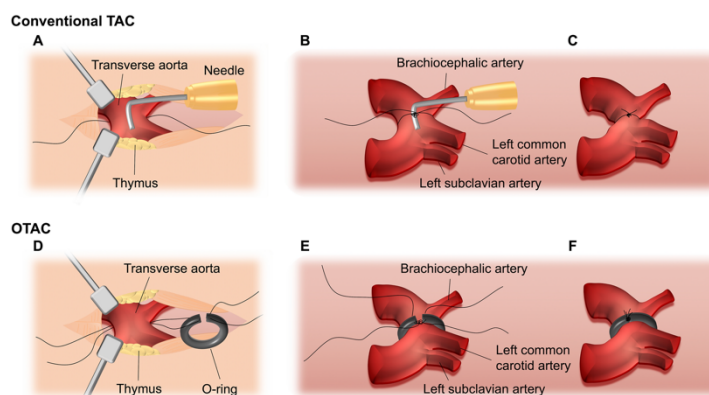


図2 新規心不全モデルマウスの開発

文献(3)より引用(Nakao Y, Yamaguchi O, et al. *Sci Rep.* 2022)

組織学的検討でもOTAC心不全マウスモデルでは対照群と比較し心筋肥大を認めた (図3)

。また心筋の線維化をピクロシリウスレッド染色で分析したところ OTAC 心不全マウスモデルでは対照群と比較し有意に心筋の線維化を認めた (図4)。

これらの結果から従来の心不全マウスモデルと比較して、心不全や心臓肥大の発症の再現性を高めることができる新規心不全マウスモデルの開発に成功した。

この研究成果は今年ネイチャー・リサーチ社によって刊行されている学術雑誌である Scientific Reports 誌に報告した(3)。

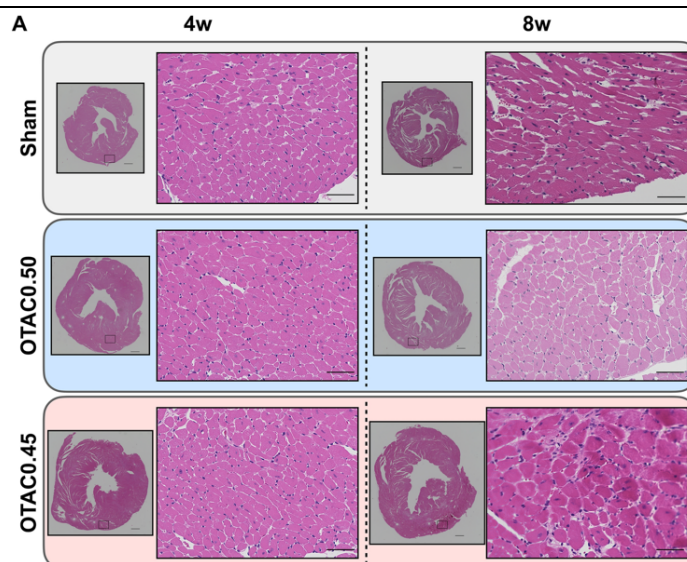


図3 新規心不全モデルマウスにおける心筋肥大の組織学的検討
文献(3)より引用(Nakao Y, Yamaguchi O, et al. Sci Rep. 2022)

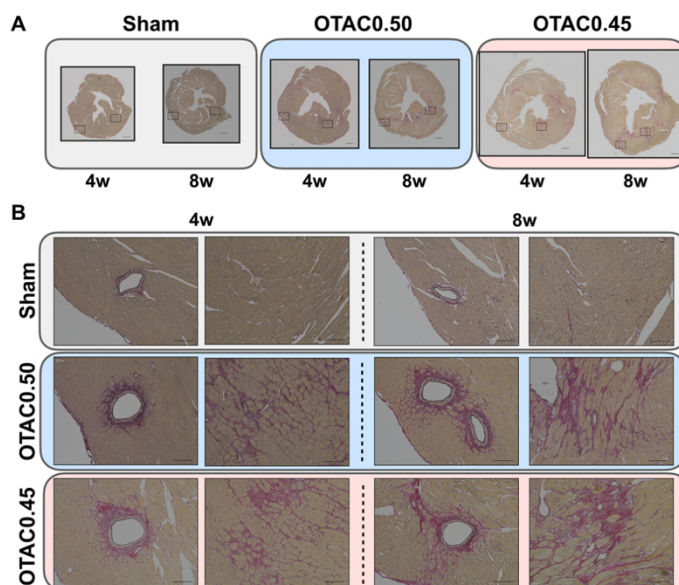


図4 新規心不全モデルマウスにおける心筋線維化の組織学的検討
文献(3)より引用(Nakao Y, Yamaguchi O, et al. Sci Rep. 2022)

1. Alvarez-Garcia J, Lee S, Gupta A et al. Prognostic Impact of Prior Heart Failure in Patients Hospitalized With COVID-19. *J Am Coll Cardiol* 2020;76:2334-2348.
2. Bhatt AS, Jering KS, Vaduganathan M, Claggett BL, Cunningham JW, Rosenthal N, Signorovitch J, Thune JJ, Vardeny O, Solomon SD. Clinical Outcomes in Patients With Heart Failure Hospitalized With COVID-19. *JACC Heart Fail.* 2021 Jan;9(1):65-73.
3. Nakao Y, Aono J, Hamaguchi M, Takahashi K, Sakaue T, Inoue K, Ikeda S, Yamaguchi O. O-ring-induced transverse aortic constriction (OTAC) is a new simple method to develop cardiac hypertrophy and heart failure in mice. *Sci Rep.* 2022 Jan 7;12(1):85.

3. 今後の研究計画

新規心不全マウスモデルをより詳細に検討することで心不全の既往を持つ患者がCOVID-19に感染した際に重症化・致命的になるメカニズムを解明する研究を推進していく予定である。

加えて心機能の改善に与える影響をサイトカインストームの鍵因子であるToll-like receptor (TLRs)、一般的な心筋障害、心不全の病態進行に心保護的機能を果たすオートファジーの観点からそのメカニズム、治療戦略の鍵メカニズムを見つけるべく検証を進める予定である。