



|                     |                                                                                                                     |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | 慢性心不全における末梢血単核球ミトコンドリア由来の活性酸素種産生量の増加は疾患重症度や運動耐容能低下と関連する [論文内容及び審査の要旨]                                               |
| Author(s)           | 白川, 亮介                                                                                                              |
| Description         | 配架番号 : 2460                                                                                                         |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                               |
| Degree Name         | 博士(医学)                                                                                                              |
| Dissertation Number | 甲第13446号                                                                                                            |
| Issue Date          | 2019-03-25                                                                                                          |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/74352">https://hdl.handle.net/2115/74352</a>                                   |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a> |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                     |
| File Information    | Ryosuke_Shirakawa_abstract.pdf, 論文内容の要旨                                                                             |



## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称      博士（医 学）                      氏 名      白 川 亮 介

### 学 位 論 文 題 名

慢性心不全における末梢血単核球ミトコンドリア由来の活性酸素種産生量の増加は  
疾患重症度や運動耐容能低下と関連する  
(Increased mitochondrial reactive oxygen species generation in circulating peripheral  
blood mononuclear cells in patients with chronic heart failure: Correlations with  
disease severity and exercise intolerance)

#### 【背景と目的】

慢性心不全（CHF; chronic heart failure）は心機能障害のみならず、貧血や腎不全、血管内皮機能障害、骨格筋障害などの全身障害を特徴とする慢性症候群である。慢性心不全患者では全身の酸化ストレスが増加し、心不全の重症度や予後と関連することが示されている。活性酸素種（ROS; reactive oxygen species）は酸化ストレスに寄与するため、心筋由来の過剰な ROS 産生は心不全発症の原因の一つと考えられている。一方、全身の酸化ストレスは慢性心不全の進展に重要な役割を果たしていると考えられているが、そのメカニズムはまだ十分に解明されていない。

ミトコンドリアはエネルギーの主要な産生源として生命維持に必要な細胞内小器官であると同時に ROS の産生源でもあるため、ミトコンドリア機能障害は細胞そのものや、隣接する細胞あるいは臓器の障害に関与すると考えられている。全身を循環する血球の中でも、リンパ球と単球で構成される末梢血単核球（PBMC; peripheral blood mononuclear cell）はミトコンドリアによる好気性代謝に依存しており、これまでに PBMC ミトコンドリア機能障害は、自閉症、うつ病、および筋萎縮性軸索硬化症といった様々な疾患の発症・進展に関与していることが明らかにされている。さらに近年、左室肥大などの軽度の心機能異常を有する高血圧あるいは 2 型糖尿病患者においても PBMC ミトコンドリア呼吸能が低下していることが報告された。

そこで我々は、慢性心不全の進展における PBMC ミトコンドリアの役割に着目し、「PBMC ミトコンドリア由来の過剰な ROS 産生は、骨格筋機能や血管内皮機能など全身の臓器機能を低下させ、結果として慢性心不全の進展に寄与する」という仮説を立て、慢性心不全患者における心不全の重症度や運動耐容能低下と PBMC ミトコンドリア ROS 産生量との関連について検証することにした。

#### 【対象と方法】

慢性心不全患者 34 名、心疾患を有さないコントロール群 10 名を登録した。慢性心不全患者のうち、16 名をニューヨーク心臓協会（NYHA; New York Heart Association）分類 I-II 群（軽症群）に、18 名を NYHA 分類 III 群（中等度～重症群）に分類し、2 群間で比較検討を行った。全ての研究参加者に対し、末梢静脈より空腹時採血を行うとともに、尿検体を採取した。血液検体の一部から Ficoll-paque gradient media を用いて PBMC を分離し、蛍光吸光度計付き高感度ミトコンドリア呼吸能測定装置を用いて、ミトコンドリア呼吸能および ROS 産生量を測定した。また残りの血液および尿検体は-80℃フリーザーに保管し、後日全身の酸化ストレスなどを解析した。さらに慢性心不全患者では、心エコー

による心機能評価, および心肺運動負荷試験 (CPET; cardiopulmonary exercise testing) による運動耐容能評価を行った.

#### 【結果】

慢性心不全患者において, NYHA 分類 I-II 群と NYHA 分類 III 群の間では, 年齢, 性別, 体重, BMI, 心不全の基礎疾患, 動脈硬化リスク因子, および内服薬に有意差は認めなかった. 一方, NYHA 分類 III 群は, NYHA 分類 I-II 群と比べて, 左室収縮能の指標である LVEF (left ventricular ejection fraction) は有意に低下しており, 心不全の重症度マーカーである血漿 BNP (brain natriuretic peptide) は有意に高値であった. さらに運動耐容能の指標である最大酸素摂取量 (peak VO<sub>2</sub>; peak oxygen uptake) は NYHA 分類 III 群で有意に低下していた.

コントロール群と比較して, 慢性心不全患者の PBMC ミトコンドリア由来の ROS 産生量は増加していたが, PBMC ミトコンドリア呼吸能については両群で差がなかった. 一方, 慢性心不全患者の間で比較した場合, NYHA 分類 III 群では NYHA 分類 I-II 群と比べて, PBMC ミトコンドリア呼吸能が有意に低下しており, PBMC ミトコンドリア由来の ROS 産生量も有意に増加していた.

慢性心不全患者では, PBMC ミトコンドリア由来の ROS 産生量は, 全身の酸化ストレスマーカーである尿中 8-OHdG (8-hydroxydeoxyguanosine) と正の相関を認めた. さらに PBMC ミトコンドリア由来の ROS 産生量は血漿 BNP と有意な正の相関を, peak VO<sub>2</sub> と有意な負の相関を認め, 心不全重症度や運動耐容能との関連が示唆された.

#### 【考察】

慢性心不全患者では, NYHA 分類 I-II 群と比較して NYHA 分類 III 群で PBMC ミトコンドリア呼吸能が低下しており, PBMC ミトコンドリア由来 ROS 産生量が増加していた. また PBMC ミトコンドリア由来の ROS 産生量は, 尿中 8-OHdG と正の相関を有しており, 全身の酸化ストレスと関連を認めた. さらに, PBMC ミトコンドリア由来の ROS 産生量は, 血漿 BNP レベルや運動耐容能の指標である peak VO<sub>2</sub> と強い相関を認めた. これらの指標は心臓のみならず全身の臓器障害を反映している可能性があり, PBMC が全身を循環する中で過剰に ROS を産生し, 心筋のみならず, 骨格筋や末梢血管内皮などの他臓器を障害することにより, 心不全の重症化に関与している可能性が推測された.

本研究では, 中等度～重症の心不全患者において, 特にミトコンドリアの酸化的リン酸化に関わる state 3 での PBMC 由来の ROS 産生量が増加していることを明らかにした. PBMC は血球の中でもミトコンドリアの酸化的リン酸化によるエネルギー代謝に大きく依存しているため, ex vivo での測定ではあるが, この結果は体内での生理的条件に近い状態での PBMC ミトコンドリア由来の ROS 産生量を反映している可能性が示唆された.

運動耐容能を規定する因子として, 心機能や骨格筋機能, さらに血管内皮機能などが挙げられ, これらの機能低下が慢性心不全の進展に寄与することが知られている. PBMC ミトコンドリア機能は心筋や骨格筋のミトコンドリア機能と相関することが報告されており, 本研究では心筋や骨格筋におけるミトコンドリア由来の ROS 産生量を測定していないものの, 中等度～重症の慢性心不全患者における PBMC ミトコンドリア由来の ROS 産生量増加は, これらの臓器での ROS 産生量増加を反映している可能性がある.

#### 【結論】

慢性心不全患者では, NYHA 分類 I-II 群と比較して, NYHA 分類 III 群では PBMC ミトコンドリア由来の ROS 産生量が増加しており, 心不全の重症度や運動耐容能低下と関連を認めた. 本研究結果は, 「PBMC ミトコンドリア由来の ROS 産生量増加は全身の酸化ストレス亢進に関与し, 全身の機能低下を介して慢性心不全の進展に寄与する」という仮説を支持するものである.