

心不全における分解機構 —オートファジー—

山口 修

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

はじめに

オートファジーは心不全や心肥大などの病態において観察されるが、その意義は長らく謎に包まれたままであった。2016年大隅博士がノーベル生理学・医学賞を受賞され、オートファジーは一躍話題となった。大隅博士による酵母オートファジー関連遺伝子の同定に端を発し、オートファジー研究は爆発的に進んだ。ほ乳類細胞でもその分子機構が解明され、オートファジーの多彩な機能が明らかにされた。この10年で心臓におけるオートファジーの心臓保護的機能が次々と報告されてきた。

オートファジーとは

オートファジーはリソソームによる細胞内分解機構の一つである。リソソームは種々の水解酵素を含む細胞内小器官であり、リソソームへの分解基質の輸送方法によって、マクロオートファジー、ミクロオートファジー、シャペロン介在性オートファジーの三つのオートファジー経路が知られている。本稿では、研究が最も進んでいるマクロオートファジーをオートファジーと記載して扱う。

オートファジーはユビキチン・プロテアソーム系と同様に細胞内分解機構の一種であり、細胞質の蛋白質やミトコンドリアなどの細胞内小器官を分解する。オートファジーは酵母、ほ乳類を含めた真核生物における普遍的な細胞内現象である。大隅博士によって酵母オートファジー関連遺伝子の大部分が発見され、主要な分子機構は多くの種で保たれている。

オートファジー過程において、最初に隔離膜と呼ばれる二重膜構造が形成、伸長しオートファゴソームが完成する。オートファゴソームによって細胞質タンパク質や細胞内オルガネラが周囲の細胞質から隔離される。その

後リソソームと融合し、隔離されていた基質はリソソーム内の水解酵素などによって分解される¹⁾。飢餓刺激など様々なストレスによってオートファジーが誘導される。基底状態においてもオートファジーは機能しており、細胞内浄化を介した恒常性維持に関わる。

哺乳類ではオートファジー必須因子Atg5 (autophagy-related 5) 欠損マウスの作製解析を皮切りに²⁾、オートファジーが初期胚発生、神経細胞の機能維持、恒常性維持、抗腫瘍発生、細胞内侵入細菌の除去、抗原提示などにおいて多彩な機能を有することが報告された。病態についても、オートファジーが神経変性疾患、糖尿病、腎症、感染症、心不全など様々な疾患において臓器保護的機能を有することが明らかにされてきた³⁾。

心臓におけるオートファジー

ヒト心筋症や心筋症自然発症ハムスターなどの心筋組織において報告されていたオートファジー増加の意義は長く不明であった。私たちの研究において、心筋細胞特異的Atg5欠損マウス圧負荷やベータ刺激などのストレス応答によって容易に心不全に陥ったことから、オートファジーが心臓保護機能を有していることを報告した⁴⁾。さらに加齢における心保護的役割も解明した⁵⁾。心筋細胞オートファジー不全によって、心筋細胞内に様々な異常ミトコンドリアが蓄積し、呼吸鎖機能の低下や酸化ストレスの増加が認められたことから、心臓におけるオートファジーの臓器保護的機能はミトコンドリアの品質管理にあると考えた。

不全心では多く観察される変性ミトコンドリアでは、ミトコンドリア膜電位が喪失しATP合成が低下する。さらに、ミトコンドリア由来の活性酸素種やアポトーシス

誘導因子が細胞障害を惹起する。心筋細胞は終末分化細胞であるため、神経細胞同様にオートファジーなどの細胞内分解機構が特に重要であると考えられる。傷害ミトコンドリアはミトコンドリア特異的オートファジーであるマイトファジーによって分解される。出芽酵母で発見されたマイトファジー必須因子Atg32^{6,7)}の哺乳類細胞における機能的ホモログとしてBCL2L13を同定した⁸⁾。今後、BCL2L13の心筋細胞における機能解析を進めていく。

更にマイトファジー過程でのミトコンドリアDNA (mtDNA) 分解不全によって、TLR9を介した心筋炎症と心不全が惹起されることを報告した⁹⁾。mtDNA分解に寄与するリソソーム内のDNaseII発現量の、心不全における低下が示唆されていることから、心不全はある種のリソソーム病とも言えよう。TLR9阻害薬によって肥大心からリモデリング進行が抑制されることを明らかにしており¹⁰⁾、今後の臨床応用が期待される。

オートファジー臨床応用への課題と展望

オートファジーの臨床応用へ向けての最大の課題は、ヒトにおけるオートファジーモニタリングである。簡便なゴールドスタンダード的測定方法が存在しないため、オートファジーモニタリングに関するガイドライン論文¹¹⁾にも、電子顕微鏡、蛍光免疫染色、LC3に対するウエスタンブロッティングなど複数の検出方法の使用が推奨されている。ヒトにおいて組織標本から上記方法で評価するしかない。また血清などから間接的にオートファジー活性を評価できる新たな解析技術の開発が待たれる。

既存薬剤におけるオートファジー誘導能・抑制能の有無について、新たなスクリーニング方法開発とそれに基づく検討が行われた結果、数種類の循環器系薬剤がオートファジー誘導能を有することが示された¹²⁾。豆類や全粒穀物などの様々な食物に含まれているスペルミジンが、オートファジー誘導を介して心保護機能を発揮することが報告された。スペルミジン摂取量が多い食生活習慣によって、心血管疾患発症リスクが低下することも報告されており、今後の臨床応用に期待が集まる。

参考文献

- 1) Mizushima N, Ohsumi Y, Yoshimori T. Autophagosome formation in mammalian cells. *Cell Struct Funct* 2002;27:421-429.
- 2) Kuma A, Hatano M, Matsui M, Yamamoto A, Nakaya H, Yoshimori T, et al. The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature* 2004;432:1032-1036.
- 3) Mizushima N. A brief history of autophagy from cell biology to physiology and disease. *Nat Cell Biol* 2018;20:521-527.
- 4) Nakai A, Yamaguchi O, Takeda T, Higuchi Y, Hikoso S, Taniike M, et al. The role of autophagy in cardiomyocytes in the basal state and in response to hemodynamic stress. *Nat Med* 2007;13:619-624.
- 5) Taneike M, Yamaguchi O, Nakai A, Hikoso S, Takeda T, Mizote I, et al. Inhibition of autophagy in the heart induces age-related cardiomyopathy. *Autophagy* 2010;6:600-606.
- 6) Okamoto K, Kondo-Okamoto N, Ohsumi Y. Mitochondria-anchored receptor Atg32 mediates degradation of mitochondria via selective autophagy. *Dev Cell* 2009;17:87-97.
- 7) Kanki T, Wang K, Cao Y, Baba M, Klionsky DJ. Atg32 is a mitochondrial protein that confers selectivity during mitophagy. *Dev Cell* 2009;17:98-109.
- 8) Murakawa T, Yamaguchi O, Hashimoto A, Hikoso S, Takeda T, Oka T, et al. Bcl-2-like protein 13 is a mammalian Atg32 homologue that mediates mitophagy and mitochondrial fragmentation. *Nat Commun* 2015;6:7527.
- 9) Oka T, Hikoso S, Yamaguchi O, Taneike M, Takeda T, Tamai T, et al. Mitochondrial DNA that escapes from autophagy causes inflammation and heart failure. *Nature* 2012;485:251-255.
- 10) Ueda H, Yamaguchi O, Taneike M, Akazawa Y, Wada-Kobayashi H, Sugihara R, et al. Administration of a TLR9 Inhibitor Attenuates the Development and Progression of Heart Failure in Mice. *JACC Basic Transl Sci* 2019;4:348-363.
- 11) Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, Abedin MJ, Abeliovich H, Acevedo Arozena A, et al. Guidelines for

the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy* 2016;12:1-222.

- 12) Eisenberg T, Abdellatif M, Schroeder S, Primessnig U, Stekovic S, Pendl T, et al. Cardioprotection and lifespan extension by the natural polyamine spermidine. *Nat Med* 2016;22:1428-1438.

心不全とβ受容体 ～たこつぼ症候群発症機序の考察から～

尾上 健児

奈良県立医科大学
循環器内科

1. はじめに

心不全では循環カテコラミン量が増加し、心筋細胞のβアドレナリン受容体(β adrenergic receptor; β AR)が繰り返し過度に刺激される。そのため、ネガティブフィードバックによりβ ARの発現が低下するとともに、細胞内シグナルも伝達されにくくなり、長期的には心機能が低下する。このβ AR不応状態は「脱感作」と呼ばれる現象であり、心不全をはじめとした心血管疾患発症に関与することが知られている¹⁾。

急性心不全を呈する疾患の一つ、たこつぼ症候群(Takotsubo syndrome; TTS)では、その発症に一過性のカテコラミン過剰刺激、いわゆるカテコラミン心毒性が関与していると考えられている。TTSの発症機序については多枝冠動脈攣縮説、急性冠微小循環障害説、活性酸素種(Reactive Oxygen Species; ROS)産生説などの関与も考えられているが、急性カテコラミン心毒性が主因であるという説が有力視されている。しかしながら、交感神経系の障害・関与を直接TTS患者で証明した研究はなく、従って病因論も確立されていなかった。我々は26例のTTS患者組織を用いてβ ARの脱感作が疾患発症に関与することを証明した。本稿では正常な生理的状态での心筋細胞β ARの働きを含めて概説する。

2. 生理的状态でのβ AR

心筋細胞におけるカテコラミン受容体はG蛋白質共役型受容体(G-protein-coupled receptor; GPCR)ファミリーの一つであるβ ARが主に発現しており、β₁およびβ₂-ARが主として刺激興奮-収縮連関を司っている²⁾。正常の生理的カテコラミン濃度下では、カテコラミンがβ ARに結合すると共役する膜上のG蛋白質が活性化、さらに細胞膜上のアデニル酸環化酵素(adenylyl cyclase;

AC)を活性化させ、細胞質内のATPをcyclic AMP(cAMP)に変化させる。cAMP濃度上昇によりcAMP依存蛋白キナーゼ(cAMP-dependent protein kinase; PKA)が活性化され、細胞質Ca動態を活発にする複数の蛋白質をリン酸化し、心拍数および収縮力増加に繋がる。興味深いことにこれら心筋細胞のβ AR分布は交感神経終末の分布密度が低い心尖部で補完的に多く、特にアドレナリンに親和性の強いβ₂ARでより顕著であると報告されている³⁾。このβ AR分布の違いがTTSの典型例である心尖部壁運動低下を説明する上で重要となる。

3. 病的状態でのβ AR

交感神経系の亢進によりPKAが活性化されると、β ARシグナルを負に制御するGPCRキナーゼ2(GRK2)、β アレスチン2の発現が増加する。GRK2は細胞膜上のG蛋白質に結合してβ ARをリン酸化し、β アレスチン2とβ ARの結合を助ける。β アレスチン2がβ ARに結合するとG蛋白質がβ ARから離脱する(uncoupling)。β アレスチン2はさらにエンドサイトーシスによりβ ARを内在化(internalization)させる。これによりβ ARは脱感作(desensitization)され収縮力が低下する。また、β ARがカテコラミン刺激を受けるとミトコンドリア傷害等により活性酸素種(ROS)が生成され、これも心筋収縮力低下につながる⁴⁾。

前述のように、β AR分布密度は心尖部で心基部に比し高く、これら一連の脱感作は、β ARの多く分布する心尖部でより強いと考えられる。収縮力低下に向かう反応は、急性心不全を惹起しうる反面、心筋細胞の過剰興奮に起因する細胞壊死を回避する保護的な役割を果たしている。脱感作は急激なカテコラミン濃度上昇による刺激から心筋細胞を保護するため、収縮力と引き換えに心筋壊死を抑制するシステムと考えられる。

4. TTS 患者検体を用いた解析

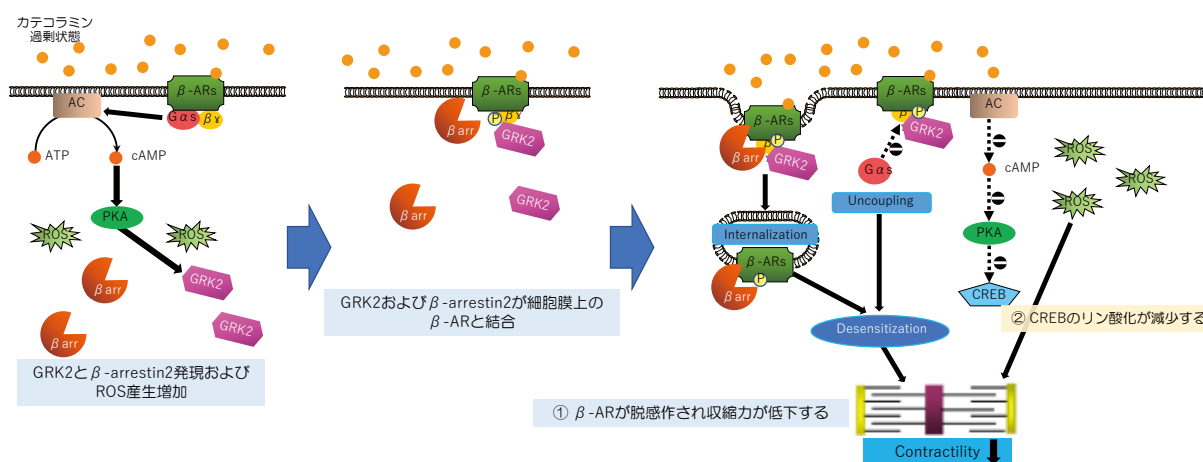
我々は、TTS臨床症例を用いて心臓での β ARに着目し、正常コントロール心筋および拡張型心筋症による慢性心不全症例との比較検討を通じて、前述の β ARシグナル経路に関わる分子動態を検証し、TTS発症の分子機序を検討した。当院にTTSのため入院した症例で、心筋炎など心筋疾患鑑別のため急性期に壁運動の低下している左室後壁より心内膜心筋生検が施行された26症例(TTS群)を対象とした。対照として心機能が正常で刺激伝導系障害原因検索目的で心内膜心筋生検を行った19例(Normal control: NC群)、および臨床的および組織学的に拡張型心筋症(DCM)と診断された26症例(DCM群)を用いた。 β ARに関連する検討のため、 β 遮断薬内服患者は除外し、上記3群の臨床的および病理学的特徴について検討した。

TTS群はNC群・DCM群に対し、有意に高齢で、女性の割合が高かった。死亡例はなく、高血圧や糖尿病などの基礎疾患有病率に有意差は認められなかった。心筋細胞におけるGRK2陽性面積率はTTS群において有意に高値(NC群 8.0 (6.0-18.0)%, TTS群30.0 (26.5-34.3)%, DCM群15.0 (13.0-21.0)%, $P<0.001$)であり、 β アレスチン2陽性面積率もTTS群において有意に高値(NC群 10.0 (4.0-14.0)%, TTS群34.0 (29.8-39.0)%, DCM群 15.0 (11.0-18.0)%, $P<0.001$)であった。また、心筋細胞膜上でこれら分子が陽性である心筋細胞の割合は、GRK2ではNC群 2.0 (1.0-5.0)%, TTS群28.0 (16.5-39.0)%, DCM群8.5 (4.0-13.3)% ($P<0.001$)、 β アレスチン2ではNC群 2.0 (0.0-3.0)%, TTS群20.0 (16.0-34.5)%, DCM群 10.0 (6.5-13.5)% ($P<0.001$)であり、有意にTTS群で

GRK2および β アレスチン2の細胞膜上での陽性心筋細胞率が高かった。以上よりTTSで細胞膜上の β ARがGRK2および β アレスチン2により修飾されていることが示された。また β AR下流のcAMP responsive element binding protein (CREB)リン酸化率は、DCM群では慢性的なカテコラミン刺激を反映して軽度上昇しているのに対し、TTS群ではDCM群に比し有意に低値であり、 β ARシグナルがTTS群で低下していることを示唆するものであった。さらにROSを反映する8-OHdGの免疫染色でも、TTS群で有意に8-OHdG陽性心筋細胞核の割合が高値であった。

TTS群は26例全例で心機能が改善したが、2例でのみ心機能正常化後の回復期に左室心筋生検を施行した。興味深いことに細胞質におけるGRK2および β アレスチン2の陽性率は急性期に比し軽度の減少のみであったのに対し、心筋細胞膜上でのこれら分子の陽性率は著明に減少していた(Case 1; 膜上GRK2陽性細胞率15 \rightarrow 0%, 膜上 β アレスチン2陽性細胞率 11 \rightarrow 1%, Case 2; 膜上GRK2陽性細胞率34 \rightarrow 7%, 膜上 β アレスチン2陽性細胞率 13 \rightarrow 3%)。これは、たこつぼ症候群の急性期にはGRK2や β アレスチン2発現が亢進し、かつ心筋細胞膜へ移動して β -ARに作用していること、心機能回復期には膜上の β -ARはもはやGRK2および β アレスチン2の修飾を受けていないことを示唆する結果であった。さらに8-OHdG陽性心筋細胞核の割合もCase1で27から10%に、Case2で23から9%に減少が認められ、たこつぼ症候群における活性酸素種の影響も示唆された。

今回の検討により、カテコラミン毒性から心筋を保護するため β ARが一過性に脱感作を来し、これがTTS発生機序の一因であることが患者検体を用いて病理学的に示された(図)⁵⁾。



図：カテコラミン過剰刺激と β アドレナリン受容体の脱感作によるたこつぼ症候群発症機序

5. まとめ

臨床症例を用いた検討で、TTSにおける β ARシグナル経路に関わる分子動態を検証して、TTS発症機序にカテコラミンの過剰刺激およびそれに続発する β ARの一過性脱感作が関与していることを示した。

TTS発症機序の解明は、同症の治療のみならず、その発症機序・増悪因子の一つにカテコラミンを含めた交感神経系の関与が考えられている心不全の病態解明および治療戦略を考案する端緒にもなると考えられる。 β ARシグナル経路に関わる分子を中心に、今後も心不全診療に繋がりうる基礎的研究を継続したい。

参考文献

- 1) de Lucia C, Eguchi A, Koch WJ. New Insights in Cardiac β -Adrenergic Signaling During Heart Failure and Aging. *Front Pharmacol*. 2018 Aug 10;9:904.
- 2) Woo AY, et al. Biased β 2-adrenoceptor signaling in heart failure: pathophysiology and drug discovery. *Br J Pharmacol*. 2015;172:5444-56.
- 3) Lyon AR, et al. Stress (Takotsubo) cardiomyopathy— a novel pathophysiological hypothesis to explain catecholamine-induced acute myocardial stunning. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2008;5:22-9.
- 4) Zhang GX, et al. Cardiac oxidative stress in acute and chronic isoproterenol-infused rats. *Cardiovasc Res*. 2005;65:230-8.
- 5) Nakano T, Onoue K, et al. Alteration of β -Adrenoceptor Signaling in Left Ventricle of Acute Phase Takotsubo Syndrome: a Human Study. *Sci Rep*. 2018;8:12731.

多職種チーム医療について

富山 美由紀

のぞみハートクリニック
慢性心不全認定看護師

1. 地域で安心して暮らせるプラットフォームづくり

当院は心不全患者が地域で安心して暮らせるプラットフォームづくりをめざし、2018年5月に大阪に開院した。外来診療と訪問診療を行い、心不全の発症予防から、再入院予防と心不全ステージAからステージDまで各ステージに合わせ、変わりゆく患者のLIFE（人生・生活・生命）に寄り添い支援している。

2. 訪問診療

1) 訪問診療とは、

- ①医師が計画的に訪問し、診療、治療、薬の処方、療養上の相談、指導等を行う。
- ②急変時、増悪時には緊急訪問に伺い24時間体制で在宅療養をサポートする。
など

2) 訪問診療の対象者は、

- ①病気や障害、歩行困難などで病院への通院が困難な方
- ②退院後の療養を住み慣れた自宅で行いたいという方
- ③自宅でも医療ケアが必要な方
- ④終末期の療養生活を自宅で過ごしたい方
など

3) 訪問診療開始の経緯は、

- ①病院から退院時に開始
- ②外来通院中に通院困難となって開始
- ③地域包括支援センター、ケアマネジャー、訪問看護師など地域から紹介され開始
- ④患者の家族から依頼され開始
など

3. 在宅での療養生活を支援

慢性心不全患者は高齢者が多い。高齢の心不全患者は、心臓だけでなく他にもさまざまな疾患を抱えていることが多く、認知症、認知機能の低下など特有の問題もある。また、社会環境などにより、治療と生活していくうえの課題が混在するため、その時々に必要な実用的な支援を考え調整していく。高齢心不全患者では、入退院の度に全身状態が徐々に悪化し、医療だけでなく介護やソーシャルサポートなどが必要となることが多い。また病院から自宅に帰りたくても帰れなくなる人もいる。その理由としては、

- ①病状的に困難と医療者が思っている
- ②独居
- ③家族がみることが出来ないと言っている

などである。しかし心不全であっても、ジェネラリストとスペシャリスト、医療者と介護者などの様々な職種や施設で連携し支援することで、在宅で過ごすことが可能となる。患者や家族が自宅で過ごしたいと考えているなら、その実現のために支援していくのである。さらに当院では、生活者という視点を大切にし、在宅で穏やかに過ごしてもらうようQOLの向上を目標にしている。

4. 在宅での多職種チーム

在宅では、他施設、他職種チームのコンセンサスを得て、再入院を予防し、QOLの向上を目指していく必要がある。ここに病院と在宅のチームの違いをあげる(図1)。在宅では、医療者でなく介護者が患者と関わっている時間が多いこともある。そのため当院では、一番近くで患者家族を看てくれる人への支援やサポートも重要と考え

病院チームと在宅チームの違い

	病院	地域
メンバー	多職種 医療者	多施設・多職種 医療介護者
連絡	比較的とりやすい	連絡が取りにくい
役割分担	比較的明確	不明確
価値観	1施設	施設の数だけ
目標	退院	生活の継続

図 1

MedicalCareStation
メディカルケアステーション



- スマホなどいつでもどこでも利用
- 記録は残り、相手が読んだかどうか分かる
- セキュリティの高い非公開型医療介護専用SNS
- 招待、承認システムで登録したメンバーで情報共有

**当院の訪問診療患者290名のうち
54名で利用**

図 2

当院看護師の役割

**管制塔業務 + 日々の実践
(在宅訪問をマネジメント)**

訪問診療開始
アセスメント

- 退院前カンファレンス
- 初回訪問

訪問診療継続中
患者、介護者のサポート

- 患者、介護者からの電話相談 (情報伝達、共有)
- 最重症患者のフォロー

イベント発生時
ケア

- 医師と相談し、適切な対応を検討
- 状態を把握し状況に応じて看護師がファーストタッチ

重症・終末期心不全
ケア

- 早期からの意思決定支援
- 症状の評価と緩和
- 患者・介護者の不安の傾聴

様々な情報を集約させ、患者を点ではなく、線でつなぐ

図 3

ているが、課題になるのが情報共有である。情報共有手段として、電話やメール、FAXなどのほかに、ICTも積極的に使用している(図2)。こちらはタイムリーな情報伝達が一度にできるというメリットがあり、複数の施設の中にいる個々ともつながることが出来る。当院看護師

は、医療と生活の視点で自宅の様子や家族の状況などアセスメントとし、患者、介護者のサポート、支援の調整など直接的な支援に加えて、在宅チームをサポートする間接的な支援も行っている。専門性を持った医療スタッフが心不全の在宅チームを構築し、強化している(図3)。

5. 在宅チームを構築し強化していく

在宅で多職種チームを構築し、強化していくために様々な取り組みを行っている。

1) 新大阪心不全チーム医療カンファレンス

ケアマネジャー、訪問看護師、理学療法士などを対象に「新大阪心不全チーム医療カンファレンス」を行っている。心不全医療への理解を深めるとともに地域で支援する方々の情報交換ができるよう横のつながりも大切にしている（写真1）。

2) 訪問看護ステーションへ出張

訪問看護ステーションから依頼があれば直接お伺いしている。普段のケアの悩みなどを一緒に考え、日常的に相談しやすい環境づくりを目指している（写真2）。

3) デイサービスへ訪問

患者が長く過ごす療養場所がデイサービスであれば、デイサービス先の職員と情報共有をしていく。介護スタッフは、普段と様子が違うなど患者の状態変化をとらえている人も多い。直接医師へ連絡することは困難ではあるが、看護師が普段から気軽

に話を聞くことで、増悪徴候を早期にキャッチし対応することが出来る。

6. 心不全患者の終末期の支援

病院からはステージDとなってからの紹介も多く、終末期であっても本人の意思があいまいなまま引き受けることもある。しかし、ただ自宅に帰っただけで良いのだろうか。最期まで患者の尊厳を守り、病院から在宅へ意思決定、思いをつなげていく必要がある。そのためにはステージCの早いうちから病院と在宅が連携し、在宅からも病院側に患者の思いをフィードバックしていく必要がある。患者のLIFEを大切にしながら、療養生活をサポートしていくため在宅での多職種チームは今後ますます重要と考えている。



写真1



写真2