

## 心不全における骨格筋異常 一酸化窒素と酸化ストレスの役割

筒井 裕之\*, 絹川 真太郎\*, 沖田 孝一\*\*

### はじめに

近年の大規模臨床試験によってレニン・アンジオテンシン・アルドステロン抑制薬や $\beta$ 遮断薬を用いた心不全治療の有効性が示されてきた。しかしながら、これらの研究の多くが心不全の生存率改善に注目したものである。一方で、生存率低下と並んで心不全を特徴付ける基本病態の一つである運動耐容能の低下の発症機序や薬物治療に対する効果に関してはまだ不明な点が多い。

安静時の心機能と運動耐容能は相関せず<sup>1)</sup>、ドブタミン投与によって一時的に心拍出量を増加させても運動能力の改善や最高酸素摂取量の増加は認めなかった<sup>2)</sup>。したがって、骨格筋代謝や末梢循環などの末梢性因子が重要な役割を果たしていると考えられている。本稿では心不全の骨格筋異常について、我々の知見とともに概説する。

### 心不全における骨格筋異常

#### A. 骨格筋血流異常

運動中には shear stress や交感神経刺激により血管内皮細胞から一酸化窒素 (NO) 合成酵素 (NOS) を介して NO が産生される。心不全状態では内皮性 NOS (eNOS) の発現が低下していることが知られており、このことが運動中の血管拡張反応の低下、ひいては骨格筋血流の低下を惹起している可能性がある。一方で、ドブタミン<sup>2)</sup>や血管拡張剤投与<sup>3)</sup>によって急性に心不全患者の骨格筋血流を増加させても運動耐容能は改善しない。我々は心不全患者において一側の前腕や下腿を用いた局所運動で

は骨格筋血流の低下がないにも拘らず筋の有酸素代謝能力が低下していることを確認した<sup>4)</sup>。これらの所見は骨格筋自体の異常が心不全患者の運動耐容能低下に関わっていることを示している。

#### B. 骨格筋の組織学的・生化学的異常

心不全患者からの骨格筋生検サンプルの検討では type I 線維の減少、type IIb 線維の増加<sup>5)</sup>、ミトコンドリア容量およびクリステの表面積の減少<sup>6)</sup>が示され、これらの組織学的な変化と一致して、脂肪酸代謝に関わる酵素の低下<sup>7)</sup>、酸化的リン酸化に関わる酵素の低下が示されている<sup>6)</sup>。一方で解糖系に関わる酵素は正常であった<sup>5)</sup>。これらの変化は心不全患者において有酸素代謝から無酸素代謝へエネルギー代謝が変化していることを示唆している。

#### C. 骨格筋萎縮と骨格筋機能異常

骨格筋萎縮は中等症の心不全でも出現し、筋容量と筋力の両者が運動耐容能の程度と相関していた<sup>8,9)</sup>。しかしながら、筋萎縮を考えれば筋線維あたりの筋力は変化を認めない。心不全ラットの実験では骨格筋線維自体の収縮能力や収縮蛋白のカルシウム感受性には変化が認められなかった<sup>10)</sup>。心不全における運動耐容能の低下には骨格筋の収縮蛋白異常による筋力の低下ではなく他の因子が重要であると考えられる。

#### D. 骨格筋代謝異常

骨格筋血流や骨格筋容量は代謝の変化に密接に関係しているので、これまで述べてきた異常は骨格筋代謝を考慮せずには論ずることができない。磁気共鳴スペクトロスコピー (MRS) を用いて、<sup>31</sup>P の共鳴スペクトルを解析することで、無機リン酸 (Pi)、クレアチンリン酸 (PCr) およびアデノシン三リン酸 (ATP) の相対的濃度が決定される (図1)。骨格筋や心筋において、PCr およびクレアチンキナ

\*北海道大学大学院医学研究科循環病態内科学

\*\*浅井学園大学健康プランニング学科

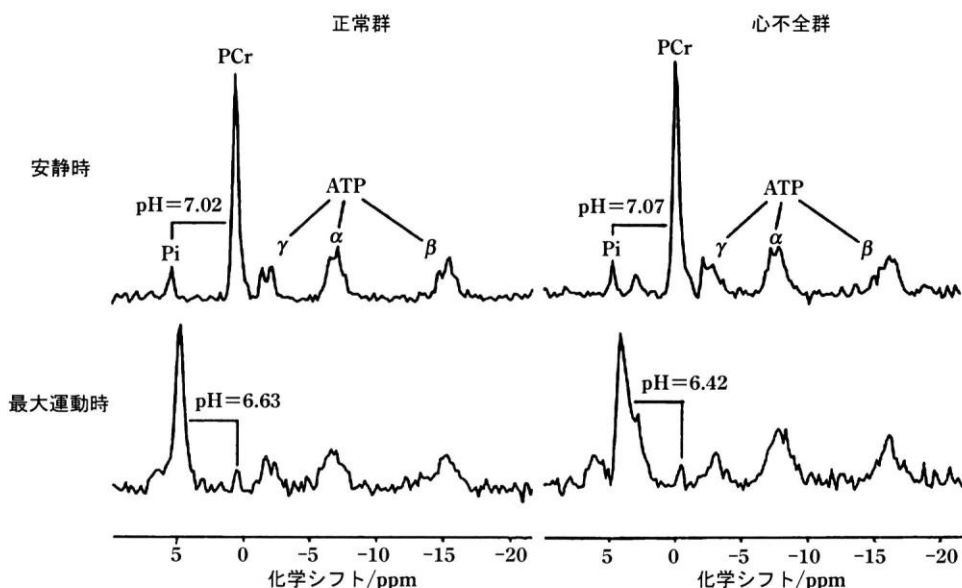


図1 正常者および心不全患者での座位自転車エルゴメーターにおける安静時および最大負荷時の大腿四頭筋の <sup>31</sup>P-MR スペクトル

最大運動時には骨格筋内の高エネルギー化合物である PCr はほぼ枯渇し、これ以上強い運動の継続は不可能であることがわかる。Pi と PCr との化学シフトの差から計算した細胞内 pH は心不全患者でより大きな低下がみられた。(文献<sup>11)</sup>より改変引用)

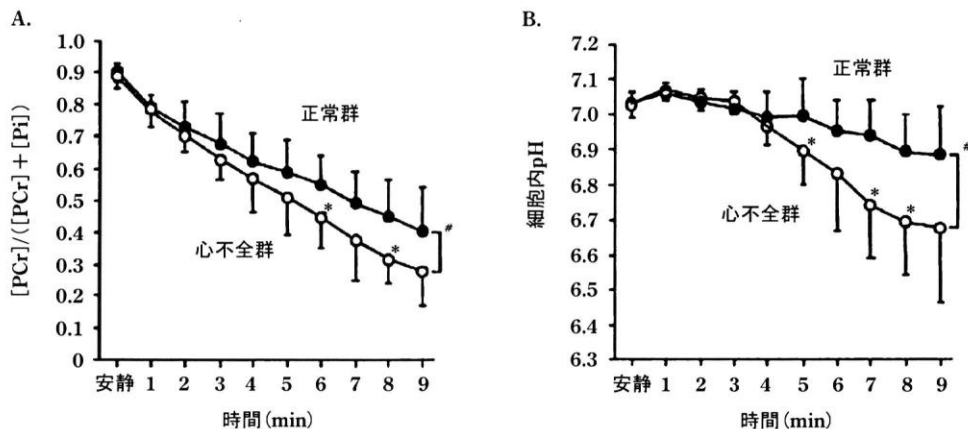


図2 局所骨格筋(下腿伸筋)の漸増負荷運動時のクレアチンリン酸(A)と細胞内 pH(B)

心不全患者では健常群に比しいずれも低下が大きく、有酸素的な運動効率の低下を示した。\**p*<0.05 対同じ時間での健常群, #*p*<0.05 対二群間。(文献<sup>4)</sup>より改変引用)

一ゼシステムはミトコンドリアでのエネルギー代謝の制御に直接関わっていることが知られている。我々は個々の骨格筋量の違いの影響を除外するため筋断面積で補正した定量的な局所運動負荷法を考案し、<sup>31</sup>P-MRS を用いて骨格筋代謝を検討した。心不全患者では同一負荷あるいは同条件の負荷量における PCr の減少および筋細胞内 pH の低下が大きいこと、つまり有酸素運動能力が低下してい

ることを見出した(図2)<sup>4)</sup>。さらに、自転車エルゴメーターによる全身運動では主動筋である大腿四頭筋内の PCr がほぼ利用しつくされたところで運動が停止した(図1)<sup>11)</sup>。このことは骨格筋代謝の限界が運動耐容能を規定することを示している。

### 心不全における骨格筋異常を生じる要因

骨格筋の異常を起こす要因について、心不全に

における活動性の低下(deconditioning)や骨格筋の慢性的な低酸素状態、交感神経系の活性化、筋組織におけるサイトカインの増加などが骨格筋の異常に関わっていると考えられている。最近、Hintzeと我々のグループは動物実験において、NOや酸化ストレスが運動能力および骨格筋のエネルギー代謝に重要な役割を果たしていることを報告した。

### A. NOの役割

ミトコンドリアの電子伝達系においてATPが産生される際、チトクロームオキシダーゼに酸素が結合することにより酸素は還元され、消費される。NOはチトクロームオキシダーゼの酸素結合部位に競合的に作用することによって酸素消費を抑制することが知られている<sup>12)</sup>。さらに、NOによる酸素消費の抑制が起こっても、ATP産生に影響しない、すなわち生理的濃度のNOはミトコンドリアでの“無駄な酸素消費”を抑制していることが示されている<sup>13)</sup>。

HintzeらのグループはeNOS遺伝子欠損マウスを使って、eNOS由来のNOがミトコンドリアにおける酸素消費抑制に重要な役割を果たしていることを報告した<sup>14)</sup>。さらに、頻拍ペーシングによる心不全イヌの実験で心不全の進展とともにeNOS遺伝子発現が低下することを報告した<sup>15)</sup>。さらに、正常イヌにNOSの阻害剤であるnitro-L-arginineを投与したところ、どの運動レベル(下肢の血流の増加に拘らず)でも骨格筋における酸素消費量および酸素抽出が増加していた<sup>16)</sup>。この観察を基に、eNOS遺伝子欠損マウスをトレッドミルによる漸増運動負荷したところ、運動能力は低下していた<sup>17)</sup>。eNOS発現低下によるNO産生が低下した状態では骨格筋におけるミトコンドリア酸素消費量増加が起こるが、この酸素消費増加はエネルギー産生に関わらない無駄な酸素消費であり、結果として運動能力が低下したと考えられる。eNOS発現低下が心不全における骨格筋代謝異常の一つの作用機序である可能性がある。

### B. 酸化ストレスの役割

我々は心不全においてミトコンドリア(特に電子伝達系複合体Iからのスーパーオキシド[O<sub>2</sub><sup>-</sup>])由来の酸化ストレスが心筋で増加しており、このことが心不全の発症・進展に重要な役割を果たしていることを示してきた<sup>18~20)</sup>。また、心筋梗塞後

心不全を呈するマウスの骨格筋でもミトコンドリア由来の活性酸素が増加していることを見出した<sup>21)</sup>。最近、心不全患者の運動耐容能低下に増加した酸化ストレスが関係していると報告されている<sup>22)</sup>。O<sub>2</sub><sup>-</sup>はNOと反応し、NOの生物活性は急速に消失する。したがって、増加した酸化ストレスも骨格筋ミトコンドリアにおける酸素消費において重要な役割を果たしている可能性がある。我々は、ミトコンドリアに存在する内因性のO<sub>2</sub><sup>-</sup>消去酵素であるSOD2のヘテロ欠損マウスを用いて実験を行った。このマウスはSOD2の活性が約50%低下しており、ミトコンドリア由来の酸化ストレスが増加していることが示されている<sup>23)</sup>。このマウスの漸増運動負荷では運動量能力が低下していた(図3, 4)<sup>24)</sup>。さらに、酸化ストレス消去剤を1週

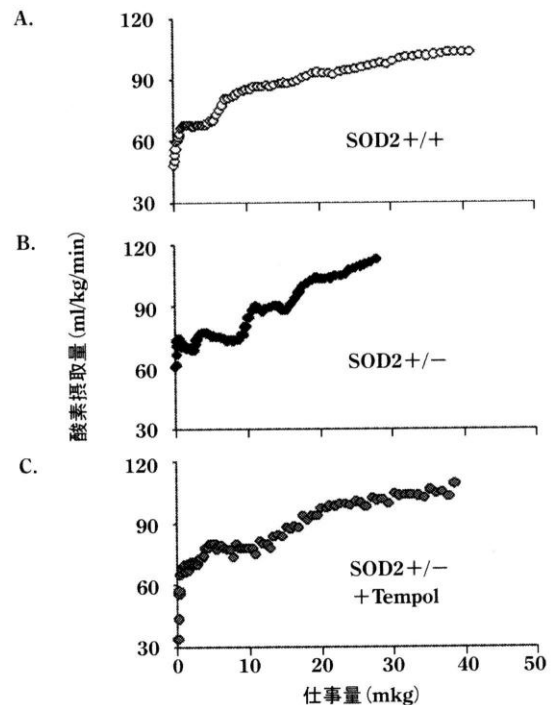


図3 トレッドミル漸増運動負荷中の仕事量に対する酸素摂取量の変化

野生型マウス(A, SOD2+/+), SOD2ヘテロ欠損マウス(B, SOD2+/-), 7日間抗酸化剤であるTempolを投与したSOD2ヘテロ欠損マウス(C, SOD2+/-+Tempol). SOD2+/-マウスで疲労するまでの仕事量が低下していたが、最大酸素摂取量はSOD2+/+マウスと変化がない。抗酸化剤での治療は最大酸素摂取量を変化させずに、SOD2+/-マウスの仕事量をSOD2+/+マウスレベルまで改善させた。(文献<sup>24)</sup>より改変引用)

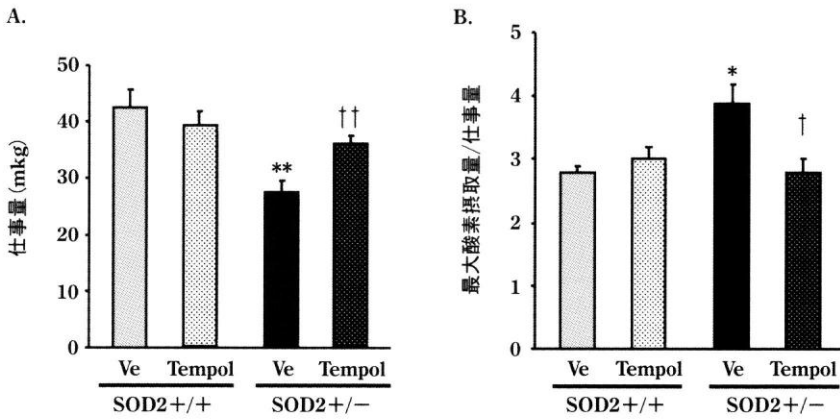


図4 マウスが疲労するまでに行った仕事量(A)および仕事量あたりの最大酸素摂取量(B)

図3の実験で得られたデータのまとめ。SOD2+/-マウスで仕事量は低下していた。抗酸化剤 Tempol 治療によって、低下した仕事量は改善した。それぞれのマウスで行い得た仕事量に差があったため、仕事量で補正した最大酸素摂取量はSOD2+/-マウスで増加していた。このことはSOD2+/-マウスで酸素が‘無駄に’消費されていることを示唆している。Veは生食を示す。\*p<0.05 対SOD2+/+, \*\*p<0.01 対SOD2+/+, †p<0.05 対SOD2+/-+Ve, ††p<0.01 対SOD2+/-+Ve。(文献<sup>24)</sup>より改変引用)

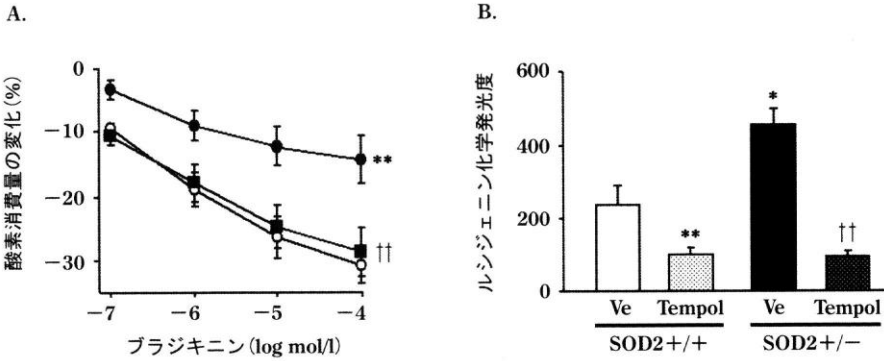


図5 骨格筋におけるブラジキニン依存性の酸素消費量変化(A)およびルシジェニン化学発光法によるO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生(B) SOD2+/+マウスからの骨格筋(○)ではブラジキニン(eNOSを介した内因性のNO産生を刺激する)濃度依存性に酸素消費量が抑制されるが、SOD2+/-マウスからの骨格筋(●)では抑制の程度が小さい。抗酸化剤 Tempol で処理したSOD2+/-マウスからの骨格筋(■)ではSOD2+/+レベルまで改善した。ルシジェニン化学発光度はSOD2+/-マウスからの骨格筋で増加していた。\*p<0.05 対SOD2+/+, \*\*p<0.01 対SOD2+/+, ††p<0.01 対SOD2+/-+Tempol。(文献<sup>24)</sup>より改変引用)

間投与すると野生型マウスと同程度まで運動能力が改善した(図3, 4)。運動能力低下は仕事量あたりの酸素摂取量の増加と関係していた(図3, 4)。次に、マウスの骨格筋を取り出し、酸素電極を用いた *in vitro* の実験で骨格筋における酸素消費量を測定した。野生型マウスから取り出した骨格筋ではNO依存性に酸素消費量が抑制されたが、SOD2ヘテロ欠損マウスでは抑制の程度が小さかった(図5A)。ヘテロ欠損マウスの骨格筋を抗酸化剤で処理すると、野生型マウスのレベルまで改善した(図5A)。ルシジェニン化学発光法を用いて骨格筋における

O<sub>2</sub><sup>-</sup>を測定すると、ヘテロ欠損マウスで増加していた(図5B)。運動中の酸素摂取量と骨格筋の酸素消費量は密接に関係しており、ヘテロ欠損マウスにおける運動能力の低下に酸化ストレスによる骨格筋での負の酸素消費制御が重要な役割を果たしていることが示された。心不全における骨格筋での酸化ストレスの増加が骨格筋代謝異常を惹き起こす可能性を示唆している。

今回の遺伝子改変マウスの心機能は正常に保たれており、心不全のモデルではない。心不全で認められるeNOS発現低下や酸化ストレス増加に焦

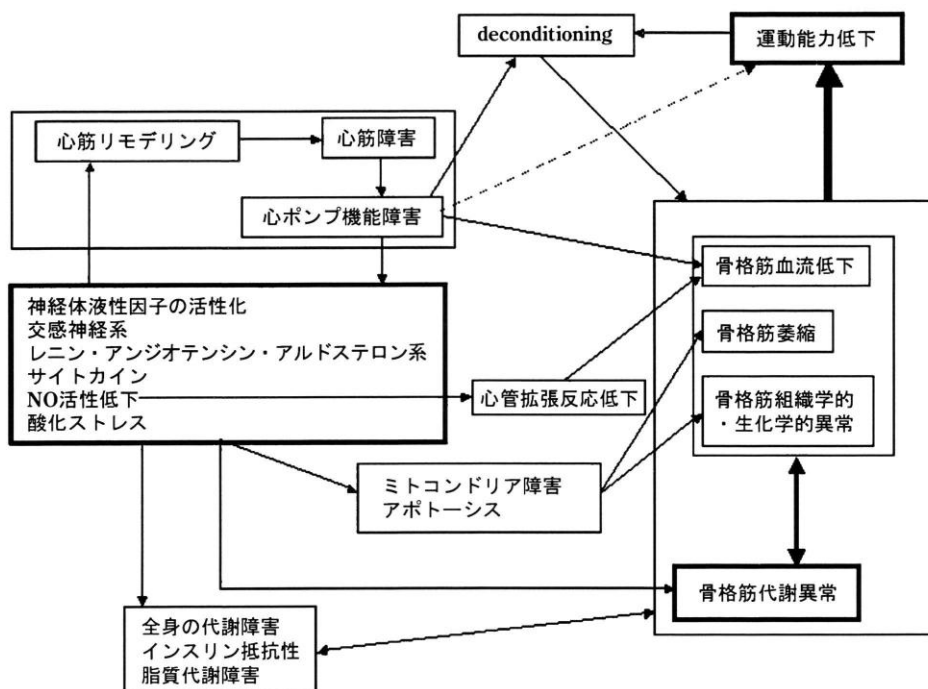


図6 心不全での運動耐容低下における骨格筋異常の役割

心筋障害から始まる心筋不全は神経体液性因子の活性化によって、悪循環を形成している。一方、骨格筋においても同様な機序によって骨格筋の様々な異常を惹き起こしている可能性がある。心不全における骨格筋異常が運動耐容低下に中心的役割を果たしている可能性がある。

点を当てた実験である。したがって、実際の心不全において同様のことが起こっているかどうかは不明であるが、心不全における骨格筋代謝異常にNOや酸化ストレスが重要な役割を果たしていると考えている。

#### おわりに

薬物療法の進歩により、心不全患者の生命予後は改善している。しかしながら、特に高齢者の心不全治療は生活の質の向上の面で十分に配慮して行われるべきである。したがって、運動耐容改善を目指した治療法の確立は重要な課題である。図6に心不全での運動耐容低下における骨格筋異常の役割と現在までに考えられている機序を示す。心不全患者の運動耐容低下の原因はまだ不明な点が多い。更なる研究と治療法の開発が待たれる。

#### 文 献

- 1) Franciosa JA, Park M, Levine TB, et al: Lack of correlation between exercise capacity and indexes of resting left ventricular performance in heart failure. *Am J Cardiol* 1981; 47: 33-9.
- 2) Wilson JR, Martin JL, Ferraro N, et al: Impaired skeletal muscle nutritive flow during exercise in patients with congestive heart failure: role of cardiac pump dysfunction as determined by the effect of dobutamine. *Am J Cardiol* 1984; 53: 1308-15.
- 3) Drexler H, Banhardt U, Meinertz T, et al: Contrasting peripheral short-term and long-term effects of converting enzyme inhibition in patients with congestive heart failure. A double-blind, placebo-controlled trial. *Circulation* 1989; 79: 491-502.
- 4) Nagai T, Okita K, Yonezawa K, et al: Comparison of the skeletal muscle metabolic abnormalities in the arm and leg muscles of patients with chronic heart failure. *Circ J* 2004; 68: 573-9.
- 5) Sullivan MJ, Green HJ, Cobb FR, et al: Skeletal muscle biochemistry and histology in ambulatory patients with long-term heart failure. *Circulation* 1990; 81: 518-27.
- 6) Drexler H, Riede U, Munzel T, et al: Alterations of skeletal muscle in chronic heart failure. *Circulation* 1992; 85: 1751-9.
- 7) Mancini DM, Coyle E, Coggan A, et al: Contribution of intrinsic skeletal muscle changes to  $^{31}\text{P}$  NMR skeletal muscle metabolic abnormalities in patients with chronic

- heart failure. *Circulation* 1989; 80: 1338-46.
- 8) Mancini DM, Walter G, Reichek N, et al: Contribution of skeletal muscle atrophy to exercise intolerance and altered muscle metabolism in heart failure. *Circulation* 1992; 85: 1364-73.
  - 9) Volterrani M, Clark AL, Ludman PF, et al: Predictors of exercise capacity in chronic heart failure. *Eur Heart J* 1994; 15: 801-9.
  - 10) De Sousa E, Veksler V, Bigard X, et al: Heart failure affects mitochondrial but not myofibrillar intrinsic properties of skeletal muscle. *Circulation* 2000; 102: 1847-53.
  - 11) Okita K, Yonezawa K, Nishijima H, et al: Skeletal muscle metabolism limits exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1998; 98: 1886-91.
  - 12) Cleeter MW, Cooper JM, Darley-USmar VM, et al: Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide. Implications for neurodegenerative disease. *FEBS Lett* 1994; 345: 50-4.
  - 13) Shen W, Tian R, Saupe KW, et al: Endogenous nitric oxide enhances coupling between O<sub>2</sub> consumption and ATP synthesis in guinea pig hearts. *Am J Physiol* 2001; 281: H838-46.
  - 14) Loke KE, McConnell PI, Tuzman JM, et al: Endogenous endothelial nitric oxide synthase-derived nitric oxide is a physiological regulator of myocardial oxygen consumption. *Circ Res* 1999; 84: 840-5.
  - 15) Recchia FA, McConnell PI, Bernstein RD, et al: Reduced nitric oxide production and altered myocardial metabolism during the decompensation of pacing-induced heart failure in the conscious dog. *Circ Res* 1998; 83: 969-79.
  - 16) Shen W, Xu X, Ochoa M, et al: Endogenous nitric oxide in the control of skeletal muscle oxygen extraction during exercise. *Acta Physiol Scand* 2000; 168: 675-86.
  - 17) Ojaimi C, Li W, Kinugawa S, et al: Transcriptional basis for exercise limitation in male eNOS-knockout mice with age: heart failure and the fetal phenotype. *Am J Physiol* 2005; 289: H1399-407.
  - 18) Ide T, Tsutsui H, Kinugawa S, et al: Mitochondrial electron transport complex I is a potential source of oxygen free radicals in the failing myocardium. *Circ Res* 1999; 85: 357-63.
  - 19) Ide T, Tsutsui H, Kinugawa S, et al: Direct evidence for increased hydroxyl radicals originating from superoxide in the failing myocardium. *Circ Res* 2000; 86: 152-7.
  - 20) Kinugawa S, Tsutsui H, Hayashidani S, et al: Treatment with dimethylthiourea prevents left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction in mice: role of oxidative stress. *Circ Res* 2000; 87: 392-8.
  - 21) Tsutsui H, Ide T, Hayashidani S, et al: Enhanced generation of reactive oxygen species in the limb skeletal muscles from a murine infarct model of heart failure. *Circulation* 2001; 104: 134-6.
  - 22) Nishiyama Y, Ikeda H, Haramaki N, et al: Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure. *Am Heart J* 1998; 135: 115-20.
  - 23) Li W, Jue T, Edwards J, et al: Changes in NO bioavailability regulate cardiac O<sub>2</sub> consumption: control by intramitochondrial SOD2 and intracellular myoglobin. *Am J Physiol* 2004; 286: H47-54.
  - 24) Kinugawa S, Wang Z, Kaminski PM, et al: Limited exercise capacity in heterozygous manganese superoxide dismutase gene-knockout mice: Role of superoxide anion and nitric oxide. *Circulation* 2005; 111: 1480-6.