

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08180

研究課題名(和文) 糖尿病における洞結節機能障害発生メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of sinus node dysfunction occurrence in diabetes

研究代表者

篠原 徹二 (SHINOHARA, TETSUJI)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：60457629

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病患者は洞不全症候群および心房細動などのリズム異常を合併することが多い。洞結節細胞の線維化およびリモデリングなどの関与が考えられている。今回の我々の研究によって高血糖状態が炎症および酸化ストレス亢進を介して心房細動を誘発していることが明らかにされた。さらに、その過程に肥満細胞の関与も明らかにした。また、肥満細胞から放出されるレプチンのリズム障害に対する影響を研究した結果、高レプチン血症は心房の線維化を進展し、心房細動を誘発させることを英語論文として報告した。加えて、我々はインターロイキン10が高脂肪食によって引き起こされる心房リモデリングと心房細動を抑制できることを確認した。

研究成果の概要(英文)：The patients with diabetes often causes rhythm abnormalities such as sick sinus syndrome and atrial fibrillation. It is considered that the involvement of sinus node cell fibrosis and remodeling. The present study suggests that mast cells contribute to the pathogenesis of hyperglycemia-induced atrial fibrillation via enhancement of inflammation and fibrosis (Uemura K, Shinohara T, et al. J Cardiovasc Electrophysiol. 2016;27:981-9). Furthermore, we reported that hyperleptinemia induces high-fat diet-mediated atrial fibrosis and fibrillation (Fukui A, Shinohara T, et al. J Cardiovasc Electrophysiol. 2017;28:702-710). In addition, we demonstrated that interleukin 10 can inhibit atrial remodeling and atrial fibrillation caused by a high-fat-diet.

研究分野：不整脈

キーワード：糖尿病 心房細動 レプチン

## 1. 研究開始当初の背景

心不全や糖尿病は、心血管イベントの重要な危険因子である。これらの病態は、動脈硬化を介して心機能に障害を与えるのみでなく、心臓リモデリングを引き起こして心機能障害を引き起こすと言われている。洞結節のリズム発生に関しては、 $I_f$ チャネルを中心とした Membrane clock と筋小胞体からの spontaneous  $Ca^{2+}$  release による  $Ca^{2+}$  clock が相補的に機能して洞調律を作り出していると言われている。しかし、心不全や糖尿病といった病的状態が、これら Membrane clock や  $Ca^{2+}$  clock に障害を与えて洞結節機能を抑制するメカニズムは明らかにされていない。

この解明のために、以前我々は心室ペースング誘導心不全イヌモデルを作成し検討を行った。その結果、心不全状態において洞結節における  $Ca^{2+}$  clock が障害されたために交感神経興奮時における洞結節機能活性化が抑制されていることを報告した (Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010)。

一方、心不全とともに糖尿病も心臓リモデリングを引き起こす病態である。近年、マウスを使った実験で高血糖が心筋梗塞後の洞結節機能低下を引き起こしており、そのことが致死率の増加に関係していることが報告された (J Clin Invest, 2013)。しかし、洞結節機能低下の発生メカニズムの詳細はまだ明らかではなく、現在有効な予防方法としては糖尿病治療を適切に行うことのみであり、より効果的な治療方法の解明が期待されている。

## 2. 研究の目的

以上のような現状に対して、我々は研究課題として、糖尿病モデルにおける洞結節機能障害のメカニズムを明らかにすることとした。また、近年インターロイキン 10 (IL-10) は圧負荷モデルマウスにおける心臓リモデリングを抑制することが報告され、免疫機能のみではなく心臓機能制御にも関与していることが報告された。このことから IL-10 の発現は糖尿病患者では減弱しており、この発現低下も糖尿病が洞結節機能障害を引き起こすメカニズムに関与している可能性が考えられた。

我々は、糖尿病患者においては、糖尿病による洞結節細胞への酸化ストレスおよび炎症ストレスから、リズム発生に関与する蛋白のリモデリングが起こっているのではないかと着想し、そのメカニズムに IL-10 の不活性化が関与しているという仮説をたてた。そのことを実証するために、糖尿病が Membrane clock や  $Ca^{2+}$  clock に関与する蛋白のリモデリングを引き起こし洞結節機能障害が生じていることを確認し、IL-10 の補充がそのリモデリングを抑制して洞結節機能障害の発

生を抑制できることを明らかにすることとした。

## 3. 研究の方法

まず実験 1 として、肥満細胞欠損モデルマウスとコントロールマウスに対してストレプトゾトシン静注を用いて糖尿病モデルを作成した。そして、4 週間後にそれぞれを使用して実験を行った。これらのマウスの左心房組織から組織の線維化および関連シグナル因子を評価した。さらに、実験 2 ではレプチン欠損マウスとコントロールマウスに高脂肪食を与えて実験を行った。それぞれのモデルに食道ペースングによる心房細動誘発性を評価した後、左心房組織の線維化とその関連シグナル因子を解析した。

## 4. 研究成果

(1) 実験 1: 高血糖が誘導する心房細動発症に対する肥満細胞の役割

ストレプトゾトシンによって誘導された高血糖は左房での肥満細胞浸潤を引き起こし、心房筋の間質線維化、マクロファージの浸潤、アポトーシスが誘導された。しかし、肥満細胞欠損モデルマウスではこれらは減弱していた。また、左房における TNF- $\alpha$ 、MCP-1、インターロイキン-1、TGF- $\beta$ 、collagen-1 の messenger RNA 量の増加も肥満細胞欠損モデルマウスでは減少していた。さらに、肥満細胞欠損モデルマウスでは心房細動がコントロールと比較して高血糖時に誘発されにくく、心房伝導時間は延長していなかった。

(2) 実験 2: 高脂肪食における心房細動誘発性に対するレプチン欠損の影響

経食道バーストペースングは、コントロールの高脂肪食マウスで心房細動 (8/8, 100%) を誘発したが、レプチン欠損マウスでは心房細動が誘発される頻度が有意に少なかった (1/8, 12.5%) ( $P < 0.01$ )。単離された心臓において、心房伝導時間はコントロールの高脂肪食マウスにおいて延長されたが、レプチン欠損マウスでは延長されなかった ( $P < 0.05$ )。Masson's trichrome 染色および hydroxyproline assay では、コントロールの高脂肪食マウスにおいて左房の間質線維化を認めたが、レプチン欠損マウスでは観察されなかった ( $P < 0.05$ )。

## (4) 結論

以上の結果から、肥満細胞が炎症および心房の線維化を介して糖尿病における心房細動の出現に関与する、高レプチン血症が高脂肪食による心房の線維化および心房細動発症を誘導することが示唆された。

## (5) 今後の展望

肥満患者では心房細動の発症が多いことが報告されている。今回の研究結果から、その機序として肥満細胞やレプチンによる心房の線維化進展が関与していることが考えられた。これらのシグナル伝達の阻害は、肥満に関連した心房細動を予防するための新規な治療標的になり得ると思われる。さらに、最近我々は心外膜に存在する脂肪組織に着目して実験を行った。この際、心房細動患者における心外膜脂肪組織との心房の心筋線維化の関係を明らかにして、その結果を論文報告した。

以上のこれまで得られた知見を洞結節機能評価に応用することで糖尿病に伴う洞結節機能障害発生のメカニズムを今後明らかにすることができる。そして、そのことが洞不全症候群に対する新たな治療法の開発につながることを期待できるため、今後さらなる研究が望まれる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

1. Abe I, Teshima Y, Kondo H, Kaku H, Kira S, Ikebe Y, Saito S, Fukui A, Shinohara T, Yufu K, Nakagawa M, Hijiya N, Moriyama M, Shimada T, Miyamoto S, Takahashi N. Association of fibrotic remodeling and cytokines/chemokines content in epicardial adipose tissue 2 with atrial myocardial fibrosis in patients with atrial fibrillation. *Heart Rhythm. in press.*  
査読あり

2. Kondo H, Abe I, Gotoh K, Fukui A, Takanari H, Ishii Y, Ikebe Y, Kira S, Oniki T, Saito S, Aoki K, Tanino T, Mitarai K, Kawano K, Miyoshi M, Fujinami M, Yoshimura S, Ayabe R, Okada N, Nagano Y, Akioka H, Shinohara T, Akiyoshi K, Masaki T, Teshima Y, Yufu K, Nakagawa M, Takahashi N. Interleukin 10 Treatment Ameliorates High-Fat Diet-Induced Inflammatory Atrial Remodeling and Fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2018. doi: 10.1161/CIRCEP.117.006040.  
査読あり

3. Shinohara T, Kondo H, Fukui A, Akioka H, Teshima Y, Yufu K, Nakagawa M, Takahashi N. Early repolarization is involved in ventricular fibrillation in patients with variant angina. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2018. doi: 10.1111/pace.13355.  
査読あり

4. Fujinami M, Kondo H, Yufu K, Shinohara T, Ishii Y, Teshima Y, Nakagawa M, Takahashi N. Association between the baseline peripheral blood monocyte counts, the size of spleen, and the response to cardiac resynchronization therapy. *J Cardiol.* 2018;71:299-304.  
査読あり

5. Kondo H, Abe I, Fukui A, Saito S, Miyoshi M, Aoki K, Shinohara T, Teshima Y, Yufu K, Takahashi N. Possible role of rivaroxaban in attenuating pressure-overload-induced atrial fibrosis and fibrillation. *J Cardiol.* 2018;71:310-319.  
査読あり

6. Kondo H, Abe I, Fukui A, Saito S, Miyoshi M, Aoki K, Shinohara T, Teshima Y, Yufu K, Takahashi N. Possible role of rivaroxaban in attenuating pressure-overload-induced atrial fibrosis and fibrillation. *J Cardiol.* 2018. doi: 10.1016/j.jjcc.2017.08.007.  
査読あり

7. Fukui A, Ikebe-Ebata Y, Kondo H, Saito S, Aoki K, Fukunaga N, Shinohara T, Masaki T, Teshima Y, Takahashi N. Hyperleptinemia Exacerbates High-Fat Diet-Mediated Atrial Fibrosis and Fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2017;28:702-710.  
査読あり

8. Shinohara T, Kondo H, Otsubo T, Fukui A, Yufu K, Nakagawa M, Takahashi N. Exaggerated Reactivity of Parasympathetic Nerves Is Involved in Ventricular Fibrillation in J-Wave Syndrome. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2017;28:321-326.  
査読あり

9. Uemura K, Kondo H, Ishii Y, Kobukata M, Haraguchi M, Imamura T, Otsubo T, Ikebe-Ebata Y, Abe I, Ayabe R, Saito S, Aoki K, Nagano-Torigoe Y, Akioka H, Shinohara T, Teshima Y, Masaki T, Yufu K, Nakagawa M, Takahashi N. Mast Cells Play an Important Role in the Pathogenesis of Hyperglycemia-Induced Atrial Fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2016;27:981-9.  
査読あり

[学会発表](計 3 件)

1. Miyoshi M, Kondo H, Kawano K, Ishii Y,

Fujinami M, Imamura T, Ikebe Y, Abe I, Ayabe R, Saito S, Okada N, Nagano Y, Akioka H, Shinohara T, Teshima Y, Yufu K, Nakagawa M, Takahashi N. Left Atrial Low Voltage Zone is Associated with the Serum Inflammatory Cytokine Levels and the Epicardial Adipose Tissue in Patients with Paroxysmal Atrial Fibrillation. Asia Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session/ 日本不整脈心電学会学術大会 2017年9月 横浜

2. Kondo H, Takahashi N, Gotoh K, Fukui A, Saito S, Aoki K, Kume O, Shinohara T, Teshima Y, Saikawa T. Splenectomy Exacerbates Atrial Inflammatory Fibrosis and Vulnerability to Atrial Fibrillation Induced by Pressure Overload in Rats: Possible Role of Spleen-derived Interleukin-10. 日本不整脈心電学会学術大会 2016年7月 札幌

3. Kondo H, Teshima Y, Saito S, Ebata Y, Abe I, Fukui A, Aoki K, Shinohara T, Takahashi N. Interleukin-10 Treatment Attenuates Sinus Node Dysfunction caused by Streptozotocin-induced Hyperglycemia via Suppression of Reactive Oxygen Species in Mice. 日本循環器学会総会学術集会 2015年4月 大阪

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

篠原 徹二 (Shinohara Tetsuji)  
大分大学・医学部・助教

研究者番号：60457629

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

### (3)連携研究者

( )

研究者番号：