

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09115

研究課題名(和文) 心血管病における心臓周囲脂肪ミトコンドリアの役割

研究課題名(英文) Role of epicardial adipose tissue mitochondria in cardiovascular disease

研究代表者

横田 卓 (YOKOTA, TAKASHI)

北海道大学・医学研究院・助教

研究者番号：90374321

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：心臓周囲脂肪(EAT)は異所性脂肪の一種であるが、近年EAT量の増加が冠動脈硬化の重症度と関連があることが報告された。一方、EATの質的变化が冠動脈硬化に及ぼす影響については明らかにされておらず、本研究では心臓手術で採取されるEATを用いて脂肪組織の代謝能などを評価した。非動脈硬化性心疾患患者と比べて冠動脈疾患患者ではEATミトコンドリア呼吸能が低下しており、EAT由来のアディポネクチン産生量と正の相関を、冠動脈疾患の重症度と負の相関を示した。したがって、EATにおけるミトコンドリア機能障害が少なくとも一部はアディポネクチン産生能低下を介して、冠動脈硬化の進行に寄与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Epicardial adipose tissue (EAT), a source of adipokines, is metabolically active. However, the role of EAT mitochondria in coronary artery disease (CAD) has not been established. We investigated the association between mitochondrial function in the EAT and coronary atherosclerosis. EAT samples were obtained from 25 patients who underwent elective cardiac surgery. The patients were divided into CAD (n=14) and non-CAD (n=11) groups. Mitochondrial oxidative phosphorylation (OXPHOS) capacity in the EAT was significantly lowered in CAD patients. The mitochondrial OXPHOS capacity in the EAT was positively correlated to protein content of adiponectin in the EAT, and inversely correlated to severity of coronary artery stenosis. Collectively, the findings of the present study support the hypothesis that impaired mitochondrial respiratory capacity in the EAT plays a crucial role in the progression of coronary atherosclerosis, at least in part via reduced adiponectin synthesis in the EAT.

研究分野：ミトコンドリア生理学

キーワード：心血管病 心臓周囲脂肪 ミトコンドリア

### 1. 研究開始当初の背景

本来脂肪の役割は、アディポサイトカインなどの内分泌機能、エネルギーの貯蓄などの代謝機能、そして臓器の保温、クッションなどの機械的保護作用といわれている。一方、加齢や生活習慣病による脂肪の過剰な蓄積は、『脂肪毒性』として他臓器を傷害しやすくなり、例えば腹部内臓脂肪や筋内脂肪などの異所性脂肪の蓄積はインスリン抵抗性や動脈硬化に関与することが報告されている。

心臓周囲脂肪 (EAT) は、心外膜内で心臓全体の 80%程度を覆っている異所性脂肪の一つであり、心重量の約 20%を占めるといわれている。さらにその大部分は冠動脈周囲に分布しており、なおかつ解剖学的に EAT と心筋・冠動脈との間には線維性被膜のような物質の移動を妨げる境界は存在しないという特徴があり、冠動脈疾患の進展における EAT の役割について近年注目が集まっている。

これまでに冠動脈疾患患者では、EAT の量が増加していることが報告されている。しかし、必ずしも EAT の体積と冠動脈硬化の重症度が相関しているわけではなく、EAT の蓄積のみが冠動脈疾患の進展に寄与するとは考えにくい。一方、EAT は様々な生理活性物質を分泌するホルモン産生臓器であり、EAT の機能的変化が冠動脈硬化に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられる。さらに、ホルモン産生を含む EAT の多様な機能を制御するのはミトコンドリアである。ミトコンドリアはエネルギー産生臓器としてのみならず、活性酸素種 (ROS) の主要な産生源としての役割も担っている。ミトコンドリア機能異常は過剰な ROS 産生につながり、心血管病の発症・進展において重要な役割を果たしていることが知られている。

しかし、EAT におけるミトコンドリア機能解析はこれまでに行われておらず、心血管病の発症・進展におけるミトコンドリアの役割は依然として不明のままである。

### 2. 研究の目的

本研究の主な目的は、『心血管病では、EAT におけるミトコンドリア呼吸能が低下しており、ミトコンドリア機能障害が冠動脈硬化の進行に重要な役割を果たす』という仮説を検証することであった。

### 3. 研究の方法

待機的に開胸心臓手術を受ける患者 25 名のうち、冠動脈バイパス術を受ける冠動脈疾患 (CAD) 患者 14 名、および対照群 (non-CAD 群) として待機的開胸心臓手術を受ける非動脈硬化性心疾患患者 11 名が参加し、心臓手術で採取される EAT を活用し、ミトコンドリア機能解析などを行った。

ミトコンドリア機能解析については、高感度ミトコンドリア呼吸能測定装置 Oxygraph-2k (O2k) を用い、前処置として採

取した EAT にジギトニンを添加し permeabilization を行った後、各種呼吸基質存在下でのミトコンドリア呼吸能を測定した。また、O2k に付属の蛍光吸光度計を用いて、ミトコンドリア由来の ROS 産生量を同時測定した。さらに、EAT の凍結サンプルより、抗動脈硬化作用を有するアディポネクチンの蛋白量を測定した。その他、術前に施行した CT 画像より EAT 体積を計測し、冠動脈造影所見より冠動脈硬化の重症度指標である Gensini スコアを算出した。

### 4. 研究成果

CAD 群では、non-CAD 群と比較して EAT 体積が増加しているのみならず、EAT におけるミトコンドリア呼吸能が有意に低下していた。EAT ミトコンドリア呼吸能は、Gensini スコアと負の相関を呈していた。一方、EAT におけるミトコンドリア由来の ROS 産生量は両群で差がなかった。また、EAT におけるアディポネクチンの蛋白量は CAD 群で有意に低下しており、アディポネクチンの蛋白量は EAT ミトコンドリア呼吸能と正の相関を示した。

以上より、心血管病患者では、EAT ミトコンドリア機能が低下していたが、EAT ミトコンドリア由来の ROS 産生量には変化がなかった。EAT ミトコンドリア機能障害は、少なくとも一部は EAT からのアディポネクチン産生能低下を介して、冠動脈硬化の進行に寄与している可能性が示唆された。

### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 18 件)

1. Thomsen K, Yokota T, Hasan-Olive MM, Sherazi N, Fakouri NB, Desler C, Regnell CE, Larsen S, Rasmussen LJ, Dela F, Bergersen LH, Lauritzen M: Initial brain aging: heterogeneity of mitochondrial size is associated with decline in complex I-linked respiration in cortex and hippocampus. *Neurobiol Aging* 61, 215-224, 2018 【査読あり】
2. Shingu Y, Yokota T, Takada S, Niwano H, Ooka T, Katoh H, Tachibana T, Kubota S, Matsui Y. Decreased gene expression of fatty acid binding protein 3 in the atrium of patients with new onset of atrial fibrillation in cardiac perioperative phase. *J Cardiol* 71, 65-70, 2017 【査読あり】
3. Jespersen NR, Yokota T, Støttrup NB, Bergdahl A, Paelestik KB, Povlsen JA, Dela F, Bøtker HE: Pre-ischemic mitochondrial substrate constraint by inhibition of malate-aspartate shuttle preserves mitochondrial function after ischemia-reperfusion. *J Physiol* 595, 3765-3780, 2017 【査読あり】
4. Yokota T, Kinugawa S, Hirabayashi K,

- Suga T, Takada S, Omokawa M, Kadoguchi T, Takahashi M, Fukushima A, Matsushima S, Yamato M, Okita K, Tsutsui H: Pioglitazone improves whole-body aerobic capacity and skeletal muscle energy metabolism in patients with metabolic syndrome. *J Diabetes Invest* 4, 535-541, 2017 【査読あり】
5. Furihata T, Kinugawa S, Matsushima S, Takada S, Fukushima A, Takahashi M, Tsuda M, Matsumoto J, Homma T, Masaki Y, Yokota T, Tsutsui H: The experimental model of transition from compensated cardiac hypertrophy to failure created by transverse aortic constriction in mice. *IJC Heart & Vasculature* 11, 24-28, 2016【査読あり】
  6. Mizushima W, Takahashi H, Watanabe M, Kinugawa S, Matsushima S, Takada S, Yokota T, Furihata T, Matsumoto J, Tsuda M, Chiba I, Nagashima S, Yanagi S, Matsumoto M, Nakayama KI, Tsutsui H, Hatakeyama S. The novel heart-specific RING finger protein 207 is involved in energy metabolism in cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 100, 43-53. 2016 【査読あり】
  7. Takada S, Masaki Y, Kinugawa S, Matsumoto J, Furihata T, Mizushima W, Kadoguchi T, Fukushima A, Homma T, Takahashi M, Harashima S, Matsushima S, Yokota T, Tanaka S, Okita K, Tsutsui H. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor improved exercise capacity and mitochondrial biogenesis in mice with heart failure via activation of GLP-1 receptor signaling. *Cardiovasc Res* 111, 338-347, 2016 【査読あり】
  8. Matsushima S, Kuroda J, Zhai P, Liu T, Ikeda S, Nagarajan N, Oka S, Yokota T, Kinugawa S, Hsu CP, Li H, Tsutsui H, Sadoshima J: Fyn is a physiological regulator of Nox4 in the heart. *J Clin Invest* 126, 3403-3416, 2016 【査読あり】
  9. Furihata T, Kinugawa S, Fukushima A, Takada S, Homma T, Masaki Y, Abe T, Yokota T, Oba K, Okita K, Tsutsui H. Serum myostatin levels are independently associated with skeletal muscle wasting in patients with heart failure. *Int J Cardiol* 220, 483-487, 2016 【査読あり】
  10. Fukushima A, Kinugawa S, Takada S, Matsumoto J, Furihata T, Mizushima W, Tsuda M, Yokota T, Matsushima S, Okita K, Tsutsui H: Direct renin inhibitor ameliorates insulin resistance by improving insulin signaling and oxidative stress in the skeletal muscle from post-infarct heart failure in mice. *Eur J Pharmacol* 779, 147-156, 2016 【査読あり】
  11. Christiansen LB, Dela F, Koch J, Leifsson PS, Yokota T: Impaired cardiac mitochondrial oxidative phosphorylation and enhanced mitochondrial oxidative stress in feline hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 308, H1237-1247, 2015 【査読あり】
  12. Gram M, Vigelsø A, Yokota T, Helge JW, Dela F, Hey-Mogensen M: Skeletal muscle mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> emission increases with immobilization and decreases after aerobic training in young and older men. *J Physiol* 593, 4011-4027, 2015 【査読あり】
  13. Christiansen LB, Dela F, Koch J, Yokota T: Tissue-specific and substrate-specific mitochondrial bioenergetics feline cardiac and skeletal muscle. *J Vet Med Sci* 77, 669-675, 2015 【査読あり】
  14. Fukushima A, Kinugawa S, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Yokota T, Matsushima S, Takada S, Kadoguchi T, Oba K, Okita K, Tsutsui H: Serum brain-derived neurotrophic factor level predicts adverse clinical outcomes in patients with heart failure. *J Card Fail* 21, 300-306, 2015 【査読あり】
  15. Takada S, Kinugawa S, Matsushima S, Takemoto D, Furihata T, Mizushima W, Fukushima A, Yokota T, Ono Y, Shibata H, Okita K, Tsutsui H: Sesamin prevents decline in exercise capacity and impairment of skeletal muscle mitochondrial function in mice with high-fat diet-induced diabetes. *Exp Physiol* 100, 1319-1330, 2015 【査読あり】
  16. Takahashi M, Kinugawa S, Takada S, Hirabayashi K, Yokota T, Matsushima S, Saito A, Okita K, Tsutsui H: Low-intensity exercise under ischemic conditions enhances metabolic stress in patients with heart failure. *Int J Cardiol* 201, 142-144, 2015 【査読あり】
  17. Nishikawa M, Ishimori N, Takada S, Saito A, Kadoguchi T, Furihata T, Fukushima A, Matsushima S, Yokota T, Kinugawa S, Tsutsui H: AST-120 ameliorates lowered exercise capacity and mitochondrial biogenesis in the skeletal muscle from mice with chronic kidney disease via reducing

oxidative stress. *Nephrol Dial Transplant* 30, 934-942, 2015【査読あり】

18. Kadoguchi T, Kinugawa S, Takada S, Fukushima A, Furihata T, Homma T, Masaki Y, Mizushima W, Nishikawa M, Takahashi M, Yokota T, Matsushima S, Okita K, Tsutsui H: Angiotensin II can directly induce mitochondrial dysfunction, decrease oxidative fibre number and induce atrophy in mouse hindlimb skeletal muscle. *Exp Physiol* 100, 312-322, 2015【査読あり】

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Nakajima T. Coronary atherosclerosis is associated with mitochondrial dysfunction in epicardial adipose tissue. The 82th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society Young Investigator's Award Finalists Lectures (2018).
2. Nakajima T, Yokota T, Shingu Y, Yamada A, Iba Y, Ujihira Y, Wakasa S, Ooka T, Takada S, Shirakawa R, Furihata T, Tsuda M, Matsumoto J, Katayama T, Fukushima A, Matsui Y, Kinugawa S. Mitochondrial dysfunction in epicardial adipose tissue is associated with coronary atherosclerosis. The 81th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (2017).
3. Nakajima T, Yokota T, Shingu Y, Yamada A, Iba Y, Ujihira Y, Takada S, Shirakawa R, Furihata T, Tsuda M, Matsumoto J, Katayama T, Fukushima A, Matsui Y, Kinugawa S. Mitochondrial dysfunction in epicardial adipose tissue; possible role in progression of coronary artery disease. The European Society of Cardiology Congress 2017 (2017).
4. Nakajima T, Yokota T, Shingu Y, Yamada A, Iba Y, Ujihara K, Miura S, Takada S, Shirakawa R, Furihata T, Tsuda M, Matsumoto J, Katayama T, Fukushima A, Saito A, Matsui Y, Kinugawa S. Coronary artery stenosis is associated with mitochondrial dysfunction in epicardial adipose tissue. American Heart Association Scientific Session 2017 (2017).
5. Nakajima T, Yokota T, Singu Y, Yamada A, Iba Y, Ujihara K, Takada S, Shirakawa R, Furihata T, Tsuda M, Matsumoto J, Katayama T, Fukushima A, Matsui Y, Kinugawa S. Mitochondrial dysfunction in epicardial adipose tissue from patients

with coronary artery disease. The 34th Annual Meeting of the International Society for Heart Research Japanese Section (2017).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

該当なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

横田 卓 (YOKOTA, Takashi)

北海道大学・医学研究院・助教

研究者番号：90374321

(2)研究分担者

筒井 裕之 (TSUTSUI, Hiroyuki)

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：70264017

絹川 真太郎 (KINUGAWA, Shintaro)

北海道大学・医学研究院・講師

研究者番号：60399871

松島 将士 (MATSUSHIMA, Shouji)

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：80552869

(3)連携研究者

該当なし

(4)研究協力者

該当なし