

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06222・19K21324

研究課題名（和文）糖尿病性心筋症進展における酸化ステロール蓄積の影響の解明

研究課題名（英文）Elucidation of Effects of Oxidized Sterol Accumulation on the Progression of Diabetic Cardiomyopathy

研究代表者

岡田 健志（Okada, Takeshi）

大阪大学・医学系研究科・寄附講座助教

研究者番号：20750136

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：糖尿病性心筋症進展のメカニズムとして、微量の食餌由来酸化ステロールが長期間吸収されることで、心筋組織に及ぼす影響を検討することが本研究の目的である。酸化ステロール添加食・非添加食を作成し、ストレプトゾトシン誘導糖尿病ラットに16週間食餌させたところ、酸化ステロール添加食群では超高磁場心臓MRIにて左室ストレイン値低値を認め、局所心筋機能障害が示唆された。更に心臓での炎症性サイトカインのmRNA発現は亢進しており、心筋組織への炎症細胞の浸潤を認めた。今後、酸化ステロールの心筋組織への局在評価を行い、免疫系細胞やミトコンドリア機能に着目したメカニズム解明を継続する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦において糖尿病患者数は増加の一途を辿っている。糖尿病の合併により心不全発症リスクは高まるが、その前段階として心筋肥大や拡張機能不全を特徴とする糖尿病性心筋症がある。しかしこれまで、糖尿病性心筋症において何が増悪因子なのか、どの病態を改善すれば進展を阻止できるのか、詳細な分子メカニズムは明らかでない。糖尿病では腸管の脂質吸収が亢進しており、食事由来成分である酸化ステロールが糖尿病性心筋症を進展させる可能性を着想し、動物モデルを用いて再現した。酸化ステロールの新たなエビデンスが集積されることで、酸化ステロールに対する介入という新規治療法の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to investigate the effect of long-term absorption of a small amount of dietary oxidized sterols on myocardial tissue as a mechanism for the development of diabetic cardiomyopathy. We have prepared diets with and without oxidized sterols and fed them to streptozotocin-induced diabetic rats for 16 weeks. The rats fed the diet with oxidized sterols showed lower value of left ventricular strain on cardiac MRI, suggesting regional myocardial dysfunction. Moreover, mRNA expression of inflammatory cytokines was enhanced in the heart, and infiltration of inflammatory cells into myocardial tissue was observed in these rats. We will continue to evaluate the localization of oxidized sterols in myocardial tissue and elucidate the mechanism focusing on immune system cells or mitochondrial function.

研究分野：動脈硬化や心筋症における脂質代謝の役割

キーワード：糖尿病性心筋症 酸化ステロール ミトコンドリア機能障害 心不全

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病と心不全は密接な関係があることが知られており、糖尿病患者の心不全発症率は非糖尿病患者に比べて有意に高く、また生命予後も有意に不良であることが国内外で広く報告されている。糖尿病性心筋症は糖尿病性心不全の前段階と考えられ、心筋肥大や拡張機能不全を特徴とする。糖尿病性心筋症の段階で、増悪因子の測定や画像での診断を行い、早期介入できれば、糖尿病性心不全への進展を阻止できる可能性がある。一方、最近 2 型糖尿病患者に対して実施された EMPA-REG OUTCOME 試験・CANVAS 試験において、sodium/glucose cotransporter 2 (SGLT-2) 阻害薬は一次評価項目である主要心血管イベント (MACE) の抑制に加え、心不全による入院を減少させた。心不全を抑制したメカニズムとして、利尿仮説 ケトン体利用仮説 ナトリウムポンプ仮説が想定されている (*Cardiovasc Res.* 2018; 114: 12-18)。しかし、糖尿病性心筋症において何が増悪因子か、どの病態を改善すれば糖尿病性心筋症への進展を阻止できるのか、詳細な分子機構は明らかでない。

### 2. 研究の目的

糖尿病の病態は、遺伝要因だけでなく環境要因に大きく影響される。そのうち食事由来の成分が糖尿病性心筋症の進展に寄与する因子になり得るとの仮説を立てた。糖尿病では腸管の脂質吸収が亢進していることから、申請者は食事に含まれる酸化ステロールが糖尿病性心筋症を進展させる可能性を着想した。酸化ステロールには、体内で内因性に合成されるものと、食事のコレステロールの自然酸化や電子レンジ加熱により生成される外因性のものがある。外因性の酸化ステロールのトランスポーターは一部の組織でのみ発現しているが、心筋細胞には発現しておらず、一度取り込まれると徐々に蓄積する。腸管の脂質吸収が亢進する糖尿病患者では血清中の酸化ステロール濃度は有意に高いことが近年報告されており (*J Endocrinol Invest.* 2018) 食事に含まれる酸化ステロールが心筋細胞内に蓄積することで糖尿病性心筋症の進展に寄与するとの仮説を立てた。糖尿病性心筋症の増悪因子として酸化ステロールが関与している可能性について、動物モデルを用いて検討し、病態進展における酸化ステロール蓄積の役割を明らかにすることを本研究の目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 8 週齢の野生型ラット (Wistar ラット) にストレプトゾトシン (STZ) 腹腔内投与 (50mg/kgBW) を行い、STZ 誘導糖尿病ラットを作成する。

(2) 以下の 2 種類の特殊飼料を作成する。

コントロール食：糖尿病誘導食 (コレステロール比 1% (w/w))

酸化ステロール添加食：コントロール食に更に酸化ステロールを 0.01% (w/w) 加えたもの  
STZ 誘導糖尿病ラットにこれらの特殊飼料を 16 週間食餌させ、心臓超音波検査による経時的な心機能評価を行う。更に 16 週間の食餌投与後に超高磁場心臓 MRI による心機能評価を行う。

(3) 血清・心臓中の蛋白・mRNA の定量、心筋組織像の観察を行う

### 4. 研究成果

(1) 8 週齢の野生型ラット (Wistar ラット) に STZ の腹腔内投与 (50mg/kgBW) を行った後、10 週齢にて血糖値の上昇を確認し、STZ 誘導糖尿病ラットを作成した。その後 16 週間飼育し、定期的な心臓超音波検査の実施したところ、STZ 誘導糖尿病ラットでは野生型ラットに比し、左室収縮機能指標である左室駆出率に差を認めなかったが、拡張機能指標である僧帽弁口血流速波形のうち拡張早期波 (E 波) の低下を認めた。またマッソントリクロム染色にて心筋組織の線維化が進行していることを確認した。

(2)上記方法により STZ 誘導糖尿病ラットを作成し、コントロール食ないし酸化ステロール添加食を 16 週間食餌させた。心臓超音波検査による経時的な心機能評価を行ったが、左室収縮機能指標である左室駆出率、拡張機能指標である僧帽弁口血流速波形ともに、コントロール食群と酸化ステロール添加食群で有意な差を認めなかった。一方で、16 週間の食餌投与後に実施した超高磁場心臓 MRI において、両群間で左室駆出率に有意な差を認めなかったが、酸化ステロール添加食群で左室ストレイン値 (global longitudinal strain : GLS) が低値となっており、局所心筋機能障害の可能性が示唆された。

(3) STZ 誘導糖尿病ラットに 16 週間食餌させ心臓 MRI を撮像した後、各検体を採取した。両群間で心重量や肺重量に有意な差はみられなかった。一方、酸化ステロール添加食群において、心臓での炎症性サイトカインの mRNA 発現は亢進しており、更に心筋組織への炎症細胞浸潤を認めた。2020 年度以降も文部科学省若手研究において解析を進め、心筋組織での酸化ステロールの局在の評価を行うとともに、ミトコンドリア機能や T 細胞などの免疫系細胞への影響も評価していく予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakatani Kazuhiro, Masuda Daisaku, Kobayashi Takuya, Sairyo Masami, Zhu Yinghong, Okada Takeshi, Naito Atsuhiko T., Ohama Tohru, Koseki Masahiro, Oka Toru, Akazawa Hiroshi, Nishida Makoto, Komuro Issei, Sakata Yasushi, Yamashita Shizuya	4. 巻 60
2. 論文標題 Pressure Overload Impairs Cardiac Function in Long-Chain Fatty Acid Transporter CD36-Knockout Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Heart Journal	6. 最初と最後の頁 159 ~ 167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1536/ihj.18-114	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okada Takeshi, Ohama Tohru, Takafuji Kazuaki, Kanno Kotaro, Matsuda Hibiki, Sairyo Masami, Zhu Yinghong, Saga Ayami, Kobayashi Takuya, Masuda Daisaku, Koseki Masahiro, Nishida Makoto, Sakata Yasushi, Yamashita Shizuya	4. 巻 13
2. 論文標題 Shotgun proteomic analysis reveals proteome alterations in HDL of patients with cholesteryl ester transfer protein deficiency	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Lipidology	6. 最初と最後の頁 317 ~ 325
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jacl.2019.01.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu Jingyi, Nishida Makoto, Inui Hiroyasu, Chang Jiuyang, Zhu Yinghong, Kanno Kotaro, Matsuda Hibiki, Sairyo Masami, Okada Takeshi, Nakaoka Hajime, Ohama Tohru, Masuda Daisaku, Koseki Masahiro, Yamashita Shizuya, Sakata Yasushi	4. 巻 26
2. 論文標題 Rivaroxaban Suppresses the Progression of Ischemic Cardiomyopathy in a Murine Model of Diet-Induced Myocardial Infarction	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 915 ~ 930
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.48405	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Zhu Yinghong, Ohama Tohru, Kawase Ryota, Chang Jiuyang, Inui Hiroyasu, Kanno Kotaro, Okada Takeshi, Masuda Daisaku, Koseki Masahiro, Nishida Makoto, Sakata Yasushi, Yamashita Shizuya	4. 巻 138
2. 論文標題 Progranulin deficiency leads to enhanced age-related cardiac hypertrophy through complement C1q-induced -catenin activation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Molecular and Cellular Cardiology	6. 最初と最後の頁 197 ~ 211
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yjmcc.2019.12.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Takeshi Okada, Tohru Ohama, Mitsuyo Okazaki, Hiroyasu Inui, Kotaro Kanno, Hibiki Matsuda, Yinghong Zhu, Masahiro Koseki, Makoto Nishida, Yasushi Sakata, Shizuya Yamashita
2. 発表標題 Lipoprotein Particle Number Analysis of Detailed Subclasses by Gel Permeation HPLC
3. 学会等名 American Heart Association 2018 Scientific Sessions (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takeshi Okada, Tohru Ohama, Ayami Saga, Hiroyasu Inui, Kotaro Kanno, Masahiro Koseki, Makoto Nishida, Yasushi Sakata, Shizuya Yamashita
2. 発表標題 Development and Clinical Application of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Oxidized High Density Lipoprotein
3. 学会等名 American College of Cardiology 2020 World Congress of Cardiology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takeshi Okada, Tohru Ohama, Hiroyasu Inui, Kotaro Kanno, Hibiki Matsuda, Masahiro Koseki, Makoto Nishida, Yasushi Sakata, Shizuya Yamashita
2. 発表標題 Establishment of an Enzyme-linked Immunosorbent Assay for Oxidized High Density Lipoprotein and Its Clinical Significance for Cardiovascular Risk Assessment
3. 学会等名 第83回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田健志、小関正博、西田誠、冠野昂太郎、乾洋勉、嵯峨礼美、朝治真澄、大濱透、服部浩明、山下静也、坂田泰史
2. 発表標題 当科脂質外来における家族性高コレステロール血症診療の現状
3. 学会等名 第51回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeshi Okada, Shizuya Yamashita, Tohru Ohama, Hiroyasu Inui, Kotaro Kanno, Masahiro Koseki, Makoto Nishida, Yasushi Sakata
2. 発表標題 Development of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Oxidized High Density Lipoprotein and Its Clinical Application for Cardiovascular Risk Assessment
3. 学会等名 第3回日本循環器学会基礎研究フォーラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeshi Okada, Masahiro Koseki, Kotaro Kanno, Hiroyasu Inui, Jiuyang Chang, Yinghong Zhu, Ayami Saga, Masumi Asaji, Tohru Ohama, Makoto Nishida, Shizuya Yamashita, Yasushi Sakata
2. 発表標題 Prevalence of Coronary Artery Disease and Achievement of Low-density Lipoprotein Cholesterol Management Targets in Familial Hypercholesterolemia Patients at Osaka University Hospital
3. 学会等名 第36回国際心臓研究学会日本部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田健志、大濱透、乾洋勉、冠野昂太郎、小関正博、西田誠、山下静也、坂田泰史
2. 発表標題 コレステリルエステル転送蛋白(CETP)欠損症リポ蛋白の動脈硬化惹起性に関する検討
3. 学会等名 第54回日本成人病（生活習慣病）学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡田健志、小関正博、西田誠、冠野昂太郎、乾洋勉、嵯峨礼美、大濱透、山下静也、坂田泰史
2. 発表標題 当科脂質外来における家族性高コレステロール血症診療の現状
3. 学会等名 第54回日本成人病（生活習慣病）学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----