

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：13401
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22590972
 研究課題名（和文）糖尿病性心筋症の発症機序における脂肪分化関連蛋白（ADRP）の機能解析
 研究課題名（英文）Function of ADRP in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy
 研究代表者
 鈴木 仁弥（SUZUKI JINYA）
 福井大学・医学部・助教
 研究者番号：20293417

研究成果の概要（和文）：

糖尿病性心筋症は心筋細胞内に脂肪が蓄積して心機能障害をきたす合併症である。心筋の脂肪滴表面に局在する脂肪滴関連蛋白 ADRP の病態生理的機能を、心筋特異的 ADRP 過剰発現マウス(Tg)と全身性 ADRP 欠損マウス(KO)を糖尿病化して解析した。Tg マウスの心筋では著明な脂肪滴の蓄積を認めたが、糖尿病化しても心収縮能は低下せず、糖尿病に伴う遺伝子変化は抑制された。糖尿病 KO マウスの心収縮能は野生型と同等であった。心筋 ADRP は糖尿病状態で心筋を脂肪毒性から保護する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Function of cardiac ADRP, a lipid-droplet associated protein, was analyzed in a diabetic mouse model. Cardiac-specific ADRP-overexpressing (Tg) mice, global ADRP-KO mice (KO) and wildtype (Wt) littermates were treated with streptozotocin to induce diabetes. Despite massive lipid accumulation, systolic function was maintained in diabetic Tg mice with ameliorated diabetic gene expression profile. Packaging excess fatty acids into lipid droplets, cardiac ADRP might play a role in protecting cardiomyocytes against lipotoxicity in diabetes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：糖尿病性心筋症 脂肪毒性 脂肪滴 エネルギー代謝

1. 研究開始当初の背景

糖尿病性心筋症は糖尿病患者に普遍的に潜在し、患者の生命予後に大きな影響を与える。その発症過程において、心筋細胞内の脂肪滴蓄積とそこから放出される脂肪酸による脂肪毒性が重要な役割を果たす。Adipose Differentiation-Related Protein (ADRP) は脂肪滴表面に局在する蛋白で心筋にも発現するが、その役割は明らかでない。

我々は、絶食時に認められる生理的な心筋細胞内脂肪蓄積において ADRP 蛋白発現は増加するが、糖尿病状態で認められるに脂肪蓄積では逆に ADRP 発現が低下することを発見した。しかし現段階では心筋 ADRP の病態生理的機能はほとんど解明されていない。

2. 研究の目的

本研究では心筋 ADRP が糖尿病性心筋症の発症過程においてどのような役割を果たしているかを探求するため、糖尿病化した心筋 ADRP 過剰発現/欠損マウスを用いて以下の実験を遂行する。

3. 研究の方法

我々が作製した心筋特異的 ADRP 過剰発現トランスジェニックマウス(Tg)、野生型マウス(Wt) (図 1)、および全身性 ADRP 欠損マウス(KO)にストレプトゾトシン(STZ)を腹腔内投与して糖尿病を誘発し、心筋症の発症する 3-4 週後に以下の実験を施行した。

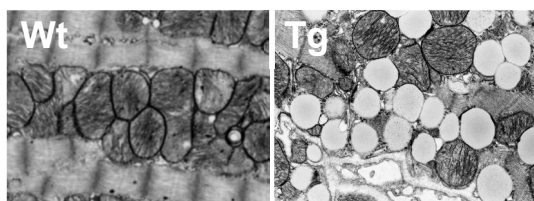


図 1. ADRP-Tg マウス心筋の脂肪滴蓄積。(電子顕微鏡所見).

- (1) 心臓超音波による心機能解析。
- (2) 心筋線維化の組織学的検討：Sirius red によりコラーゲンを染色し、心筋線維化を解析する。
- (3) 心筋コラーゲン含量の定量。
- (4) 遺伝子発現解析：マイクロアレイ

(Affymetrix)と qRT-PCR を用いて解析する。
(5) 圧トランスデューサー付カテーテルを用いた心機能解析。

4. 研究成果

(1) 心エコーによる心機能解析

糖尿病化により心収縮能 (Fractional shortening) は Tg, Wt ともに 25-30% 低下した。(図 2)

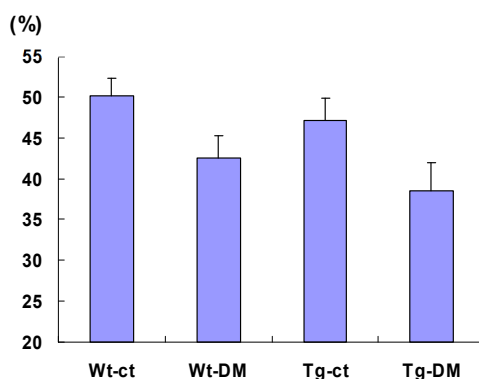


図 2. Fractional shortening.

(2) 心筋間質の線維化

Tg マウスの心筋では、著明な脂肪滴蓄積にも拘わらず、糖尿病に伴う心筋間質の線維化は非糖尿病マウスと同程度に止まった (図 3)。KO マウス心筋の線維化は、糖尿病、非糖尿病状態共 Wt と同程度であった。

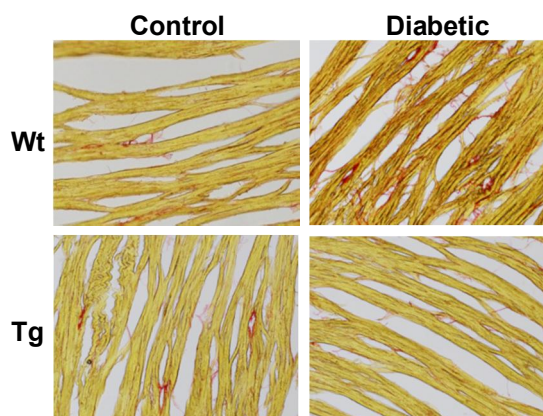


図 3. 心筋間質の線維化(Sirius red 染色).

(3) 心筋コラーゲン含量

心筋の新生コラーゲン量は、糖尿病化により Wt で 80% 増加したが、Tg では 30% の増加に止まった (図 4)。

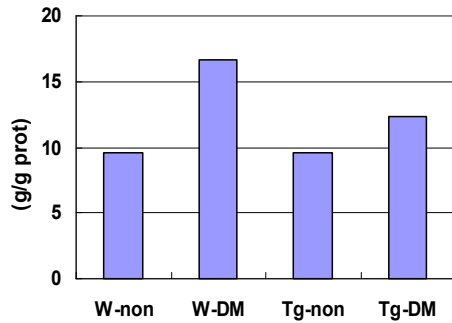


図 4. 心筋新生コラーゲン量.

(4) 遺伝子発現解析

非糖尿病状態で、Tg 心筋では Wt 心筋に比較して脂肪酸反応遺伝子 (mitHMG-CoA synthase, ADH-1, Nur77/N10) と Collagen XI の発現は低下し、心筋障害マーカー (ANP, BNP, NOX4, TNF- α) は変化を認めなかった。この結果より Tg 心筋細胞内の脂肪酸暴露は Wt と比較して減少している可能性が示唆された。

また、糖尿病誘発により Wt 心筋で 810 個、Tg 心筋で 1141 個の遺伝子発現が 2 倍以上変化した。KEGG pathway 頻度解析の結果、Wt で糖尿病化に伴い、PPAR signaling, Ca signaling, 拡張型心筋症など 17 pathway の遺伝子群が有意に変化した。Tg 心筋では、2 pathway のみ変化したことから、ADRP 過剰発現が糖尿病に伴う遺伝子変化を抑制する可能性が示唆された。

(5) 圧トランスデューサー付カテーテルを用いた心機能解析

心電図において Tg マウスは Wt と比較して心拍数の低下が認められた (HR 405 bpm vs 476 bpm)。左心室内圧測定による左心機能解析の結果、Tg, KO とも心収縮力は糖尿病化しても Wt 心筋と同等であった。

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 3 件)

1. Kimura T, Suzuki J, Ichikawa M, Imagawa M, Sato S, Fujii M, Zenimaru Y, Inaba S, Takahashi S, Konoshita T, Miyamori I. Differential effects of α -glucosidase inhibitors on postprandial plasma glucose and lipid profile in patients with type 2 diabetes under control with insulin lispro mix 50/50. *Diabetes Technol Ther*

14:545-551, 2012. doi: 10.1089/dia.2012.0015. (査読有)

2. Imagawa M, Takahashi S, Zenimaru Y, Kimura T, Suzuki J, Miyamori I, Iwasaki T, Hattori H, Yamamoto TT, Nakano T, Nakajima K. Comparative reactivity of remnant-like lipoprotein particles (RLP) and low-density lipoprotein (LDL) to LDL receptor and VLDL receptor: effect of a high-dose statin on VLDL receptor expression. *Clin Chim Acta* 413:441-447, 2012. doi: 10.1016/j.cca.2011.10.033. (査読有)

3. Takahashi S, Ito T, Zenimaru Y, Suzuki J, Miyamori I, Takahashi M, Takahashi M, Ishida T, Ishida T, Hirata K, Yamamoto TT, Iwasaki T, Hattori H, Shiomi M. Species differences of macrophage very low-density lipoprotein (VLDL) receptor protein expression. *Biochem Biophys Res Commun* 407:656-662, 2011. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.03.069. (査読有)

[学会発表] (筆頭演者のみ抜粋, 計 26 件)

(国際学会)

1. Suzuki J, Yamada M, Ichikawa M, Imagawa M, Sato S, Zenimaru Y, Takahashi S. Cardiac lipid accumulation and gene expression profile in response to streptozotocin-diabetes. 9th IDF-WPR Congress & 4th AASD Scientific Meeting (2012.11.25, Kyoto, Japan).
2. Suzuki J, Ueno M, Ichikawa M, Imagawa M, Sato S, Zenimaru Y, Koizumi T, Ikuyama S, Takahashi S. Microarray analysis of diabetic gene expression profile in mouse heart overexpressing adipose differentiation-related protein (ADRP). 48th EASD Annual Meeting. (2012.10.3, Berlin, Germany).
3. Suzuki J, Kimura T, Ichikawa M, Imagawa M, Takahashi S, Ikuyama S, Koizumi T, Ueno M, Kraemer FB, Miyamori I: Function of cardiac adipose differentiation-related protein (ADRP) in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy. 47th EASD Annual Meeting, (2011.9.15, Lisbon, Portugal).

(国内学会)

4. Suzuki J, Ichikawa M, Sato S, Imagawa M, Zenimaru M, Takahashi S. Effect of adipose differentiation-related protein (ADRP)

overexpression on diabetic gene expression profile in mouse heart. 第44回日本動脈硬化学会総会・学術集会(2012.7.19, 福岡).

5. 鈴木仁弥, 市川麻衣, 木村朋子, 今川美智子, 佐藤さつき, 銭丸康夫, 高橋貞夫, 生山祥一郎, 宮森 勇. 糖尿病に伴う心筋遺伝子発現に対する Adipose Differentiation-Related Protein (ADRP) 発現の影響. 第55回日本糖尿病学会年次学術集会. (2012.5.18, 横浜).
6. Suzuki J, Ichikawa M, Kimura T, Imagawa M, Takahashi S, Miyamori I: Role of cardiac adipose differentiation-related protein (ADRP) in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy. 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会. (2011.7.15, 札幌).
7. 鈴木 仁弥, 市川 麻衣, 木村 朋子, 今川 美智子, 高橋 貞夫, 生山 祥一郎, 宮森 勇: 糖尿病性心筋症の発症過程における Adipose Differentiation-Related Protein (ADRP) の機能, 第54回日本糖尿病学会年次学術集会. (2011.5.20, 札幌).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 仁弥 (SUZUKI JINYA)
福井大学・医学部・助教
研究者番号: 20293417

(2) 研究分担者

高橋 貞夫 (TAKAHASHI SADAŌ)
福井大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 50303376

小泉 勤 (KOIZUMI TSUTOMU)
福井大学・ライフサイエンス支援センター・准教授
研究者番号: 40126579

弘瀬 雅教 (HIROSE MASAMICHI)
岩手医科大学・薬学部・教授
研究者番号: 40273081