

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461124

研究課題名(和文)高脂肪低炭水化物食による心不全改善効果の検討：心機能と心筋代謝への影響の解明

研究課題名(英文)The effect of high-fat low-carbon diet on cardiac function and metabolism

研究代表者

東口 治弘 (Toko, Haruhiro)

東京大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：40436358

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：病的心では、心機能を改善するために各心筋細胞は仕事量を増加させる。そのため心筋細胞あたりの必要エネルギー量は増すが、病的心筋細胞ではそれを賄うだけのエネルギー創出ができない。高脂肪低炭水化物食(HFLC)は脂質代謝の再活性化によりエネルギー産生量を増加させると報告されている。本研究では心肥大モデルマウスにHFLCを与え、エネルギー産生が増加し心機能が保持できるか検討した。HFLCにより予想に反しエネルギー産生は低下したが、心肥大は抑制され、心機能は保持された。現在そのメカニズムの解明に取り組んでいる。

研究成果の概要(英文)：In a failing heart, a workload of each cardiomyocyte is increased to recover cardiac function. Although the increase requires more energy, failing cardiac cells are reported not to produce enough energy. High fat diet is reported to reactivate lipid metabolism and increase energy production. So, we examined whether high fat low carbon (HFLC) diet could preserve cardiac function in murine failing models via an increase of energy production. Our results showed that HFLC did not increase energy production, but HFLC decreased cardiac hypertrophy in a pressure-overload model and preserved cardiac function in a dilated cardiomyocyte model. We are studying mechanisms of how HFLC keeps cardiac function under pathological conditions.

研究分野：循環器内科

キーワード：高脂肪低炭水化物食 心肥大 心不全

1. 研究開始当初の背景

心不全は心臓のポンプ機能の低下により全身に必要な量の血液が供給できない状態であり、虚血性心疾患、高血圧性心疾患、弁膜症、拡張型心筋症などあらゆる心疾患の終末像である。これまでにアンジオテンシン変換酵素阻害薬や β 遮断薬などの薬物療法の開発により心不全患者の予後は改善したが、未だ重症心不全の予後は非常に悪く最終的な治療法は心移植しかない。移植心に限りがある以上、心不全の発症予防や進展抑制のための新たな治療法の開発が望まれる。

正常心筋細胞では主に脂質代謝によりエネルギーが産生されるが、肥大大心や不全心などの病的心では糖代謝が主なエネルギー産生経路となる。この代謝経路の変化は低酸素状態にある心筋細胞がより少ない酸素量でエネルギーを産生するための適応反応と考えられる。しかし糖代謝は脂質代謝と比較しエネルギー産生量が少なく、糖代謝の持続は心筋細胞の慢性的なエネルギー不足をもたらすと考えられる。実際に不全心筋ではエネルギー産生量の低下が報告されている。不全心筋のエネルギー不足はさらなる心機能不全をもたらすと考えられ、心不全の発症と悪化を防ぐためにエネルギー産生量を増加させることが新たな治療法になりうると考える。

心筋細胞の主なエネルギー源は炭水化物(糖)と脂質である。高炭水化物食は高インスリン状態となり心肥大を誘導する。心肥大は心不全の独立した危険因子であり、実際高炭水化物食を負荷したマウスでは心機能が低下し生命予後が悪化する。一方、高脂肪低炭水化物食は心筋細胞の脂肪酸代謝を亢進させることが知られている。しかし、高脂肪低炭水化物食は心疾患、特に虚血性心疾患の予後を悪化させると考えられてきた。そのためこれまで心疾患の治療食として高脂肪低炭水化物食を用いた研究はほとんどない。確かに飽和脂肪酸は心筋細胞に蓄積し心毒性を来すとの報告があるが、EPAやDHAなどの多価不飽和脂肪酸は心不全患者の予後を改善するとの報告もあり、脂質組成次第ではむしろ心臓保護に作用する。高脂肪低炭水化物食によりエネルギー産生量の多い脂質代謝を亢進させることで、心筋細胞におけるエネルギー産生量を増加出来ることが期待できる。エネルギー産生量の増加が心機能の改善さらに心不全の発症、進展の抑制に結びつく可能性があり、高脂肪低炭水化物食は心不全の治療食となり得ると考える。

2. 研究の目的

心不全発症マウスに高脂肪低炭水化物食を負荷することによりエネルギー産生量を増加させ、心機能改善さらに心不全の発症、進展

の抑制が可能か明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 高脂肪低炭水化物食

高脂肪低炭水化物食には炭水化物 12%、脂肪 59%、蛋白 29%の組成の餌を用意した。対照食は、炭水化物 59%、脂肪 12%、蛋白 29%の組成の餌を用いた。

(2) 動物実験

本研究には心肥大モデルマウスと拡張型心筋症モデルマウスを用いた。

① 心肥大モデルマウス

C57BL/6 マウスの弓部大動脈を縮窄し、心肥大モデルを作成した。術直後から高脂肪低炭水化物食を開始し、高脂肪低炭水化物食による心肥大への影響を検討した。術後 4 週目で心エコー検査施行後、心臓を摘出した。

② 拡張型心筋症モデルマウス

ヒト拡張型心筋症の原因遺伝子である心筋 α アクチン遺伝子の変異遺伝子を心臓特異的に過剰発現させた遺伝子改変マウスを用いた。この拡張型心筋症モデルマウスは 2 ヶ月齢より次第に心収縮力が低下し心内腔が拡大する。病態の進行抑制効果を期待し 2 ヶ月齢より高脂肪低炭水化物食を開始した。3 ヶ月後に心エコー検査施行し、心臓を摘出した。

(4) 血中脂質、血糖測定

高脂肪低炭水化物食による代謝系への影響を評価するため、血中総コレステロール値と中性脂肪値、血糖値を測定した。

(5) 組織評価

摘出心を用いて HE 染色、エラスチカ・ワンギンソン染色を行い、心筋細胞サイズ、線維化の程度を評価した。

(6) 電子顕微鏡による心筋細胞微細構造評価

電子顕微鏡でミトコンドリア形態を評価した。

(7) メタボローム解析

高脂肪低炭水化物食による代謝系の変化をメタボローム解析で評価した。解析はヒューマン・メタボローム・テクノロジー社に依頼した。

(8) 遺伝子変化

高脂肪低炭水化物食による代謝関連遺伝子への影響を評価するため、糖代謝、脂質代謝関連因子の mRNA 量を qRT-PCR で測定した。

4. 研究成果

(1) 高血圧モデルマウス

① 心エコー検査

高脂肪による心肥大への影響を評価するため圧負荷後 4 週目で心エコー検査を行った。対照食摂取群では、術後著明な心肥大を認めた。一方、高脂肪低炭水化物食摂取群では心肥大の程度は抑制された。心機能は対照食摂取群と高脂肪低炭水化物食摂取群で差を認め

なかった。

② 代謝マーカー

高脂肪低炭水化物食による全身代謝への影響を評価するため圧負荷 4 週目に眼窩採血を行った。高脂肪低炭水化物食により血清コレステロール値は増加した。血清中性脂肪値と血糖値は対照食摂取群と高脂肪低炭水化物食摂取群で差を認めなかった。

③ 組織変化

高脂肪低炭水化物食による心筋組織への影響を検討した。圧負荷により対照食摂取群では線維化の程度が増加したが、高脂肪低炭水化物食摂取群ではその程度が抑制された。また対照食群では圧負荷により心筋細胞周囲径が増加したが、高脂肪低炭水化物食摂取群ではその増加は抑制された。

④ ミトコンドリア形態変化

ミトコンドリアの状態を評価するため、圧負荷 1 週目に心臓を摘出し電子顕微鏡で観察した。対照食摂取群では圧負荷によりミトコンドリア形態は変化し、そのサイズは増加した。高脂肪低炭水化物食摂取群では、変性したミトコンドリア数は少なく、またそのサイズの増加は認めなかった。

⑤ メタボローム解析

圧負荷 1 週間目の心筋を用い代謝経路の変化をメタボローム解析で評価した。対照食群では圧負荷下でも ATP 産生量は保持されたが、酸化ストレスが増加した。高脂肪低炭水化物食群では圧負荷により ATP 産生量が減少したが、酸化ストレスの増加は認めなかった。

⑥ 遺伝子変化

糖取り込みに関与する GLUT1 や GLUT4 は、圧負荷による明らかな変化を認めなかった。脂肪酸代謝に関与する LCAD や MCAD の発現は圧負荷により低下したが、その程度は対照食群と高脂肪低炭水化物食群で差を認めなかった。

(2) 拡張型心筋症モデルマウス

① 心機能

拡張型心筋症モデルマウスに 3 ヶ月間高脂肪低炭水化物食を負荷した。対照食を与えた拡張型心筋症モデルマウスでは野生型マウスと比較し 5 ヶ月齢では心内腔の拡大と心収縮力の低下を認めた。一方、高脂肪低炭水化物食を与えた拡張型心筋症モデルマウスでは心機能は保持され、心内腔の拡大も認めなかった。

② 糖代謝、脂質代謝

高脂肪低炭水化物食の長期負荷による代謝系への影響を評価した。3 ヶ月間の高脂肪低炭水化物食負荷により血糖値と血清コレステロール値は上昇したが、血清中性脂肪値は低下した。ITT, GTT は対照食と高脂肪低炭水化物食負荷群で差を認めなかった。

上記 (1) (2) の結果から高脂肪低炭水化物食が心肥大抑制、心機能保持作用を有することが明らかとなった。高脂肪低炭水化物食ではエネルギー産生が予想に反し低下したが、ミトコンドリア形態は保持され酸化ストレスの軽減を認めた。高脂肪低炭水化物食の心肥大抑制効果、心機能保持効果の機序は未だ明らかではなく、今後の実験で詳細な機序の解明を目指す。

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 12 件)

- (1) Dysbiosis and compositional alterations with aging in the gut microbiota of patients with heart failure. Kamo T, Akazawa H, Suda W, Saga-Kamo A, Shimizu Y, Yagi H, Liu Q, Nomura S, Naito AT, Takeda N, Harada M, Toko H, Kumagai H, Ikeda Y, Takimoto E, Suzuki JI, Honda K, Morita H, Hattori M, Komuro I. PLoS One. 2017;12:e0174099. doi:10.1371/journal.pone.0174099. (査読あり)
- (2) Prostaglandin E2 Signaling as a Target of Anti-Cardiac Fibrosis in Heart Failure Treatment. Harada M, Takeda N, Toko H. Int Heart J. 2017;58:3-4. doi: 10.1536/ihj.16-614. (査読あり)
- (3) S100A4 protects the myocardium against ischemic stress. Doroudgar S, Quijada P, Konstandin M, Ilves K, Broughton K, Khalafalla FG, Casillas A, Nguyen K, Gude N, Toko H, Ornelas L, Thuerauf DJ, Glembotski CC, Sussman MA, Völkens M. J Mol Cell Cardiol. 2016;100:54-63. doi: 10.1016/j.yjmcc.2016.10.001. (査読あり)
- (4) Does Mechanical Stress Regulate the Angiogenic Profile of Endothelial Progenitor Cells? Harada M, Toko H. Int Heart J. 2016;57:268-70. doi: 10.1536/ihj.16-168. (査読あり)
- (5) Pathophysiology and Management of Cardiovascular Manifestations in Marfan and Loeys-Dietz Syndromes. Takeda N, Yagi H, Hara H, Fujiwara T, Fujita D, Nawata K, Inuzuka R, Taniguchi Y, Harada M, Toko H, Akazawa H, Komuro I. Int Heart J. 2016;57:271-7. doi: 10.1536/ihj.16-

094. (査読あり)
- (6) Notch activation enhances lineage commitment and protective signaling in cardiac progenitor cells. Gude N, Joyo E, Toko H, Quijada P, Villanueva M, Hariharan N, Sacchi V, Truffa S, Joyo A, Voelkers M, Alvarez R, Sussman MA. *Basic Res Cardiol*. 2015;110:29 doi: 10.1007/s00395-015-0488-3. (査読あり)
- (7) Quantitative Measurement of GPCR Endocytosis via Pulse-Chase Covalent Labeling. Kumagai H, Ikeda Y, Motozawa Y, Fujishiro M, Okamura T, Fujio K, Okazaki H, Nomura S, Takeda N, Harada M, Toko H, Takimoto E, Akazawa H, Morita H, Suzuki J, Yamazaki T, Yamamoto K, Komuro I, Yanagisawa M. *PLoS One*. 2015;10:e0129394 doi: 10.1371/journal.pone.0129394. (査読あり)
- (8) Monitoring β -arrestin recruitment via β -lactamase enzyme fragment complementation: purification of peptide E as a low-affinity ligand for mammalian bombesin receptors. Ikeda Y, Kumagai H, Okazaki H, Fujishiro M, Motozawa Y, Nomura S, Takeda N, Toko H, Takimoto E, Akazawa H, Morita H, Suzuki J, Yamazaki T, Komuro I, Yanagisawa M. *PLoS One*. 2015;10:e0127445. doi: 10.1371/journal.pone.0127445. (査読あり)
- (9) Deletion of low molecular weight protein tyrosine phosphatase (Acp1) protects against stress-induced cardiomyopathy. Wade F, Quijada P, Al-Haffar KM, Awad SM, Kunhi M, Toko H, Marashly Q, Belhaj K, Zahid I, Al-Mohanna F, Stanford SM, Alvarez R, Liu Y, Colak D, Jordan MC, Roos KP, Assiri A, Al-Habeeb W, Sussman M, Bottini N, Poizat C. *J Pathol*. 2015;237:482-94 doi: 10.1002/path.4594. (査読あり)
- (10) Metabolic dysfunction consistent with premature aging results from deletion of Pim kinases. Din S, Konstandin MH, Johnson B, Emathingier J, Volkers M, Toko H, Collins B, Ormachea L, Samse K, Kubli DA, De La Torre A, Kraft AS, Gustafsson AB, Kelly DP, Sussman MA. *Circ Res*. 2014;115:376-87. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.304441. (査読あり)
- (11) Differential regulation of cellular senescence and differentiation by prolyl isomerase Pin1 in cardiac progenitor cells. Toko H, Hariharan N, Konstandin MH, Ormachea L, McGregor M, Gude NA, Sundararaman B, Joyo E, Joyo AY, Collins B, Din S, Mohsin S, Uchida T, Sussman MA. *J Biol Chem*. 2014;289:5348-56. doi: 10.1074/jbc.M113.526442. (査読あり)
- (12) Cardiac progenitor cells engineered with β ARKct have enhanced β -adrenergic tolerance. Khan M, Mohsin S, Toko H, Alkatib M, Nguyen J, Truffa S, Gude N, Chuprun K, Tilley DG, Koch WJ, Sussman MA. *Mol Ther*. 2014;22:178-85. doi: 10.1038/mt.2013.200. (査読あり)
- [学会発表] (計1件)
- (1) 東口 治弘、候 聡志、原田 睦生、瀧本 英樹、小室 一成、低炭水化物高脂肪低炭水化物食は拡張型心筋症の心機能低下を抑制する、第2回 日本心筋症研究会、2016年5月14日、まつもと市民芸術館 (長野県・松本市)
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
東口 治弘 (TOKO, Haruhiro)
東京大学・医学部附属病院・特任助教
研究者番号: 40436358
- (2) 連携研究者
なし
- (3) 連携研究者
なし
- (4) 研究協力者
原田 睦生 (HARADA, Mutsuo)
候 聡志 (KO, Toshiyuki)
村上 遥香 (MURAKAMI, Haruka)
石塚 理人 (ISHIZUKA, Masato)