

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：13401  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2014～2016  
課題番号：26461360  
研究課題名(和文) “脂肪心筋” が不整脈を起こすメカニズムの研究

研究課題名(英文) Cardiac steatosis and arrhythmia

## 研究代表者

鈴木 仁弥 (Suzuki, Jinya)

福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・講師

研究者番号：20293417

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：心筋細胞内に脂肪滴が蓄積する“脂肪心筋”と不整脈との関連性についてマウスを用いて検討した。脂肪滴関連蛋白Perilipin (PLIN)2を心筋特異的に過剰発現させた脂肪心筋マウスPlin2-Tgを作製し、解析した。Tgマウスの心房筋にはWtマウスと比較して約4倍のトリグリセリド脂肪滴が蓄積し、Tgの遷延性心房細動発現率はWtの約3倍であった。Tgの心房筋ではgap junctionを構成するコネクシン(Cx)43の局在率低下して興奮波伝導時間が延長していた。以上の結果より、心筋細胞内の脂肪滴蓄積はCx43の局在性を変化させて心房細動を発症し易くする可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The association of cardiac steatosis and arrhythmia was studied using mouse model of cardiac steatosis. The transgenic (Tg) mice with cardiac-specific overexpression of perilipin (PLIN)2 was generated and analyzed. The Tg mice had 4-fold increased atrial triglyceride content and 3-fold higher incidence of prolonged atrial fibrillation. A gap-junction protein connexin 43 was displaced in atrial cardiomyocytes of Tg mice, and conduction velocity was delayed in the Tg atrium. Thus, cardiac steatosis might lead to arrhythmogenic remodeling of connexin 43.

研究分野：脂質代謝

キーワード：脂肪滴 脂肪毒性 脂肪心筋 不整脈 心房細動 gap junction connexin 43

### 1. 研究開始当初の背景

肥満・糖尿病患者は不整脈から突然死に至るリスクが高いことが疫学的に示されている。これら生活習慣病患者の心筋細胞内には脂肪滴が蓄積し、そこから放出される脂肪酸が毒性を発揮して機能障害をきたすと考えられている。しかしながら、細胞内脂肪毒性と不整脈に関する研究成果は乏しい。

### 2. 研究の目的

細胞内脂肪滴蓄積と不整脈との関連性を探求するため“脂肪心筋”モデルマウスを作製して以下の実験を遂行し、心筋細胞内の脂肪蓄積が不整脈を発生するメカニズムを解明する。本研究より肥満・糖尿病患者の健康増進に貢献したい。

### 3. 研究の方法

脂肪滴表面に局在する Adipose Differentiation-Related Protein: ADRP と EGFP を心筋特異的プロモーター-MHC $\alpha$  により心筋に過剰発現させて、心房、心室共に多量の脂肪滴を蓄積する AV-ADRP トランスジェニック(Tg)マウスを作製した。この“脂肪心筋”モデルマウスを用いて以下の実験を行った。

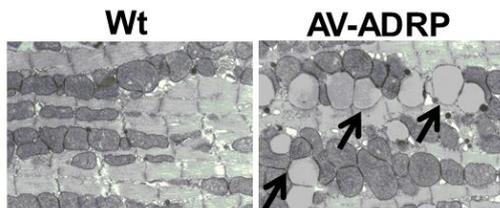


図1. 心房・心室ADRP過剰発現マウス。左房筋細胞内の脂肪滴(矢印)。

- (1) 体表面心電図による心臓の電気現象の解析。
- (2) 経食道的にペーシングカテーテルを挿入し、左心房早期電気刺激により心房細動(AF)を誘発する。刺激停止後5分以上AFが持続する率を検討する。
- (3) Connexin 43 の mRNA を qRT-PCR 法により、蛋白発現をウェスタンブロット法により検討する。Connexin 43 細胞内局在を特異抗体を用いた免疫染色と位相差レーザー顕微鏡により解析する。
- (4) ランゲンドルフ灌流心と膜電位光学マッピング法による活動電位幅と興奮波伝導速度の評価。

### 4. 研究成果

#### (1) 体表面心電図

Tg マウスの R-R 間隔は Wt マウスより 15% 長く、除脈傾向を示した。

Group	P (ms)	PR (ms)	QRS (ms)	QT (ms)	RR (ms)
Wt (n=8)	16±1.4	46±1.3	14±0.5	24±1.0	126±3.3
Tg (n=7)	15±0.6	47±1.9	14±0.4	24±0.8	148±5.7*

表. 心電図パラメータ

#### (2) 遷延性 AF 発現率

Tg マウスは AF が誘導され易く、5 分以上持続する遷延性 AF 発現率は Wt の 24% に対して Tg では 69% と高率であった。

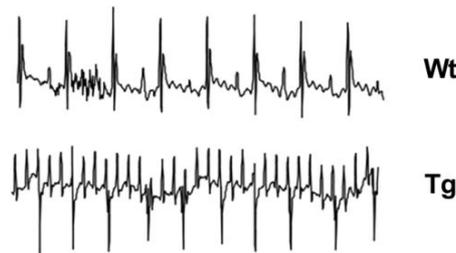


図2. AV-ADRP Tgマウスの心房細動。

#### (3) Connexin 43 の発現、細胞内局在

心房筋における Cx43 の mRNA および蛋白発現は Wt と Tg マウスで同等であったが、免疫組織化学的解析による Cx43 の介在板局在率は、Wt の 40% に対して Tg では 20% に低下していた。

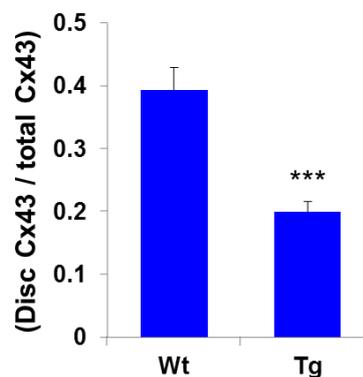


図3. Cx43の介在板局在率

#### (4) 興奮波伝導速度

膜電位光学マッピング法による検討では Tg マウスの心房で興奮波伝導時間が延長していた。

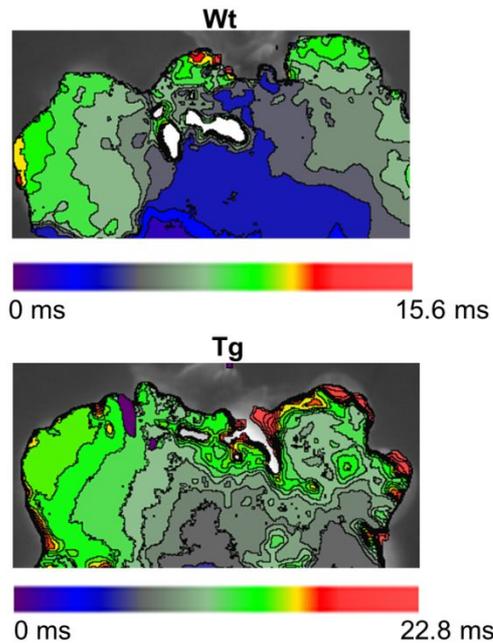


図4. 興奮波伝導時間

以上の結果より、ADRP 過剰発現による脂肪心筋では Cx43 の局在性が変化して興奮波の伝導が障害され、AF を発症し易くなると考えられた。この機序が肥満・糖尿病における AF 発症の一因となっている可能性がある。

#### 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 2 件)

1. Hamano T, Shirafuji N, Makino C, Yen SH, Kanaan NM, Ueno A, Suzuki J, Ikawa M, Matsunaga A, Yamamura O, Kuriyama M, Nakamoto Y. Pioglitazone prevents tau oligomerization. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016 Sep 23;478(3):1035-42. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.08.016. Epub 2016 Aug 16. (査読有)。
2. Konoshita T, Kaeriyama S, Urabe M, Nakaya T, Yamada M, Ichikawa M, Yamamoto K, Sato S, Imagawa M, Fujii M, Makino Y, Zenimaru Y, Wakahara S, Suzuki J, Ishizuka T, Nakamura H; Genomic Disease Outcome Consortium (G-DOC) Study Investigators. On the top of ARB N/L type Ca channel blocker leads to less elevation of aldosterone. *Biosci Rep*. 2016 Sep 16;36(5). pii: e00381. doi: 10.1042/BSR20160129. Print 2016 Oct. (査読有)。

[学会発表](計 6 件)

1. 鈴木仁弥, 佐藤さつき, 中屋隆裕, 山田実夏, 市川麻衣, 山本勝司, 今川美智子, 藤井美紀, 銭丸康夫, 生山祥一郎, 弘瀬雅教, 高橋貞夫, 此下忠志, 石塚 全. Dulaglutide が Perilipin2 過剰発現マウスの“脂肪心筋”に与える効果. 第 48 回 日本動脈硬化学会 総会・学術集会. 京王プラザホテル (東京都新宿区). 2016.7.15.
2. 佐藤さつき, 鈴木仁弥, 中屋隆裕, 山田実夏, 市川麻衣, 山本勝司, 今川美智子, 藤井美紀, 銭丸康夫, 生山祥一郎, 弘瀬雅教, 高橋貞夫, 此下忠志, 石塚 全. Perilipin2 過剰発現マウスにおける“脂肪心筋”の lipidome 解析. 第 48 回 日本動脈硬化学会 総会・学術集会. 京王プラザホテル (東京都新宿区). 2016.7.15.
3. 鈴木仁弥, 佐藤さつき, 中屋隆裕, 山田実夏, 市川麻衣, 山本勝司, 今川美智子, 藤井美紀, 銭丸康夫, 生山祥一郎, 弘瀬雅教, 高橋貞夫, 石塚 全, 此下忠志. Dulaglutide が Perilipin 2 過剰発現による“脂肪心筋”に与える影響. 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会, 国立京都国際会館 (京都府京都市). 2016.5.20.
4. 佐藤 さつき, 鈴木 仁弥, 中屋隆裕, 山田実夏, 市川麻衣, 山本勝司, 今川美智子, 藤井美紀, 銭丸康夫, 生山祥一郎, 弘瀬 雅教, 高橋貞夫, 石塚 全, 此下忠志. 心筋特異的 Perilipin2 過剰発現マウスにおける“脂肪心筋”の lipidome 解析. 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会, 国立京都国際会館 (京都府京都市). 2016.5.20.
5. 佐藤さつき, 鈴木仁弥, 弘瀬雅教, 市川麻衣, 山本勝司, 今川美智子, 藤井美紀, 銭丸康夫, 生山祥一郎, 高橋貞夫, 石塚 全, 此下忠志. 心筋 Perilipin2 過剰発現による“脂肪心筋”が不整脈を誘発するメカニズムの免疫組織学的検討. 第 47 回 日本動脈硬化学会 総会・学術集会. 仙台国際センター (宮城県仙台市). 2015.7.10.
6. 佐藤 さつき, 鈴木 仁弥, 弘瀬 雅教, 坂井 亜衣, 中屋 隆裕, 山田 実夏, 市川 麻衣, 山本 勝司, 今川 美智子, 藤井 美紀, 銭丸 康夫, 生山 祥一郎, 高橋 貞夫, 石塚 全, 此下 忠志. 心筋特異的 Perilipin2 過剰発現による“脂肪心筋”が心房細動を誘発するメカニズムの解析. 第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会. 海峡メッセ下関 (山口県下関市). 2015.5.22.

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

鈴木 仁弥 (SUZUKI, JINYA)  
福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・講師  
研究者番号：20293417

### (2)研究分担者

高橋 貞夫 (TAKAHASHI, SADAO)  
福井大学・医学部・特別研究員  
研究者番号：50303376

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