

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01720

研究課題名(和文) 肥満に高率に合併する心房細動の抑止に向けて - レプチンを標的とした新たな治療法 -

研究課題名(英文) Preventoin of atrial fibrillation associated with obesity: Novel strategy targeting leptin

研究代表者

高橋 尚彦 (NAOHIKO, TAKAHASHI)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：30263239

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：マウスに高脂肪食を与えて誘発した高レプチン血症が炎症性心房線維化および心房細動易誘発性を惹起するかについて検討した8週齢雄性コントロール(C57BL/6)マウス(WT)またはObマウスに高脂肪食(HFD)または通常食(NFD)を8週間与えた。(1)経食道バーストペーシングによって、WT-HFD群では100%心房細動が誘発されたが、Ob-HFD群では12.5%にしか誘発されなかった。(2)WT-HFD群では左房線維化が認められたが、Ob-HFD群では認められなかった。(結語)レプチンシグナルの抑制は肥満関連心房細動の新たな治療ターゲットになることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：BACKGROUND: Obesity including metabolic syndrome is an independent risk factor of atrial fibrillation (AF). We tested the hypothesis that high-fat diet (HFD)-induced hyperleptinemia exacerbates atrial fibrosis and AF. METHODS AND RESULTS: Eight-week-old male C57BL/6 (WT) and leptin-deficient ob/ob (Ob) mice were treated with a normal-fat diet (NFD) or 60% HFD. While transesophageal burst pacing invariably induced AF (8/8, 100%) in WT-HFD mice, AF was induced less frequently (1/8, 12.5%) in Ob-HFD mice ($P < 0.01$). Masson's trichrome staining and the hydroxyproline assay revealed interstitial LA fibrosis in WT-HFD mice, which was not observed in Ob-HFD mice ($P < 0.05$). CONCLUSIONS: Our findings suggest that hyperleptinemia exacerbates HFD-mediated atrial fibrosis and AF. Inhibition of leptin signaling may become a novel therapeutic target to prevent obesity-related AF.

研究分野：循環器内科

キーワード：心房細動 肥満 レプチン 線維化

1. 研究開始当初の背景

肥満者は明らかに心房細動を発症しやすいが、そのメカニズムおよび治療の標的となり得る鍵分子 (Key Molecule) はわかっていない。申請者は、肥満・メタボリック症候群患者に健常者の 10~数十倍におよぶ高レプチン血症が認められることに着目し、“肥満者では高いレプチン血中濃度が炎症性シグナルを惹起し心房細動を発症させているのではないか”と考えた。この仮説を証明するために、前段階として、レプチンが炎症性シグナルを惹起することを示す必要があった。レプチンの役割を明確にするために遺伝的にレプチンを欠損している ob/ob マウス (Ob マウス) を用いて実験を行った。Ob マウスに炎症を惹起するアンジオテンシン を持続皮下投与したところ、Ob マウスでは、炎症性シグナル、心房線維化および心房細動発症が明らかに減弱しているという新事実を突き止めた (Fukui, Takahashi, et al. Circ Arrhythm Electrophysiol. 2013)。すなわち、レプチンが炎症性心房細動発症に不可欠な分子であることを初めて明らかにした。しかし、この実験はあくまでレプチン欠損モデル (Ob マウス) という特殊なマウスに線維化を惹起する刺激 (アンジオテンシン) を投与することで得られた知見であり、そのまま臨床応用できるものではない。重要なことは、“肥満モデルで高レプチン血症が自然 (spontaneous) に炎症性シグナルを惹起し心房細動を発症させる”という仮説を証明することである。

2. 研究の目的

マウスに高脂肪食を与えて誘発した高レプチン血症が炎症性心房線維化および心房細動易誘発性を惹起するかについて検討した。

3. 研究の方法

レプチン欠損マウス (Ob) を使用した。8 週齢雄性コントロール (C57BL/6) マウス (WT) または Ob マウスに高脂肪食 (high fat diet; HFD) または通常食 (normal fat diet; NFD) を 8 週間与えた。心臓を摘出し、経食道ペーストペースティングによる心房細動誘発およびランゲンドルフ装置を用いた摘出心灌流実験を行った。また左房組織の組織学的検討、hydroxyproline アッセイ、および RT-PCR を行った。

4. 研究成果

(1) WT 群では、HFD によって、体重、血中レプチン濃度が上昇した。(2) 経食道ペーストペースティングによって WT-HFD 群では 100% (8/8) 心房細動が誘発されたが、Ob-HFD 群では 12.5% (1/8) にしか誘発されなかった ($p < 0.01$)。(3) 摘出心灌流実験において、WT-HFD 群では心房間伝導速度が低下したが ($p < 0.05$)、Ob-HFD 群では変化なかった。(4) Masson Trichrome 染色 および

hydroxyproline アッセイにおいて、WT-HFD 群では左房線維化が認められたが、Ob-HFD 群では認められなかった ($p < 0.05$)。(5) RT-PCR において、WT-HFD 群では、collagen 1, collagen 3, α -SMA, TNF- α , MCP-1 の mRNA 発現亢進が WT-HFD 群で認められたが、Ob-HFD 群では認められなかった。以上より、HFD によって惹起される心房線維化および心房細動誘発性は、高レプチン血症によって促進される。レプチンシグナルの抑制は肥満関連心房細動の新たな治療ターゲットになることが示唆された。

計画が順調に進んだため、以下の研究も併せて行った。

心臓血管手術時に得られる心房細動患者の左心耳切片を用いた研究を行い、以下の成果を得た (Heart Rhythm, 投稿中)

【背景と目的】近年、心外膜脂肪 (epicardial adipose tissue: EAT) が心房細動の発症や進展と関係するとの報告が相次いでいるが、そのメカニズムは明らかでない。本研究では、心臓血管外科手術を受ける心房細動患者から術中に摘出される左心耳切片を用いて、心外膜脂肪と心房筋線維化の関係を組織学的および生化学的に解析した。

【方法】連続 59 症例の左心耳切片を解析した。組織学的検討として、hematoxylin eosin 染色および Masson trichrome 染色によって、心外膜脂肪の面積および心房筋の線維化をそれぞれ定量した。生化学的検討として、心外膜脂肪中の炎症性サイトカインの網羅的解析と心外膜脂肪に隣接する心房筋のコラーゲンを定量した。

【結果】心外膜脂肪そのものの線維化リモデリング (fibrotic remodeling of EAT) の程度は心房筋線維化の程度と相関した。Fibrotic remodeling of EAT は、マクロファージおよび筋線維芽細胞の浸潤と関連した。心房筋線維化の程度は、隣接する心外膜脂肪中の炎症性サイトカイン (IL-6, MCP-1, TNF- α , VEGF, MMPs) の量と相関した。

【結語】Fibrotic remodeling of EAT および心外膜脂肪中の炎症性サイトカインは心房細動基質としての心房線維化と関連することが明らかになった。心外膜脂肪およびこれに含まれる炎症性サイトカインは心房細動治療や予防の新たな標的になることが示唆された。

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 8 件)

1. Fukui A, Ikebe-Ebata Y, Kondo H, Saito S, Aoki K, Fukunaga N, Shinohara T, Masaki T, Teshima Y, Takahashi N. Hyperleptinemia Exacerbates High-Fat Diet-Mediated Atrial Fibrosis and Fibrillation. J Cardiovasc Electrophysiol. 2017 Jun;28(6):702-710.

doi: 10.1111/jce.13200. Epub 2017 May 2.
査読有

2. Kondo H, Abe I, Fukui A, Saito S, Miyoshi M, Aoki K, Shinohara T, Teshima Y, Yufu K, Takahashi N. Possible role of rivaroxaban in attenuating pressure-overload-induced atrial fibrosis and fibrillation. *J Cardiol*. 2018 Mar;71(3):310-319. doi: 10.1016/j.jjcc.2017.08.007. Epub 2017 Oct 6. 査読有

3. Sonoda Y, Teshima Y, Abe I, Ebata Y, Oniki T, Kira S, Kondo H, Saito S, Yufu K, Miyamoto S, Shimada T, Takahashi N. Macrophage Infiltration Into the Endothelium of Atrial Tissue in Atrial Fibrillation. *Circ J*. 2017 Oct 25;81(11):1742-1744. doi: 10.1253/circj.CJ-16-1072. Epub 2017 Apr 4. 査読有

4. Kume O, Teshima Y, Abe I, Ikebe Y, Oniki T, Kondo H, Saito S, Fukui A, Yufu K, Miura M, Shimada T, Takahashi N. Role of atrial endothelial cells in the development of atrial fibrosis and fibrillation in response to pressure overload. *Cardiovasc Pathol*. 2017 Mar - Apr;27:18-25. doi: 10.1016/j.carpath.2016.12.001. Epub 2016 Dec 15. 査読有

5. Uemura K, Kondo H, Ishii Y, Kobukata M, Haraguchi M, Imamura T, Otsubo T, Ikebe-Ebata Y, Abe I, Ayabe R, Saito S, Aoki K, Nagano-Torigoe Y, Akioka H, Shinohara T, Teshima Y, Masaki T, Yufu K, Nakagawa M, Takahashi N. Mast Cells Play an Important Role in the Pathogenesis of Hyperglycemia-Induced Atrial Fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2016 Aug;27(8):981-9. doi: 10.1111/jce.12995. Epub 2016 May 25. 査読有

6. Saito S, Thuc LC, Teshima Y, Nakada C, Nishio S, Kondo H, Fukui A, Abe I, Ebata Y, Saikawa T, Moriyama M, Takahashi N. Glucose Fluctuations Aggravate Cardiac Susceptibility to Ischemia/Reperfusion Injury by Modulating MicroRNAs Expression. *Circ J*. 2016;80(1):186-95. doi: 10.1253/circj.CJ-14-1218. Epub 2015 Oct 23. 査読有

7. Aoki K, Teshima Y, Kondo H, Saito S, Fukui A, Fukunaga N, Nawata T, Shimada T, Takahashi N, Shibata H. Role of Indoxyl Sulfate as a Predisposing Factor for Atrial Fibrillation in Renal Dysfunction.

J Am Heart Assoc. 2015 Oct 9;4(10):e002023. doi: 10.1161/JAHA.115.002023. 査読有

8. Kondo H, Takahashi N, Gotoh K, Fukui A, Saito S, Aoki K, Kume O, Shinohara T, Teshima Y, Saikawa T. Splenectomy exacerbates atrial inflammatory fibrosis and vulnerability to atrial fibrillation induced by pressure overload in rats: Possible role of spleen-derived interleukin-10. *Heart Rhythm*. 2016 Jan;13(1):241-50. doi: 10.1016/j.hrthm.2015.07.001. Epub 2015 Jul 2. 査読有

〔学会発表〕(計 9 件)

1. Abe I, Miyamoto S, Takahashi N. Infiltration of Epicardial Adipose Tissue into Atrium is Essential for Inflammatory Atrial Fibrosis: Novel Therapeutic Target for Atrial Fibrillation. 第 81 回 日本循環器学会総会 (招待講演) 2017 年

2. Abe I, Teshima Y, Kaku H, Yonehara Y, Sonoda Y, Ikebe Y, Oniki T, Saito S, Kondo H, Akioka H, Shinohara T, Yufu K, Nakagawa M, Shimada T, Anai H, Miyamoto S, Takahashi N. 第 81 回 日本循環器学会総会) 2017 年, 金沢

3. Abe I, Teshima Y, Yonehara Y, Kaku H, Oniki T, Ikebe Y, Kondo H, Saito S, Terabayashi T, Ishizaki T, Takahashi N. Role of Rho-mDia1 Signaling in the Pressure Overload-Induced Cardiac Hypertrophic Response. 第 81 回 日本循環器学会総会) 2017 年, 金沢

4. Sonoda Y, Teshima Y, Ikebe Y, Abe I, Yufu K, Shimada T, Miyamoto S, Takahashi N. Microstructural Features of Atrial Appendage in Patients with Atrial Fibrillation. 第 81 回 日本循環器学会総会) 2017 年, 金沢

5. Ikebe Y, Teshima Y, Sonoda Y, Abe I, Yufu K, Shimada T, Miyamoto S, Takahashi N. Glucose Fluctuations Impair Cardiac Sinus Node Function in Diabetic Animal Models. 第 81 回 日本循環器学会総会) 2017 年, 金沢

6. 安部一太郎、手嶋泰之、油布邦夫、中川幹子、宮本伸二、高橋尚彦. 心外膜脂肪組織の浸潤と炎症・線維化は心房細動基質としての心房筋線維化を惹起する 第 122 回日本循環器学会九州地方会 6.24,2017. 福岡

7. 池邊有希、手嶋泰之、島田達生、安部一太郎、鬼木崇裕、吉良晋太郎、園田祐子、高

橋尚彦 糖尿病動物モデルにおける血糖変動が洞結節細胞へ与える影響について 第122回日本循環器学会九州地方会 6.24,2017. 福岡

8. Abe I, Teshima Y, Miyamoto S, Takahashi N. Infiltration of epicardial adipose tissue into atrial myocardium is associated with inflammatory atrial fibrosis via ANGPTL2-induced qualitative alteration of epicardial adipose tissue. ESC Congress2017 26-30.August,2017. Barcelona

9. Ishii Y, Kondo H, Abe I, Saito S, Fukui A, Teshima Y, Yufu K, Takahashi N. II-10 Plays an Important Role in the Pathogenesis of High-Fat-Diet-Induced Atrial Fibrillation AHA Scientific Sessions 2017 11-15.Nov,2017. California

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.med.oita-u.ac.jp/junkanki/about/gyouseki/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

高橋 尚彦 (TAKAHASHI, Naohiko)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：30263239