様 式 C－19、F－19－1、Z－19 (共通)

科研費
KAKENHI

# 科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　元 年　 6 月 12 日現在

機関番号：１３８０２
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2016～2018
課題番号：１６Ｋ０９４２８

研究課題名（和文）糖尿病性心筋症における心筋インスリン抵抗性と左室拡張障害の関連性

研究課題名（英文）Role of cardiac insulin resistance on left ventricular diastolic dysfunction in diabetes cardiomyopathy

研究代表者

早乙女　雅夫（SAOTOME, MASAO）

浜松医科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：７０５０９５１２

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）：糖尿病ラットモデルを用いて糖尿病性心筋症における左室拡張障害と心筋インスリン抵抗性の関連性を評価する目的であった。しかし、動物用心エコーを用いて評価したところこのモデルでは左室拡張障害は明らかではなかった。そのため本研究では食塩感受性ダールラットを用いて左室肥大および左室拡張機能障害の評価を行った。食塩感受性ダールラットでは高血圧、左室心肥大、心筋線維化および左室拡張機能障害が認められた。また高血圧性心肥大の心筋ではミトコンドリア分裂タンパクであるDrp1が過剰発現しており、Drp1の阻害剤であるmdivi1を投与することによって血圧に影響することなく左室心肥大や心筋線維化が抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究によって、ミトコンドリア分裂タンパクであるDrp1が高血圧誘発性の左室肥大および心筋線維化の病態形成に重要な役割を果たしていることが明らかになった。またDrp1の抑制剤であるmdivi1投与は高血圧による左室肥大と心筋線維化を抑制しており、Drp1は高血圧性心機能障害の治療ターゲットとなり、左室拡張障害に対しても効果を示す可能性があることが示唆された。さらなる研究を行うことにより、わが国の高血圧性心機能障害および拡張障害を有する患者に対して有用な治療手段を届けることができる可能性もあると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In this project, we first aimed to investigate the relationship between left ventricular diastolic dysfunction and cardiac insulin resistance using diabetic rats. However, because we did not obtain clear diastolic disfunction in the diabetic rat, we changed our focus on hypertensive rat model (Dahl rat), instead of DM. When we fed the Dahl rats with high-salt diet, they showed hypertension, hypertensive-left ventricular hypertrophy, cardiac fibrosis, and left ventricular diastolic dysfunction. In addition, the hypertrophied myocardium revealed the increased Drp1 (a mitochondrial fission protein) expression. Furthermore, application of mdivi1, an inhibitor of Drp1,to Dahl rats attenuated the hypertension-induced left-ventricular hypertrophy and cardiac fibrosis, without altering blood pressure.

研究分野：心筋代謝

キーワード：左室拡張障害　ミトコンドリア　糖尿病　インスリン抵抗性

１．研究開始当初の背景

我が国では男性の 16.2%、女性の 9.2%が糖尿病有病者とされており、世界でも上位の有病者数（約 721 万人）にランキングされている。糖尿病性心筋症の成因には心筋内小動脈病変や自律神経障害などもあげられているが、心筋インスリン抵抗性による心筋代謝障害が大きく影響していると考えられている。そのため糖尿病患者において心筋インスリン抵抗性を正確に評価することができれば、糖尿病患者の心病変を予測し、心不全発症を予防することにつながると考えられるが、実臨床において心筋インスリン抵抗性を評価する方法は未だ十分には確立されていない。また、この心筋細胞のインスリン抵抗性を改善させる「心筋代謝改善法」についても未だ確立されていない。ﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱ形態異常はインスリン抵抗性および心機能障害の病態生理に深く関連していることが報告され（Archer SL, NEJM. 2013）ている。我々は preliminary 研究において、ﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱ分裂蛋白である DRP1 の抑制は心筋インスリン抵抗性を改善させるといった結果を得た。そのため、この結果をもとにﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱ形態調節蛋白への介入が糖尿病性心筋症におけるインスリン抵抗性および左室拡張障害を改善しうるか否かについて研究を進めた。

２．研究の目的

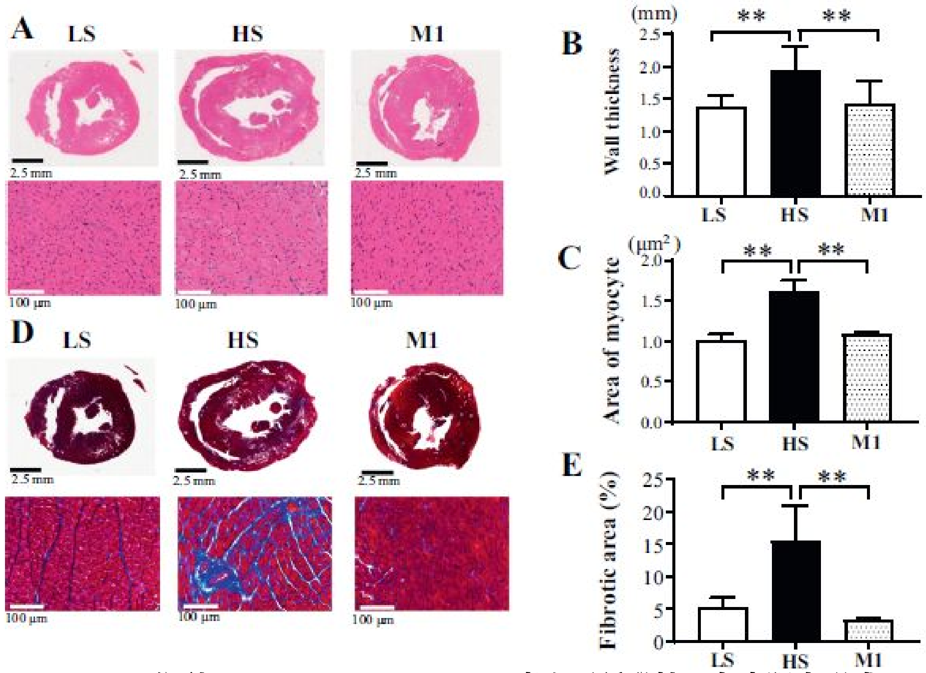
① 糖尿病ラットモデルにおける拡張障害と心筋代謝の変化
② ﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱ形態蛋白発現介入が心筋インスリン抵抗性に与える影響
③ 糖尿病患者における左室拡張障害と心筋インスリン抵抗性との関連性

３．研究の方法

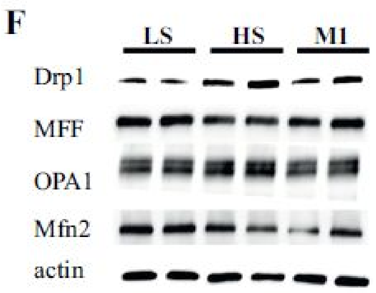
1. 左室拡張障害モデル：糖尿病性心筋症による拡張障害を起こすと報告されていたが明らかではなかったため食塩感受性ダールラットを用いて左室肥大および左室拡張機能障害のモデルとして用いた。食塩感受性ダールラットに 7～15 週齢まで高食塩食（8%食塩）を負荷し高血圧と心肥大を作成した。左室拡張機能障害の評価には心エコー検査および病理組織標本を用いた。
2. 心筋代謝とインスリン抵抗性の評価：左室心筋を用いてインスリンシグナル伝達を測定しインスリン抵抗性を評価した。
3. mdivi-1 のﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱ形態調節に対する効果：食塩感受性ダールラットの左室心筋に電子顕微鏡を用いてﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱ形態変化を評価した。また心筋細胞内のﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱ形態調節蛋白(分裂蛋白:DRP1、MFF、融合蛋白:Mfn2、OPA1)発現量の変化を Western blot 法にて評価した。さらに、DRP1 を抑制する薬剤 mdivi-1 を腹腔内投与し、電子顕微鏡を用いでﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱ形態変化、ﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱ形態調節蛋白発現量の変化を評価した。
4. mdivi-1 の拡張障害および心筋線維化に対する効果：左室拡張機能障害の評価には心エコー検査および病理組織標本を用いて、食塩感受性ダールラット群と mdivi1 投与群で比較検討した。

４．研究成果

1. 食塩感受性ダールラットを用い低食塩負荷と高食塩負荷を 8 週間行ったところ、高食塩負荷群では高血圧により左心肥大および心筋組織の線維化が認められた（下図）。またこの変化は mdivi1 投与により抑制された。Drp1 は高血圧により過剰発現するが、mdivi1 は血圧には影響することなく Drp1 を低下させた。




2. ミトコンドリア分裂タンパクである Drp1 と高血圧誘発性の左室肥大形成との関係について検討した。高食塩負荷群では Drp1 の発現が亢進していたが、mdivi1 の投与によってこの発現は抑制されていた。また他のミトコンドリア形態調節たんぱく質（Mfn2, OPA1, MFF）の発現には変化は認められていなかった（右図)。




3. ミトコンドリア形態を電子顕微鏡で観察したところミトコンドリアサイズは高食塩負荷群では狭小化していたが、mdivi1 の投与によってこの変化は抑制されていた。
4. 病理標本では心筋線維化の抑制は顕著であったが心エコー検査では左室拡張障害の変化は特定できなかった。

## ５．主な発表論文等

＜論文＞

1. Hasan P, Saotome M, Ikoma T, Iguchi K, Kawasaki H, Iwashita T, Hayashi H, Maekawa Y. Mitochondrial fission protein, dynamin-related protein 1, contributes to the promotion of hypertensive cardiac hypertrophy and fibrosis in Dahl-salt sensitive rats. J Mol Cell Cardiol. 2018 Jul 4. pii: S0022-2828(18)30394-8. doi: 10.1016/j.yjmcc.2018.07.004. (IF 5.296)、査読あり。
2. Tanaka T, Katoh H, Satoh T, Hasan P, Ohtani H, Satoh H, Hayashi H, Maekawa Y. Glycogen syntha Saotome M,se kinase-3β opens mitochondrial permeability transition pore through mitochondrial hexokinase II dissociation. The Journal of Physiological Sciences. 10.1007/s12576-018-0611-y (IF 2.075) 、査読あり。
3. Debattisti V, Gerencser AA, Saotome M, Das S, Hajnóczky G. ROS Control Mitochondrial Motility through p38 and the Motor Adaptor Miro/Trak. Cell Rep. 2017 Nov 7;21(6):1667-1680. doi: 10.1016/j.celrep.2017.10.060. (IF 8.282) 、査読あり。
4. Satoh T, Saotome M, Katoh H, Nonaka D, Hasan P, Hayashi H, Maekawa Y.　Intracellular Renin Inhibits Mitochondrial Permeability Transition Pore via Activated Mitochondrial Extracellular Signal-Regulated Kinase (ERK) 1/2 during Ischemia in Diabetic Hearts. Int J

Mol Sci. 2017 Dec 25;19(1). pii: E55. doi: 10.3390/ijms19010055. (IF 3.226) 、査読あり。

5. Sakamoto A, Saotome M, Hasan P, Satoh T, Ohtani H, Urushida T, Katoh H, Satoh H, Hayashi H. Eicosapentaenoic acid ameliorates palmitate-induced lipotoxicity via the AMP kinase/dynamin-related protein-1 signaling pathway in differentiated H9c2 myocytes. Exp Cell Res. 2017 ;351(1):109-120. (IF 3.379) 、査読あり。

＜学会発表＞

1. Prottoy Hasan, Masao Saotome. Mitochondrial dynamic protein, Dynamin-related protein1 (Drp1) contributes to cardiac hypertrophy in salt sensitive hypertensive Dahl rat. ConBio 2017, Dec 2017, Kobe.
2. Prottoy Hasan, Masao Saotome: Dynamin-related protein1 (Drp1) contributes to cardiac hypertrophy in salt sensitive Dahl rat. The 81st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Feb 2017, Kanazawa.
3. Prottoy Hasan, Masao Saotome: Dynamin-related protein1 (Drp1) contributes to cardiac hypertrophy in salt sensitive Dahl rat. The 21st Annual Scientific Meeting of the Japanese Heart Failure Society. Oct 2017, Akita.
4. Atsushi Sakamoto, Masao Saotome: Eicosapentaenoic acid ameliorates palmitate-induced lipotoxicity via the AMP kinase/dynamin-related protein-1 signaling pathway. The 81st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Feb 2017, Kanazawa.
5. Terumori Satoh, Masao Saotome: Activation of mitochondrial ERK1/2 is involved in an intracellular renin mediated ischemic resistance in diabetic hearts. The 81st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Feb 2017, Kanazawa.
6. Terumori Satoh, Masao Saotome: Intracellular renin inhibits mitochondrial permeability transition pore via an activated mitochondrial ERK1/2 during ischemia in diabetic hearts. The 21st Annual Scientific Meeting of the Japanese Heart Failure Society. Oct 2017, Akita.
7. Terumori Satoh, Masao Saotome: Intracellular renin inhibits mitochondrial permeability transition pore via an activated mitochondrial ERK1/2 during ischemia in diabetic hearts. ESC Congress 2017, Aug 2017, Barcelona.

**〔雑誌論文〕（計　5 件）**

**〔学会発表〕（計 7 件）**

**〔図書〕（計　0 件）**

**〔産業財産権〕**
**○出願状況（計　0 件）**

**○取得状況（計　0 件）**

**〔その他〕**
**ホームページ等：該当なし**

## ６．研究組織

**(1)研究分担者**
**(1)研究分担者**

**研究分担者氏名：**林　秀晴

**ローマ字氏名：**HAYASHI, hideharu

**所属研究機関名：**浜松医科大学

**部局名：**医学部

**職名：**教授

**研究者番号（8 桁）：**50135258

**研究分担者氏名：**佐藤　洋

**ローマ字氏名：**SATO, hiroshi

**所属研究機関名：**浜松医科大学

**部局名：**医学部附属病院

**職名：**講師

**研究者番号（8 桁）：**30293632

**研究分担者氏名：**加藤　秀樹

**ローマ字氏名：**KATO, hideki

**所属研究機関名：**浜松医科大学

**部局名：**医学部

**職名：**助教

**研究者番号（8 桁）：**80314029

**：**

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。