

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08471

研究課題名(和文) 脂肪滴による心筋Gap junctionリモデリング機序の解明

研究課題名(英文) Cardiac lipid droplets and gap junction remodeling

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) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪心筋を呈するPLIN2-Tgマウスは、gap junction蛋白コネキシン(Cx)43が心房筋細胞の側壁に局在して心房細動(AF)を発症する。老齢PLIN2-Tgマウスの心房筋の解析から、Cx43のリモデリングにはセラミド、DAG、3脂肪酸含有TAGの増加とリン脂質プロファイルの変化が重要で、AF誘発にはagingが必要であることが示唆された。また、GLP-1受容体アゴニストdulaglutideの8週間投与は心室、心房のTAG含量を60%低下させ、AF誘発率を45%、AF持続時間を60%低下させた。脂肪心筋の治療はAFに対する新たな治療戦略となる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病患者は心房細動などの不整脈を合併し易く、それらが患者の健康寿命に多大な影響を与えている。本研究は糖尿病性心筋症の特徴である脂肪心筋が心房細動を誘発する分子メカニズムの一端を解明し、その治療法を検証した。GLP-1受容体アゴニストは既に糖尿病治療薬として使われているため、即座に臨床応用が可能である。本研究により「脂肪滴 刺激伝導障害」という新たな病態生理が解明され、糖尿病患者の不整脈に対する新たな治療戦略へ発展すると思われる。

研究成果の概要(英文)：We have created a mouse model of cardiac steatosis: cardiac-specific PLIN2-overexpressing mice (PLIN2-Tg). PLIN2-Tg are prone to atrial fibrillation (AF) associated with lateral distribution of a gap junction protein connexin (Cx)43 in atrial cardiomyocytes. Analysis of aged PLIN2-Tg have revealed that accumulation of ceramide, diacylglycerol and triacylglycerol (TAG), and altered phospholipid profile might be critical for Cx43 remodeling in the aged condition. Eight week-administration of a GLP-1 agonist dulaglutide achieved 60% decrease in atrial TAG content, 45% decrease in AF susceptibility, and 60% decrease in AF duration. Cardiac steatosis would be a novel therapeutic target for AF in diabetic patients.

研究分野：脂質代謝

キーワード：脂肪心筋 脂肪滴 Perilipin 2 心房細動 Connexin 43 脂肪毒性

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病患者は心房細動などの不整脈を合併しやすく、それらが患者の健康寿命に多大な影響を与えている。糖尿病患者の心筋は細胞内に脂肪滴が蓄積した“脂肪心筋”を呈し易いが、脂肪滴の蓄積が不整脈に与える影響については殆ど解明されていない。申請者が作成した脂肪心筋モデルマウス Perilipin 2 (PLIN2)-Tg (引用文献)は、心筋細胞の gap junction に局在するコネキシン(Cx)43 が細胞の側壁に偏在して伝導障害をきたし、徐脈で心房細動(AF)を発症し易いことを発見した。この現象は脂肪滴と不整脈との関連性を初めて示唆したが、そのメカニズムは全く未知であった。

## 2. 研究の目的

上記の背景から本研究の目的は、心筋細胞内の脂肪滴が gap junction のリモデリングを惹起して心房細動を発症させるメカニズムを解明することである。さらに、脂肪滴により誘発される心房細動に対する有効な治療法を本研究で探索する。

## 3. 研究の方法

### 1) AF の原因物質が脂質か蛋白かを絞り込む

月齢 12~15 ヶ月の心筋特異的 PLIN2 過剰発現マウス：PLIN2-Tg と心筋特異的ホルモン感受性リパーゼ (HSL) 過剰発現マウス：HSL-Tg を交配してダブル Tg マウス：PLIN2+HSL を作成する。野生型 (Wt) とこれらのマウス心房の脂肪滴、トリグリセリド (TAG) 含量を解析する。また、マウスの食道にペースングカテーテルを挿入し、左心房早期電気刺激 (バーストペースング) により AF を誘発し、誘発率を比較解析する。

### 2) 脂質シグナルの探索：リピドーム解析

Wt, PLIN2-Tg の両心房より脂質を抽出し、LC-MS 法により分析して LipidSearch™ ソフトウェアを用いて網羅的に解析し、Wt と比較して Tg で変化した脂質プロファイルを解析する。

### 3) AF 誘発性に対する加齢の影響

月齢 4 ヶ月と 12~15 ヶ月の Wt および PLIN2-Tg マウスを用いて経食道バーストペースングを行い、AF 誘発率を比較解析する。また、免疫組織学的解析により Cx43 の介在局在性を検討する。

### 4) 脂肪滴誘発性 AF に対する治療法の探索

GLP-1 レセプターアゴニスト dulaglutide を週 2 回、8 週間腹腔内に投与し、心房 TAG 含量の測定と経食道バーストペースングによる AF 誘発率を解析する。

## 4. 研究成果

### 1) AF の原因物質

PLIN2+HSL マウス心房の TAG 含量は Wt と同等まで低下し、AF 発生率も 29%に低下した。この結果より AF 発症には脂質が重要であることが示唆された (図 1, 2)。

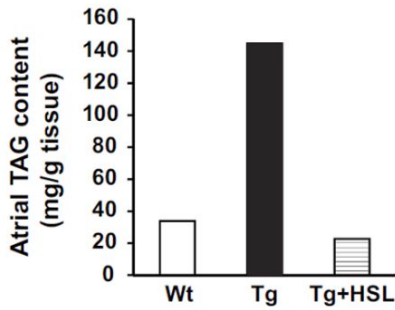


図1. 心房TAG含量

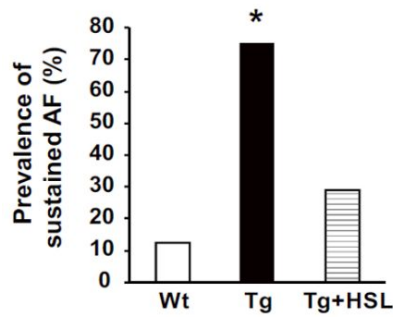


図2. 心房細動誘発率

## 2) 脂質シグナルの探索

PLIN2-Tg の心房では Wt と比較して 1 種のセラミド、9 種のジアシルグリセロール (DAG)、100 種の TAG が 2 倍以上増加していた。Tg で変化した TAG の上位 10 種中 9 種は構成脂肪酸に(22:5)または(22:6)を含んでいた(表 1)。また、Tg 心房のリン脂質プロファイルは Wt と比較してフォスファチジルコリンが 30% 増加していた。以上の結果より Cx43 リモデリングに因する因子としてセラミド、DAG に加えて  $\omega$ 3 脂肪酸を含む TAG の増加とリン脂質プロファイルの変化が重要であると思われた。

表1. PLIN2-Tgマウス心房の脂質プロファイル

Lipid class	Lipid Search™ ID	Fatty Acids	Mass in Tg	Fold change (Tg/Wt)
Ceramide	87	(m22:1_22:2)	378754	8.9
Diacylglycerol	294	(18:2_22:6)	561843	16.7
	312	(14:0_18:2)	100362	6.6
	344	(18:2_18:2)	257453	5.1
	384	(18:1_22:6)	478352	3.3
	394	(18:1_14:0)	210063	3.2
	473	(18:1_18:1)	161948	2.9
	229	(22:6_22:6)	44449	∞
	330	(22:5_18:2)	60217	∞
	432	(18:1_20:3)	21229	∞
Triacylglycerol (Top 10 in fold change)	571	(18:1_22:6_22:6)	853037	14.5
	565	(18:2_18:2_22:6)	3415962	12.2
	631	(19:1_18:2_18:2)	265130	11.7
	573	(16:0_22:6_22:6)	1458927	9.2
	592	(18:1_18:2_22:6)	5281189	9.0
	583	(18:1_22:5_22:6)	297827	8.4
	563	(16:0_18:3_22:6)	924937	7.8
	594	(16:0_18:2_22:6)	5212056	7.8
	582	(16:1_18:2_22:5)	365472	6.5
	624	(18:0_18:2_22:6)	3478271	6.3

## 3) AF 誘発性に対する加齢の影響

月齢 4 カ月の Wt および Tg マウスの AF 誘発率は同等で、Cx43 の介在版局在性も両群で差を認めなかった。この結果、加齢に伴うリモデリングなどの要素が脂肪滴誘発性 AF には必要であることが判明した。

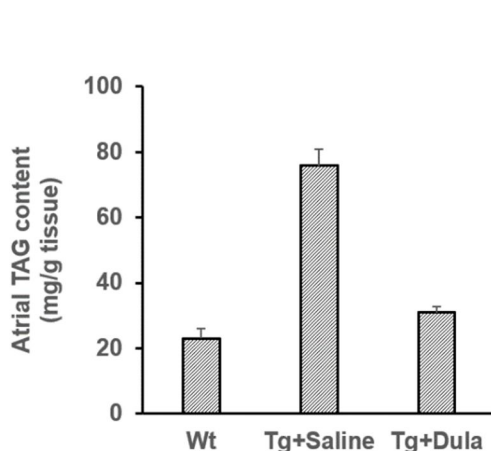


図3. 心房TAG含量に対するdulaglutideの効果

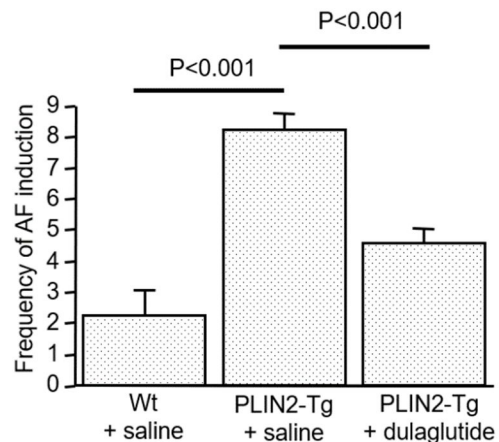


図4. AFに対するdulaglutideの効果

#### 4) 脂肪滴誘発性 AF に対する治療法の探索

GLP-1 レセプターアゴニスト dulaglutide の週 2 回、8 週間の投与は Tg の心房、心室両方の TAG 含量を約 60% 低下させ、AF 誘発率を 45%、AF 持続時間を 60% 低下させた (図 3, 4)。

これらの結果を学会および論文にて報告した。

#### <引用文献>

Ueno M, Suzuki J, Hirose M, Sato S, Imagawa M, Zenimaru Y, Takahashi S, Ikuyama S, Koizumi T, Konoshita T, Kraemer FB, Ishizuka T. Cardiac overexpression of perilipin 2 induces dynamic steatosis: prevention by hormone-sensitive lipase. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 313: E699-E709, 2017. doi: 10.1152/ajpendo.00098.2017.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sato S, Suzuki J, Hirose M, Yamada M, Zenimaru Y, Nakaya T, Ichikawa M, Imagawa M, Takahashi S, Ikuyama S, Konoshita T, Kraemer FB, Ishizuka T.	4. 巻 317
2. 論文標題 Cardiac overexpression of perilipin 2 induces atrial steatosis, connexin 43 remodeling, and atrial fibrillation in aged mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Am J Physiol Endocrinol Metab	6. 最初と最後の頁 E1193-E1204
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpendo.00227.2019.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 佐藤 さつき, 鈴木 仁弥, 弘瀬 雅教, 浦邊 真知, 帰山 沙織, 中屋 隆裕, 山田 実夏, 市川 麻衣, 山本 勝司, 今川 美智子, 銭丸 康夫, 生山 祥一郎, 高橋 貞夫, 石塚 全, 此下 忠志
2. 発表標題 “ 脂肪心筋 ” が心房細動を惹起するメカニズムの探索-perilipin2過剰発現マウス心筋のリピドーム解析
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Satsuki Sato, Jinya Suzuki, Masamichi Hirose, Takahiro Nakaya, Mika Yamada, Mai ichikawa, Michiko Imagawa, Yasuo Zeimaru, Sadao Takahashi, Frederic B. Kraemer, Tadashi Konoshita, Tamotsu Ishizuka
2. 発表標題 Overexpression of Perilipin2 induces cardiac steatosis and atrial fibrillation via connexin 43 remodeling
3. 学会等名 78TH American Diabetes Association Scientific Sessions (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤 さつき, 鈴木 仁弥, 弘瀬 雅教, 浦邊 真知, 帰山 沙織, 中屋 隆裕, 山田 実夏, 市川 麻衣, 山本 勝司, 今川 美智子, 銭丸 康夫, 生山 祥一郎, 高橋 貞夫, 石塚 全, 此下 忠志
2. 発表標題 Perilipin2加除発現マウスにおける心房細動の誘発性と心筋細胞内脂質の関連性について
3. 学会等名 第50回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤さつき, 鈴木仁弥, 弘瀬雅教, 東慎一郎, 杉山光寿, 古谷真知, 帰山沙織, 中屋隆裕, 山田実夏, 市川麻衣, 斉藤理恵, 今川美智子, 銭丸康夫, 此下忠志, 石塚 全
2. 発表標題 Perilipin2過剰発現による脂肪心筋マウスの心房細動はGLP1受容体作動薬により抑制される
3. 学会等名 第52回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤さつき, 鈴木仁弥, 東慎一郎, 杉山光寿, 帰山沙織, 古谷真知, 中屋隆裕, 山田実夏, 市川麻衣, 斉藤理恵, 今川美智子, 銭丸康夫, 弘瀬雅教, 石塚 全, 此下忠志
2. 発表標題 GLP1受容体作動薬はPerilipin2過剰発現による脂肪心筋マウスの心房細動を抑制する
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	弘瀬 雅教  (Hirose Masamichi)  (40273081)	岩手医科大学・薬学部・教授    (31201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------