

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K17639

研究課題名（和文）FGF21のミトコンドリアオートファジーを介した心臓の栄養・代謝調節機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of cardiac nutrition and metabolism targeting FGF21 secretion and mitochondrial autophagy

研究代表者

古川 希（Furukawa, Nozomi）

名古屋大学・医学系研究科（保健）・助教

研究者番号：40897617

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）：大豆タンパクXの心不全への効果を検証したところ、TAC処置により起こる心機能低下・心肥大・心筋の線維化：左室リモデリングが、大豆タンパクXをタンパク質源とした餌の摂食により抑制されることが明らかとなった（特願2022-80867号）。さらに、餌摂食による心保護効果が見られたため、各群の糞便サンプルより腸内細菌叢解析を行ったところ、コントロール餌と比較して、大豆タンパクX餌摂食によりいくつかの短鎖脂肪酸産生菌の増加を確認し、この産生菌量は心筋の線維化値と逆相関していた。また、短鎖脂肪酸自体も大豆タンパクX餌摂食により有意に増加していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はこれまで機能性成分として抗肥満効果を示してきた大豆タンパクXが、心臓に対しても効果がある可能性を示したものである。さらにはそのメカニズムとして、近年心不全時の重要なエネルギー源としての可能性が見出されている短鎖脂肪酸を増加させることを示した。腸内環境は様々な疾患と関与しているが、本研究により心肥大～心不全の病態を制御する可能性が示された。大豆タンパクXが腸内細菌叢を介して心不全進行予防に寄与することが明らかとなることで、予後不良の難治性疾患である心不全に対する、栄養学的なアプローチを介した新しい予防法を見出すことができ、その波及は大きいと言える。

研究成果の概要（英文）：We examined the effect of soybean protein X on heart failure, and it was found that cardiac hypofunction, cardiac hypertrophy, and fibrosis of myocardium: left ventricular remodeling caused by TAC treatment were suppressed by feeding soybean protein X as a protein source (JP-A2022-808672022-80867). Furthermore, since the cardioprotective effect of feeding was observed, analysis of intestinal microflora from fecal samples of each group showed an increase in some short-chain fatty acid-producing bacteria after feeding soybean protein X compared to the control diet, and the amount of these bacteria produced was inversely related to the fibrosis value of the myocardium. The amount of short-chain fatty acids themselves was also significantly increased by feeding soybean protein X.

研究分野：循環生理学

キーワード：心肥大 心不全 腸内細菌叢 心筋線維化 腸内細菌叢代謝産物

1. 研究開始当初の背景

近年、飢餓にตอบสนองして血中レベルを増加させ、肝臓の脂質代謝・インスリン感受性を亢進、ケトン食摂取でも血中レベルが増加するなど栄養学における新規バイオマーカーとして FGF21(線維芽細胞増殖因子:Fibroblast Growth Factor 21)というサイトカインが注目されている(Badman MK et al., *Cell Metab.* 2007)。これまでの研究で圧負荷心不全モデルマウスに 2 型糖尿病治療薬である DPP-4 阻害薬を投与したところ、圧負荷という病的心ストレスに対して心臓における FGF21 の発現誘導を介して心臓エネルギー代謝を調節する可能性を見出した(Furukawa N et al., *Heart and Vessels.* 2021)。この FGF21 に関連して栄養学的なアプローチでの心不全病態進行を予防出来るか検討したところ、FGF21 の血中濃度を増加させる大豆タンパク X に注目した(Hashidume T et al., *Scientific Reports.* 2016)。大豆タンパク X と FGF21 との関連の報告として、大豆タンパク X をタンパク質源とした高脂肪食をマウスに 9 週間投与させたところ乳タンパクのカゼインをタンパク質源とした餌と比較して、血糖値・インスリン濃度の低下などの肥満抑制作用・代謝改善作用が示唆されており、そのメカニズムに FGF21 の血中濃度の上昇が報告されている。FGF21 は心臓に対しても効果があるが、大豆タンパク X が心不全に対して効果があるのか、また詳細なメカニズムはほとんど解明されていない。

2. 研究の目的

機能性大豆タンパクである大豆タンパク X の心肥大—心不全病態への効果を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

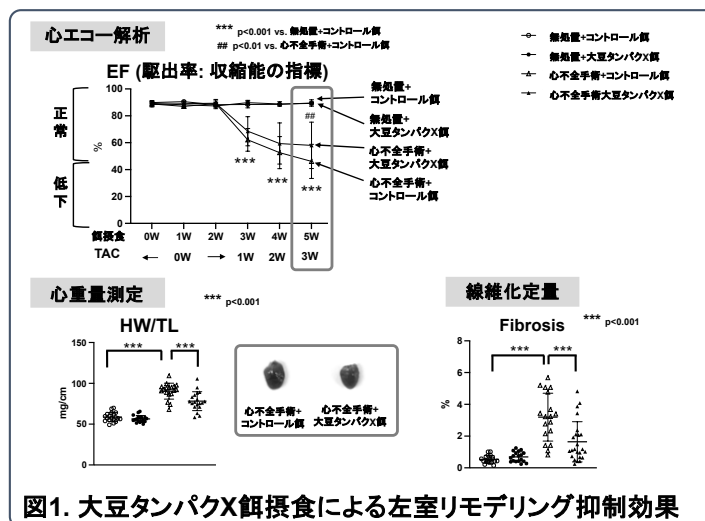
C57BL/6 の野生型のオスのマウスに、7 週齢の時点よりコントロールとして乳酸菌不使用 Mineral Acid カゼインが約 20 質量%配合されている固形餌、そして-大豆タンパク X が約 20 質量%配合されている固形餌の摂食を開始した。9 週齢のマウスが成体となった時点で大動脈縮窄術 (Transverse Aortic Constriction: TAC) により心肥大—心不全モデルを作成した。TAC 処置後 3 週までそれぞれの餌の摂食を継続させた。また、摘出した心臓組織より心肥大の評価、また心筋組織の線維化定量を行ない比較検討した。さらに、採取した各群の糞便サンプルを用いて DNA 抽出後に次世代シーケンサー Miseq (illumina.inc.) にかき、QIIME2 (Quantitative Insights Into Microbial ver2) を用いて菌組成、多様性の比較を行なった。本ソフトウェアは Amplicon Sequence Variant (ASV) 法により、相同率の高い近縁種の識別を可能としている。

4. 研究成果

心不全手術や大豆タンパク X の餌摂食による体重・摂餌量の変化は見られなかった。心エコーによる心機能解析では、TAC によって収縮能の指標である左室駆出率(EF)の低下・左室拡張末期径(LVEDd)・左室心筋重量(LV MASS)の増加などが見られたものの、大豆タンパク X 餌摂食により、これら心機能低下や心重量増加が抑制された [図 1]。また、心臓摘出後の心重量測定では TAC による心肥大が大豆タンパク X 餌摂食により有意に抑制すること、また病理学的解析としてマッソン・トリクローム染色による心筋の線維化定量においても、TAC により増加した線維化領域が、大豆タンパク X 餌摂食により抑制されることが明らかとなった [図 1]。

以上より、大豆タンパク X 餌摂食によって TAC による心機能低下・心肥大・心筋線維化といった左室リモデリングが抑制されることが明らかとなった。

餌の摂食による心不全抑制効果が見られたことから、腸内細菌叢の関与の可能性を予想し、次に 16s-rRNA シーケンシスおよび QIIME2 により腸内細菌叢解析：

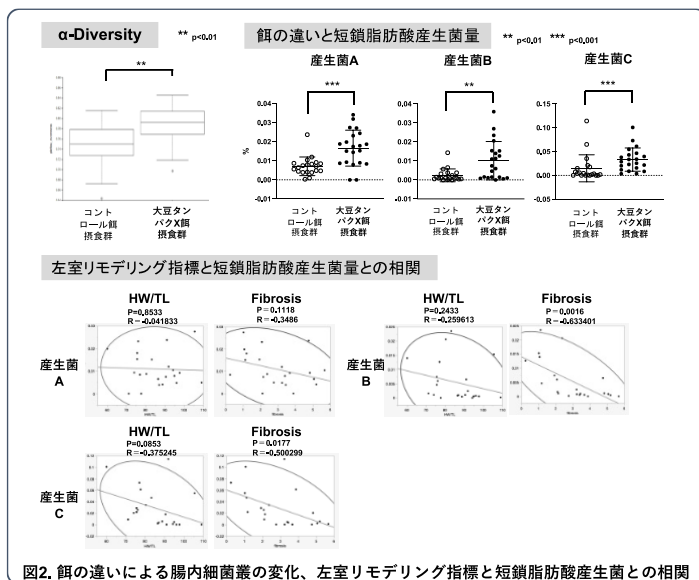


菌組成・多様性比較を行なった。カゼイン、大豆タンパク X 各個体内の α 多様性を比較したところ、カゼインを主食としたマウス群と比較して大豆タンパク X を主食としたマウスの多様性が高く、大豆タンパク X 餌摂食により α -diversity が増加していた。 α 多様性はある群内の多様性を示し、値が大きいほど多様性が高いといえる。

QIIME2 での解析結果を受け、餌の違う二群、大豆タンパク X 摂食群とカゼイン摂食群を構成する細菌に差が生じていることが解明されたため、各菌にフォーカスした詳細な解析を行なった。まず、TAC の有無に関わらず餌による違いのみに着目した。菌量の多さの上位 25 菌に絞って解析を行ったところ、コントロールであるカゼイン餌摂食群と比較して大豆タンパク X 餌摂食群でいくつかの短鎖脂肪酸産生菌が著明に増加していた。

次に、短鎖脂肪酸産生菌と左室リモデリングに関するパラメータ（線維化、心肥大）との相関関係について検討した。心不全と腸内細菌の関係を探るために、心不全病態を呈する TAC 手術群に絞り解析を行った。心重量や線維化の値の増加は心不全の進行と比例しており、短鎖脂肪酸産生菌 B と線維化、産生菌 B と線維化にて、負の相関を示すことが明らかとなった [図 2]。

以上より、大豆タンパク X 餌摂食により、短鎖脂肪酸産生菌が増加し、心肥大—心不全の病態進行に関与する可能性が見出された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Nozomi Furukawa, Naho Kondo, Aoi Miyazaki, Karin Ozeki, Norimichi Koitabashi, Kohzo Nagata, Tetsuya Ishikawa, Kinji Ohno, Masaaki Hirayama
2. 発表標題 Soy protein X has Potential as novel Prebiotics for Heart Failure via the Gut-Heart Linkage
3. 学会等名 第87回 日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 心不全予防用食品および心不全予防用医薬組成物	発明者 古川 希	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-80867号	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------