

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592672

研究課題名(和文) 抗酸化物質の弱点を克服した新たな心筋虚血再灌流障害阻止法の構築

研究課題名(英文) Novel Strategy to prevent ischemia/reperfusion injury that overcomes disadvantages of antioxidant agents

研究代表者

高橋 尚彦 (TAKAHASHI, NAHIKO)

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) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：「アンジオテンシン (Ang) によって惹起される心房細動受攻性亢進にレプチンシグナルが関与しているのではないか」との仮説を立て検証した。レプチン欠損ObマウスおよびコントロールCNTマウスにAngの持続皮下投与を4週間行った。1) CNTではAngによって左房のレプチン発現が亢進した。2) Obの心房細動誘発率はCNTに比し低かった。3) CNTに見られた炎症性線維化シグナルの発現亢進はObで抑制された。4) 心房線維芽細胞にAngを添加するとレプチン発現が亢進した。5) CNTではレプチン添加によって炎症性線維化シグナル発現が亢進したが、Zuckerラットでは認められなかった。

研究成果の概要(英文)：We examined the hypothesis that leptin signaling contributes to the atrial fibrosis and atrial fibrillation (AF) evoked by angiotensin II (AngII). Male CL57/B6 (CNT) and leptin-deficient ob/ob mice (Ob) were subcutaneously infused with AngII. In CNT-AngII mice, leptin expression in the left atrium was upregulated. Transesophageal burst pacing induced AF in 88% of CNT-AngII mice, but not in Ob-AngII mice (0%). In isolated perfused hearts, AF was induced only in CNT-AngII mice (67%). Inter-atrial conduction time was prolonged in CNT-AngII mice, but not in Ob-AngII mice. In cultured SD rat atrial fibroblasts, AngII treatment increased leptin expression. Addition of leptin increased TGF-beta1, alpha-SMA, MCP-1 and RANTES expressions in SD rat atrial fibroblasts but not in Zucker rat atrial fibroblasts. These observations demonstrate that leptin signaling is essential for the development of atrial fibrosis and AF evoked by AngII.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：救急医学

キーワード：心房細動 メタボリック症候群

1. 研究開始当初の背景

心筋虚血再灌流障害 (ischemia/reperfusion injury: 以下, I/R 障害) は, 急性心筋梗塞や蘇生後心肺停止患者の予後を規定する。実験的に抗酸化物質が心筋 I/R 障害を減ずることが多く報告されているが, 治療薬として臨床応用されている物質はない。私たちの研究グループは, 産学連携によって, リポ酸の誘導体である DHLH-Zn (Sodium zinc dihydrolipoylhistidinate) の合成に成功し, 本物質がきわめて強力な抗酸化作用を有することを見出した。そして, 本物質がラットの心筋 I/R 障害を大きく減弱させることを証明した (Hagiwara, Teshima, Takahashi, Saikawa, Noguchi, et al. Crit Care Med, 2012)。活性酸素種 (ROS) は細胞や臓器障害を生じる有害な分子であるが, 一方で生体恒常性維持に必須のシグナル分子でもある。「抗酸化物質で ROS を完全に消去してしまうと保護効果が減弱する。むしろ少量の ROS は臓器保護に必要」という印象は, 私たちも含め多くの研究者が持っている (Thuc LC, Teshima Y, Takahashi, Saikawa, et al. Apoptosis, 2010)。一方, 私たちは, 2 型糖尿病ラット心筋では Akt リン酸化が減弱しているが, アドレノメデュリンがこれを増強し I/R 障害を減弱させることを報告した (Torigoe, Takahashi, Saikawa, et al, Endocrinology, 2009)。同様に STZ 誘発糖尿病ラットでも Akt リン酸化が減弱しており, アドレノメデュリンがこれを回復させた (図 3, 未発表)。以上の知見から, 「アドレノメデュリンを同時投与することによって細胞内 Akt リン酸化レベルを保ちつつ強力な抗酸化物質である DHLH-Zn を投与すれば心筋 I/R 障害が大きく減弱できる」という仮説を立てた。そんな中で, 実験を進めるうち, アディポサイトカインのひとつであるレプチンが心筋保護に重要な役割を果たすことに気づき, 修正を行った。

2. 研究の目的

虚血再灌流の実験を行う過程で, 心筋保護に重要な役割を果たすアディポサイトカインの役割を検討する方向に研究を修正した。我々は, メタボリック症候群や肥満患者に高レプチン血症, レプチン抵抗性が多く認められることに着目し, 「アンジオテンシン (Ang) によって惹起される心房線維化および心房細動受攻性亢進にレプチンシグナルが関与しているのではないか」との仮説を立てこれを検証した。

3. 研究の方法

レプチン欠損 ob/ob (Ob) マウスおよびコントロール (CNT) マウスの皮下に浸透圧ミニポンプを植込み, Ang の持続皮下投与を 4 週間行った。4 週後に心臓を取り出し, Masson trichrome 染色で線維化を定量し, 左房組織中の炎症性線維化シグナルにかなわるタンパクならびにレプチンの局所発現を観察した。また摘出心をランゲンドルフ装置で灌流し, 心房の不応期, 心房間伝導速度, 右房からの期外刺激による心房細動の誘発率を検討した。また, ラットから単離した心臓線維芽細胞を培養し, 培養液中に Ang やレプチンを添加し, 線維化シグナル関連タンパクの量的変化を Western Blot 法で解析した。

4. 研究成果

1) CNT マウスでは Ang によって左房のレプチン発現が亢進した。2) 経食道ペースングで Ob マウスの心房細動誘発率は CNT に比し低かった。3) CNT マウスに見られた炎症性線維化シグナル関連タンパクの発現亢進は Ob マウスで抑制された。4) 心房線維芽細胞に Ang を添加するとレプチンの発現が亢進した。CNT ラットではレプチン添加によって炎症性線維化シグナル発現が亢進したが, これらの所見は Zucker ラットでは認められなかった。以上の所見から, Ang によ

って惹起される心房線維化および心房細動受攻性亢進にレプチンシグナルが必須であることが判明した。

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 2 件)

1. Teshima Y, Takahashi N, Nishio S, Saito S, Kondo H, Fukui A, Aoki K, Yufu K, Nakagawa M, Saikawa T. Production of reactive oxygen species in the diabetic heart. Roles of mitochondria and NADPH oxidase. *Circ J.* 78(2):300-306. 2014.

2. Fukui A, Takahashi N, Nakada C, Masaki T, Kume O, Shinohara T, Teshima Y, Hara M, Saikawa T. Role of leptin signaling in the pathogenesis of angiotensin II-mediated atrial fibrosis and fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 6 (2) : 4 0 2 - 4 0 9 , 2 0 1 3 .

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Fukui A, Kondo H, Saito S, Nishio S, Shinohara T, Teshima Y, Saikawa T, Takahashi N. Hyperleptinemia exacerbates high fat diet-mediated atrial remodeling and fibrillation. 第 78 回日本循環器学会総会・学術集会 3.21-23,2014. 東京

2. Kondo H, Takahashi N, Saito S, Fukui A, Nishio S, Aoki K, Shinohara T, Teshima Y, Hara M, Saikawa T. Role of spleen-derived Interleukin-10 in high-fat-diet-induced inflammatory atrial fibrosis and fibrillation. 第 78 回日本循環器学会総会・学術集会 3.21-23,2014. 東京

3. Kondo H, Saito S, Fukui A, Nishio S, Shinohara T, Teshima Y, Takahashi N. Interleukin-10 treatment attenuates sinus node dysfunction and atrial fibrillation vulnerability caused by streptozotocin-induced hyperglycemia. 第 78 回日本循環器学会総会・学術集会 3.21-23,2014. 東京

4. Saito S, Teshima Y, Nishio S, Kondo H, Fukui A, Nakagawa M, Saikawa T, Takahashi N. Glucose fluctuations aggravate atrial fibrillation in animal models of Type 1 and Type 2 diabetes mellitus. 第 78 回日本循環器学会総会・学術集会 3.21-23,2014. 東京

5. Aoki K, Takahashi N, Kondo H, Saito S, Nishio S, Fukui A, Shinohara T, Teshima Y, Shibata T. Role of indoxyl sulfate, a major uremic toxin, in pathogenesis of atrial fibrillation associated with chronic kidney disease. 第 78 回日本循環器学会総会・学術集会 3.21-23,2014. 東京

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 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 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

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

(2)研究分担者

手嶋 泰之 (Teshima Yasushi)
大分大学・医学部・助教
研究者番号：10457608

(3)研究分担者

萩原 聡 (Hagiwara Satoshi)
大分大学・医学部・講師
研究者番号：50527661

(4)研究分担者

犀川 哲典 (Saikawa Tetsunori)
大分大学・医学部・教授
研究者番号：60145365

(5)研究分担者

野口 隆之 (Noguchi Takayuki)
大分大学・医学部・教授
研究者番号：90156183

(6)連携研究者

()

研究者番号：