

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592730

研究課題名(和文) 心臓におけるグルコース代謝亢進は重症敗血症の心機能と生命予後を改善する

研究課題名(英文) Enhanced glucose metabolism improves cardiac function and survival rate during severe sepsis

研究代表者

國元 文生 (Kunimoto, Fumio)

群馬大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：70125847

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：重症敗血症は全身のインスリン抵抗性を生じ、心不全を含めて重篤な多臓器不全を引き起こす。本研究において、心臓のエネルギー基質がインスリン非依存的に脂肪酸からグルコースに変換したマウスモデルが、敗血症性の心不全に対して抵抗性が否か、を検証した。リポポリサッカライド(LPS)腹腔内投与による敗血症モデルを作製すると、実験群では心機能がコントロール群よりさらに悪化した。LPS投与後の心臓では、取り込まれたエネルギー基質が異化(ATP産生)されずに、同化(エネルギー貯蔵)された。以上から、グルコース取り込みを促進する治療だけでは、敗血症による心機能低下は改善しないことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Severe sepsis induces systemic insulin resistance and multiple organ failure including heart failure. We studied whether a shift of energy substrates from FA to glucose independently of insulin affects cardiac function in sepsis using a mouse model in which glucose uptake is markedly increased independent of insulin. Cardiac dysfunction induced by intraperitoneal injection of lipopolysaccharide was deteriorated in this model compared with control mice. Importantly, energy storage such as triacylglycerol and glycogen was markedly increased despite of a reduction in uptake of fatty acid and glucose into hearts in both mice. These findings suggest that enhancement of glucose uptake into heart is not promising strategy for treatment of cardiac dysfunction in sepsis.

研究分野：救命救急

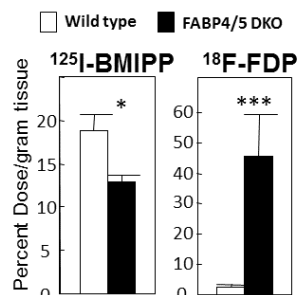
キーワード：敗血症 心不全 エネルギー代謝 脂肪酸 グルコース

1. 研究開始当初の背景

重症敗血症・敗血症性ショックは多臓器不全を惹起し死に至る重篤な病態で、このような患者では hypermetabolic hyperdynamic state が持続し、最後には心機能を維持することが困難となり死亡する。重症患者に対して血糖管理を厳密に行う強化インスリン療法(血糖値: 80-110mg/dl)が、ICU 患者の予後を改善する(N Engl J Med, 2001)と報告されたが、2009年の多施設ランダム化試験 NICE - SUGAR Study (N Engl J Med, 2009)の報告を経て、現時点では、150mg/dl 以下を目標とするよう推奨されている。インスリンによる血糖制御が有効な理由には、インスリン自体が脳や心臓をはじめとする重要臓器を維持するためとも考えられているが、高血糖による糖毒性(活性酸素種の増加、白血球活性酵素の産生、白血球貪食能低下、細胞接着分子の発現増強、血管内皮細胞の NO 産生低下、炎症性サイトカイン放出など)の軽減や微小循環改善作用などがインスリン投与効果の主なるメカニズムとして考えられている。インスリンの心筋への作用については、グルコース摂取と利用亢進(グルコース代謝亢進)による ATP 産生、グリコーゲン貯蔵の維持、膜の安定化、血管拡張作用による末梢循環改善などが提唱されているものの、心機能改善効果をインスリン・グルコースの血中レベルで推察し、in vitro の実験結果と合わせて論じているものが多く、それらを in vivo のデータとして実証した報告はほとんど見られない。申請者らは、**インスリンやグルコースの血中濃度とは独立して、心筋グルコース代謝亢進そのものが重症敗血症患者の心機能維持に大きく貢献する**と仮説を立て、基礎的研究計画を立てた。

申請者らは、最近、FABP4 (fatty acid binding protein)と FABP5 が心臓の毛細血管内皮細胞に高発現し、循環血液から心筋間質への脂肪酸輸送に参与することを報告した(ATVB 2013, Iso et al.)。これら FABP4/5 が欠損したダブルノックアウト(DKO)マウスでは、心臓での脂肪酸アナログ(BMIPP)の取り込みが野生型の60%に減少し、**相対してグルコースアナログ(FDG)取り込みが野生型の18倍上昇すること**を明らかにした。**このグルコース取り込み亢進は、インスリン非依存的**であり、転写後調節やアロステリック調節によることも明らかにした。以上、FABP4/5 DKO マウスでは、毛細血管レベルでの脂肪酸取り込み障害により、**グルコース取り込みが心臓において著しく亢進(脂肪酸が利用できないことに対する代償機構)**することが明らかになった。

申請者らは、このインスリン非依存的にグ



ルコース取り込みが亢進した FABP4/5 DKO マウスを用いれば、**敗血症時の心機能維持には、インスリン感受性やグルコースの血中濃度とは無関係に、心臓のグルコース取り込みそのものが重要であることを証明できると考えた。**

2. 研究の目的

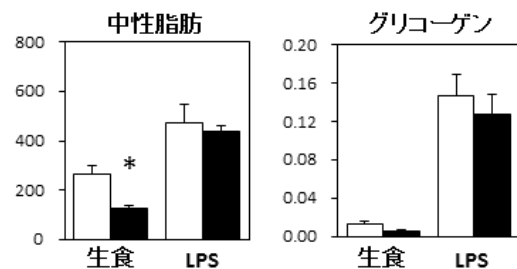
- (1) インスリン非依存的にグルコース取り込みが亢進する FABP4/5 DKO マウスの心臓が、敗血症性の心機能低下に対して、抵抗性を示すか、あるいは悪化傾向を示すか検証する。
- (2) そのメカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

リポポリサッカライド(LPS)の腹腔内投与(10 mg/kg)による急性敗血症モデルを作成し、心機能・エネルギー代謝解析・遺伝子発現解析を行い、コントロール群(野生型マウス)と FABP4/5 DKO マウス群を比較検討した。

4. 研究成果

LPS 10 mg/kg ip すると、野生型・DKO マウスのいずれもほぼ 100%生存し、かつ心機能低下が確認されたため、その後、この条件での比較検討を行った。心エコーで心機能を継続的に評価すると、両群において ip 後 12 時間で左室収縮能が最も低下するが、DKO 群でより強い悪化傾向を示した(fractional shortening 43% vs 33%, LVdD 2.7 mm vs 3.2 mm)。この際、¹²⁵I-BMIPP の取り込みは、LPS 非投与群と比べて、野生型は 30%、DKO マウスは 50%低下した。¹⁸F-FDG 取り込みは、LPS 非投与群と比べて、野生型は 5 倍上昇したが、DKO マウスは 30%低下した。LPS ip 前と比べて、血中のグルコース・ケトン体は低下し、遊離脂肪酸・中性脂肪は同等であったが、両群間に有意差を認めなかった。驚くべきことに、**貯蔵エネルギー源である心臓の中性脂肪やグリコーゲンが、両群でともに著明に増加した。**



心臓の MCP1 (炎症性サイトカイン) mRNA の発現は両群とも増加したものの同程度であり、血中の炎症性サイトカイン (TNFα, IL6, MCP1) の上昇レベルも同等であった。

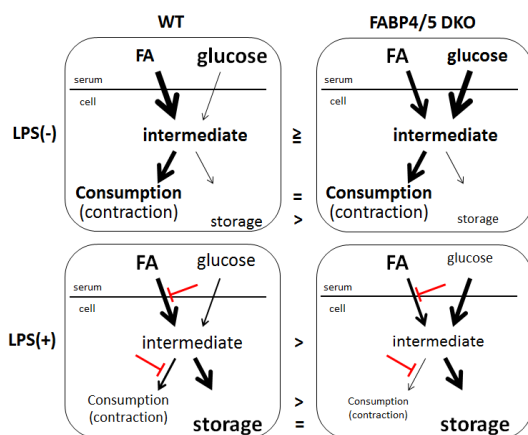
(サマリーと考察)

・LPS ip 12 時間後、DKO マウスの心機能が野生型より低下した。

・LPS ip 後、BMIPP の取り込みは、野生型マウスより DKO マウスでさらに低下し、FDG 取り込みは、野生型では上昇するが DKO マウスでは低下した。この結果より、**取り込まれるエネルギー総量は、DKO マウスでは野生型より少ないことが推察された。**

・血中のグルコースレベルが低下していて、中性脂肪や遊離脂肪酸レベルも著変がない状況で、心臓の中性脂肪とグルコースが著明に増加している。このことから、**取り込まれた脂肪酸やグルコースはエネルギー取り込み総量が減少しているにも関わらず、心筋収縮に利用(異化)されず、貯蔵(同化)されていると推察された。**

・野生型と DKO マウスの炎症反応に明らかな違いは認められなかった。



(文字の大きさ、線の太さは相対量を表す)

(まとめ)

LPS ip による心筋収縮不全の原因のひとつに、脂肪酸とグルコースの利用障害(異化障害)があることが明らかとなった。この利用障害は、脂肪酸とグルコースが心筋に取り込まれた後の障害であり、グルコース取り込みが著明に増強する DKO マウスでも同様であった。以上より、当初の仮説に反して、グルコース取り込みが亢進する DKO マウス心臓でも心機能は低下した。取り込まれる総エネルギー量の減少が大きい分、DKO マウスの心機能低下が増強するものと推察された。(論文作成中)

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 15 件)

英文

Putri M, Syamsunarno MRAA, Iso T, Yamaguchi A, Hanaoka H, Sunaga H, (他 12 名、3 番目) CD36 is indispensable for thermogenesis under conditions of fasting and cold stress. **Biochem Biophys Res Commun.** 2015 Feb 20;457(4):520-5. doi:

10.1016/j.bbrc.2014.12.124.

(corresponding author) 査読あり

Syamsunarno MRAA, Iso T, (他 12 名、2 番目) Fatty acid binding protein 4 and 5 play a crucial role in thermogenesis under the conditions of fasting and cold stress. **PLoS One.** 2014 Mar 6;9(6):e90825. doi:10.1371/journal.pone.0090825.

(corresponding author) 査読あり

Sunaga H, Matsui H, Iso T, (他 9 名、5 番目) Deranged fatty acid composition causes pulmonary fibrosis in Elovl6-deficient mice. **Nature Communications.** 2013, October 11, article number: 2563,

doi:10.1038/ncomms3563. 査読あり

Syamsunarno MR, Iso T, (他 20 名、2 番目) A critical role of fatty acid binding protein 4 and 5 (FABP4/5) in the systemic response to fasting. **PLoS One** 2013, Nov 14;8(11):e79386. doi:

10.1371/journal.pone.0079386.

(corresponding author) 査読あり

Iso T, Kurabayashi M (他 14 名、1 番目) Capillary Endothelial Fatty Acid Binding Proteins 4 and 5 Play a Critical Role in Fatty Acid Uptake in Heart and Skeletal Muscle. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 2013;Nov;33(11):2549-2557.

PMID:23968980 (corresponding author) 査読あり

Goto K, Iso T (equal contributor), (他 14 名、2 番目) \ Kunimoto F (13 番目) PPARgamma in Capillary Endothelia Promotes Fatty Acid Uptake by Heart During Long-term Fasting.

J Am Heart Assoc. 2013 Jan 18;2(1):e004861. PMID: 23525438 (corresponding author)

査読あり

Kanamoto M, Kunimoto F (他 3 名、2 番目) Relationship between coronary artery stenosis and cardio-ankle vascular index (CAVI) in patients undergoing cardiovascular surgery. **J Cardiovasc Dis Res.** 2013;4:15-9

査読有り

Kobayashi T, Kunimoto F. (他 8 名、8 番目) Perioperative nutriture in esophageal cancer patients undergoing esophagectomy.

Hepatogastroenterology.2013 ;60:1311-6.査読有り

Narahara H, Kunimoto F. (他 3 名、4 番目) Comparative effects of flurbiprofen and fentanyl on natural killer cell cytotoxicity, lymphocyte subsets and cytokine concentrations in post-surgical intensive care unit patients: prospective, randomized study. J Anesth. 2013 ;27:676-83.

査読有り

Goto K, Kunimoto F.(他 16 名、14 番目) Peroxisome proliferator-activated receptor- γ in capillary endothelia promotes fatty acid uptake by heart during long-term fasting.

J AmHeartAssoc.201318;2(1):e004861.

査読有り

Okawa M, Kunimoto F. (他 6 名、2 番目) Effect of different blood glucose target levels on the incidence of hypoglycemia during insulin therapy in the intensive care unit. J Diabetes. 2013 5:51-6. 査読有り

和文

磯達也、倉林正彦、「毛細血管内皮細胞を介する心筋・骨格筋の脂肪酸代謝の制御機構と全身代謝への影響」、**Annual Review 2015 糖尿病・代謝・内分泌**(中外医学社) **2015**; 98-104. 査読なし

磯達也、倉林正彦、「毛細血管内皮細胞を介する脂肪酸代謝の制御機構とPPAR γ の役割」、**内分泌・糖尿病・代謝内科**(科学評論社) **2014**; 39 (6); 449-454. 査読なし

磯達也、倉林正彦、「筋型毛細血管内皮細胞を介する心筋脂肪酸代謝の制御機構」、

月刊 **細胞** (ニューサイエンス社) **2014**; 46 (7); 303-306. 査読なし

磯達也、「Notchシグナル」、**血管新生研究の最先端** (医薬ジャーナル社) **2013 Feb**; 119-125. 査読なし

[学会発表](計 31 件)

第79回 日本循環器学会学術集会、大阪(大阪国際会議場、グランフロント大阪)
2015.4.24-26

Obokata M, Ohyama Y, Iso T. (他 12 名、3 番目) Early Increase in Circulating Fatty Acid Binding Protein 4 Levels in Patients with Acute Myocardial Infarction: Lipolysis as a novel marker for myocardial ischemia. (a finalist of young investigator award, clinical investigation) 2015.4.24

Syamsunarno MRAA, Iso T., Koitabashi N, Kurabayashi M. Deletion of Fatty Acid Binding Protein 4/5 Exacerbate Cardiac Dysfunction Due to Insufficient ATP Production during Pressure Overload in Mice. 2015.4.24

Yogi Umbarawan, Iso T., Syamsunarno MRAA, Koitabashi N, Kurabayashi M. Impaired Fatty Acid Utilization Exacerbates Cardiac Dysfunction under Septic Condition in Mice Lacking Both Fatty Acid Binding Protein 4/5. 2015.4.24

Syamsunarno MRAA, Iso T., Kurabayashi M. Deficiency of Fatty Acid Binding Protein-4 and -5 Impairs Lipid Absorption in Mice. 2015.4.25

Syamsunarno MRAA, Iso T., Putri M, Kurabayashi M. Fatty Acid Translocase (FAT)/CD36 Plays Crucial Role in Thermogenesis under Cold Exposure during Fasting in Mice. 2015.4.25

The 87th annual meeting of American Heart Association, McCormick Place, Chicago, USA, 2014.11.14-19

Syamsunarno MRAA, Iso T., Koitabashi N, Kurabayashi M. Deletion of Fatty Acid Binding Protein-4 and -5 Exacerbate Cardiac Dysfunction Because of Insufficient ATP

Production during Pressure Overload in Mice. 2014.11.19

Syamsunarno MRAA, Iso T, Kurabayashi M. Deficiency of Fatty Acid Binding Protein-4 and -5 Impairs Intestinal Lipid Absorption. 2014.11.17

第 31 回 国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会、名古屋 (ウインクあいち)、2014.11.28-29

Syamsunarno MRAA, Iso T, Koitabashi N, Kurabayashi M. Deletion of Fatty Acid Binding Protein-4 and -5 Exacerbate Cardiac Dysfunction Because of Insufficient ATP production during Pressure Overload in Mice. (Young Investigator Award、優秀賞) 2014.11.28

第 35 回 日本肥満学会、宮崎 (シーガイアコンベンションセンター)、2014.10.24-25

磯達也、Mas Rizky、倉林正彦。シンポジウム (末梢と中枢の炎症による代謝調節破綻) 筋型毛細血管内皮細胞を介する心筋・骨格筋の脂肪酸代謝の制御機構と全身代謝への影響」(招待講演) 2014.10.24

The 18th International Vascular Biology Meeting, Miyakomesse, Kyoto, Japan, 2014.4.14-17

Syamsunarno MRAA, Iso T, Masahiko Kurabayashi. Fatty acid binding protein 4 and 5 play a crucial role in adaptive response to prolonged fasting and cold exposure in mice. 2014.4.14

Iso T (他 5 名、1 番目) Differential expression of FABP4 and FABP5 isoforms in macrophages during the development of atherosclerosis. 2014.4.14

Iso T (他 7 名、1 番目) Fatty acid binding protein 4 and 5 are involved in formation of abdominal aortic aneurysm created by CaCl₂ in mice. 2014.4.14

Iso T (他 5 名、1 番目) Fatty Acid Binding Protein 4 is a direct target gene of Dll4-Notch1 pathway in Capillary

Endothelial Cells in Heart. 2014.4.14

Iso T (他 15 名、1 番目) Glucose Uptake in the Heart of FABP4/5 double knockout mice is Promoted by Allosteric and Post-transcriptional Regulation of Glycolytic Pathways. 2014.4.14

第78回 日本循環器学会学術集会、東京 (東京国際フォーラム)、2014.3.21-23

Kawaguchi T, Iso T (他5名、2番目) Circulating FABP4 is Released from Adipocytes and Capillary Endothelial Cells by Sympathetic Activation via β3 Receptor during Acute Cardiovascular Event. 2014.3.23

Kawaguchi T, Iso T (他4名、2番目) Fatty Acid Binding Protein 4 is a Direct Target Gene of Dll4-Notch1 Pathway in Capillary Endothelial Cells in Heart. 2014.3.23

Ishii T, Iso T (他6名、2番目) Fatty Acid Binding Protein 4 and 5 Differentially Regulate Formation of Abdominal Aortic Aneurysm Induced by Calcium Chloride in Mice. 2014.3.23

Syamsunarno MRAA, Iso T, Kurabayashi M. Fatty Acid Binding Protein-4 and -5 are Expressed in Intestinal Capillary Endothelial Cells and Regulate Lipid Absorption. 2014.3.21

Obokata M, Iso T (他10名、2番目) Differential Release Kinetic of Serum FABP3, FABP4 and FABP5 in the Patients with Acute Coronary Syndrome. 2014.3.23
Syamsunarno MRAA, Iso T (他3名、2番目) Fatty Acid Binding Protein 4 and -5 Play a Crucial Role in Thermogenesis under Cold Stress during Fasting. 2014.3.23

②① **第17回 日本心血管内分泌代謝学会、大阪、2013.11.22-23**

Syamsunarno MRAA, Iso T, Kurabayashi M. Fatty acid binding protein 4 and 5 play a crucial role in adaptive response to prolonged fasting and cold exposure in mice. (A finalist of Young Investigator Award) 2013.11.22

②② **The 86th annual meeting of American**

Heart Association, Dallas, 2013.11.3-7

Syamsunarno MRAA, Iso T, Kurabayashi M. Fatty acid binding protein 4 and 5 play a crucial role in adaptive response to prolonged fasting and cold exposure in mice.

⑳ **第 21 回 日本血管生物医学会、大阪、2013.09.26-28**

磯 達也、シンポジウム (血管機能を制御するシグナリング機構) Notch シグナルによる血管細胞の分化制御(招待講演)
2013.09.27

㉑ **European Society of Cardiology Congress 2013, Amsterdam, 2013.8.31-9.4**

Iso T, Kurabayashi M. Capillary endothelial fatty acid binding protein 4 and 5 are required for sufficient energy production in the heart. 2013.09.02

第 77 回 日本循環器学会学術集会、横浜、2013.3.15-17

㉒ Iso T (他 6 名、1 番目) Glucose Uptake in the Heart of FABP4/5 Double Knockout Mice is Promoted by Allosteric and Post-transcriptional Regulation of Glycolytic Pathways. 2013.3.17

㉓ Syamsunarno MRAA, Iso T, Kurabayashi M. Defective Fatty Acid Uptake through Capillary Endothelial Cells of Heart and Skeletal Muscle Induces Prominent Fatty Liver. 2013.3.15

㉔ Syamsunarno MRAA, Iso T, Kurabayashi K. Detrimental effects of FABP4 and FABP5 Deletion on Hepatic Energy Metabolism after Prolonged Fasting. 2013.3.16

㉕ Enoura A, Iso T (他 4 名、2 番目) Differential Expression of FABP4 and FABP5 Isoforms in Macrophages during the Development of Atherosclerosis. 2013.3.15

㉖ Ohyama Y, Iso T, (他 9 名、2 番目) Circulating Fatty Acid Binding Protein 4 is an early marker for Acute Myocardial Infarction. 2013.3.15

㉗ Ohyama Y, Iso T (他 9 名、2 番目) Differential Time-dependent Changes in Fatty Acid Binding Protein Isoforms Levels in Patients with Acute Myocardial Infarction

and Acute Heart Failure. 2013.3.15

㉘ **Annual meeting of American Heart Association, Los Angeles, 2012.11.3-7**

Iso T (他 7 名、1 番目) Fatty Acid Binding Protein 4 and Fatty Acid Translocase are Induced by Notch Signaling via Induction of PPAR γ in Capillary Endothelial Cells in Heart After Long Time Fasting. 2012.11.4

6. 研究組織

(1) 研究代表者

國元 文生 (KUNIMOTO, Fumio)
群馬大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：7 0 1 2 5 8 4 7

(2) 研究分担者

磯 達也 (ISO, Tatsuya)
群馬大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：1 0 4 0 0 7 5 6