

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860590

研究課題名(和文) 肥満による慢性炎症が急性心筋梗塞に与えるインパクト：病態解明から治療への応用

研究課題名(英文) The impact of prolonged exposure to dietary lipids in Outcomes After Myocardial Infarction in Mice.

研究代表者

大辻 浩(Ootsuji, Hiroshi)

金沢大学・医学部・協力研究員

研究者番号：70581651

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：肥満状態は代謝機能不全、多臓器不全を来とし様々な疾患において病態を複雑なものにすることが知られている。今回我々は高脂肪食を負荷した肥満マウスにおいて冠動脈結紮心筋梗塞モデルを作成、病態やメカニズムに関して検討を行った。肥満心筋梗塞マウスは死亡率が上昇し、マイクロアレイ解析によりPAI-1が予後悪化因子として考えられた。PAI-1阻害薬は肥満状態における心筋梗塞後の予後を改善した。また、PAI-1ヘテロ遺伝子欠損マウスにおいては梗塞後の心拡大抑制、心不全の軽減が見られた。PAI-1を抑制することにより肥満状態において重症化する心筋梗塞後リモデリングを制御、治療として介入できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The diverse clinical characteristics of obesity illustrate the complexity of this disease, involving the dysregulation of several metabolic pathways and multiple genetic targets. To understand the effect of obesity on the pathophysiology of myocardial infarction, we used high fat diet (HFD) induced obesity mice with left descending artery ligation (HFD-MI). Compared with mice fed normal chow diet (NC) induced myocardial infarction (NC-MI), the prognosis of HFD-MI is worse and heart failure is exacerbated. Microarray analysis 24 hours after MI or sham operation shows that the expression level of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) is elevated in both the liver and the adipose tissue. Treatment with PAI-1 inhibitor improved the prognosis of HFD-MI. Cardiac remodeling and heart failure was significantly attenuated in PAI-1 hetero-knockout mouse with HFD than wild type littermate. In conclusion, we suggest PAI-1 is the therapeutic target of myocardial infarction with obesity.

研究分野：循環器内科

キーワード：急性心筋梗塞 慢性炎症 肥満 臓器間連関

## 1. 研究開始当初の背景

近年、過食と運動不足を背景とし、肥満人口は急速に増加している。肥満の脂肪組織では、脂肪細胞とマクロファージの相互作用により慢性炎症が誘導され、アディポサイトカインの分泌変化、遊離飽和脂肪酸の分泌亢進などが起こる。さらに全身性の慢性炎症により、心臓、肝臓、骨格筋などの臓器にインスリン抵抗性などの臓器機能障害（脂肪毒性）が引き起こされる。心筋梗塞では、心筋壊死による急性炎症が起こるが、背景に肥満による慢性炎症状態が存在した場合、炎症が相互に波及し、過剰な炎症が誘導され、病態を修飾する可能性がある。実際、慢性炎症の指標である高感度CRPと腹囲・BMIは強い正相関を示し、腹囲により評価した中心性肥満が心筋梗塞の予後危険因子であることがコホート研究により報告されている。一方で、マクロファージなどの炎症細胞の浸潤は、心筋梗塞急性期での組織修復過程に必要な因子でもあり、肥満状態での過剰炎症が心筋梗塞後の病態にどのような影響を与えるのかは明らかではない。最近、心筋梗塞では心筋壊死による急性炎症が、慢性炎症状態にある既存の動脈硬化プラークに波及することで、プラークの不安定化をきたし、心筋梗塞再発率が高くなることが明らかにされ、心筋梗塞と炎症との相互作用が注目されている。また、申請者は野性型マウス心筋梗塞モデルの解析にて、心筋梗塞後、肝臓に遺伝子発現変化がおり、肝臓と心臓の間に液性因子を介した臓器間連関が存在することを報告している。以上の知見から、肥満状態にて心筋梗塞を発症した場合には、液性因子を介した相乗的・相互的炎症波及が慢性炎症状態にある臓器に起こることが予想される。

本研究では、心筋梗塞モデルマウスを用い、高脂肪食負荷による肥満状態が心筋梗塞後の病態に与える影響、心筋梗塞後-臓器間を介する炎症のメカニズムを明らかにし、炎症調節による心筋梗塞への治療応用の可能性を探求する。

炎症は生体にとって本来、適応機構として働く。しかし、不十分または過剰な炎症は悪循環をきたし、臓器不全により生体を破綻へと向かわせる。肥満による慢性炎症は生活習慣病の背景因子であるにもかかわらず、十分な説明がなされていない。臓器間連関に注目し、疾病における炎症の相互作用を明らかにすることができれば、本研究は極めて意義のあるものになると思われる。

## 2. 研究の目的

本研究では肥満状態における心筋梗塞発症後の臓器間連関に注目し、心筋梗塞後リモデリングへの新たな治療介入点を探求し、治療薬としての臨床応用への展開のための基礎となる研究を行う。

## 3. 研究の方法

### (1) モデルの作成

野性型C57BL/6Jマウスに60%高脂肪食を8週間与えた群と通常食群に対して、左開胸により左冠動脈前下行枝を結紮した心筋梗塞モデルを作成する。閉胸後、再度、高脂肪食および普通食を与え飼育する。

### (2) 心筋梗塞発症後の心機能・血行動態および心臓リモデリング・心不全重症度の評価:

tail-cuff法による血圧測定、心エコーによる心機能評価を行う。心筋組織の線維化をマッソントリクローム染色、アポトーシスをTUNEL染色で評価し、肥満による慢性炎症が心臓リモデリングに与える影響を検討する。また、摘出心のRNA抽出を行い、心臓リモデリング時に発現が亢進する胎児型遺伝子や心不全の指標となるBNPの発現を調べる。心臓・肺重量の測定により心臓リモデリング・心不全重症度を評価する。

### (3) マイクロアレイ解析

上記の心筋梗塞モデルに関して、心筋梗塞後24時間後の肝臓・内臓脂肪におけるマイクロアレイ解析を行い遺伝子発現プロファイルの検証をし、臓器間連関の存在を明らかにする。

### (4) 阻害薬・遺伝子改変マウスによる検証

マイクロアレイ解析にて同定した因子に関して阻害薬・遺伝子改変マウスを用い、肥満状態における心筋梗塞後リモデリングに与える影響を検証する。

## 4. 研究成果

### (1) 肥満が心筋梗塞に与える影響

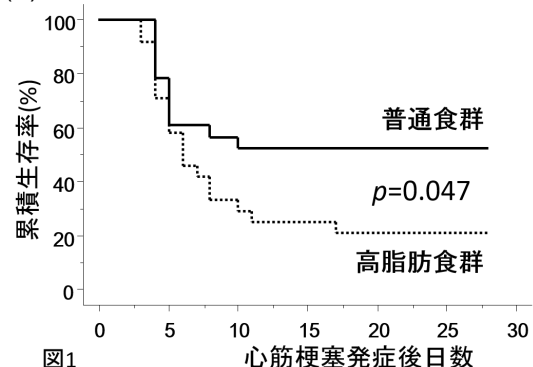


図1

普通食マウス、高脂肪食肥満マウスを用いて心筋梗塞モデルマウスを作成し生存率を検討した。Kaplan-Meier 法にて高脂肪食群の生存率は有意に低下した(図1)。

## (2)遺伝子発現解析

肥満状態において生存率が低下したことから、慢性炎症状態にある臓器、中でも内分泌器官としても働く肝臓・脂肪組織から予後悪化因子が分泌されるとの仮説を立て、心筋梗塞発症 24 時間後のマイクロアレイによる肝臓・内臓脂肪の網羅的遺伝子発現解析を行った。これらの解析から、予後悪化因子の候補として線溶系阻害因子 plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) を同定した。PAI-1 は催炎症作用などの多面的作用を持ち、脂肪組織から分泌される悪玉アディポサイトカインとして注目されている。RT-PCR による解析では、インスリン抵抗性に関与する臓器である心筋、骨格筋、脂肪、肝臓において PAI-1 は心筋梗塞後に発現が亢進し、肥満状態では

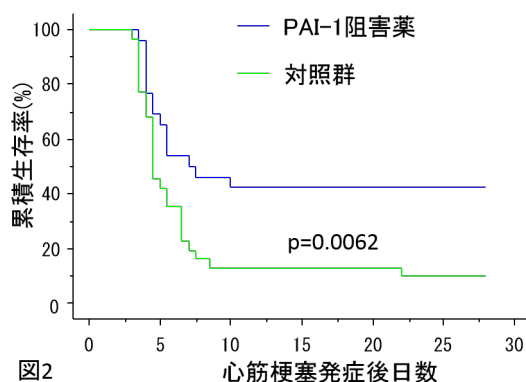


図2

肥満状態では普通食群と比較し、有意に発現が上昇していた。ELISA による解析にて PAI-1 は心筋梗塞後上昇するも肥満モデルにおいて有意の血中濃度が上昇していた。

肥満心筋梗塞モデルマウスに PAI-1 阻害薬を投与することにより生存率改善がみられた(図2)。PAI-1 阻害薬投与により心筋梗塞後の心・肺重量は低下し、心エコー上の心拡大は抑制され、収縮能は改善を認めた。

## (3) PAI-1 ノックアウトマウスによる検討

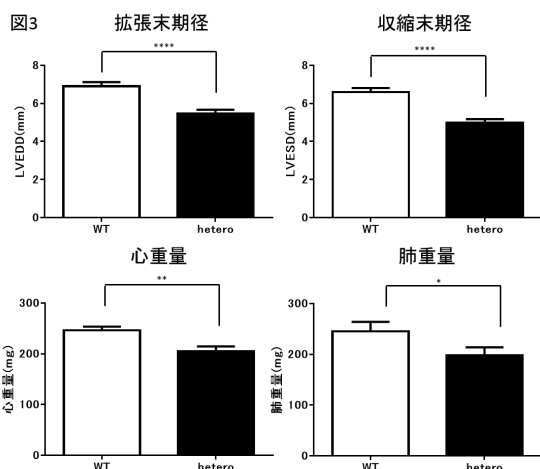


図3

PAI-1 ヘテロ欠損マウスと同腹の野生型マウスに高脂肪食を投与、肥満状態とし心筋梗塞モデルを作成したところ梗塞後 28 日における心エコー上、心拡大抑制、また心重量・肺重量の低下が見られた(図3)。

以上の検討から、肥満状態において心筋梗塞後心不全は増悪し、その機序として多臓器において発現が亢進する PAI-1 が機序として考えられた。PAI-1 を抑制することにより肥満状態において重症化する心筋梗塞後リモデリングを制御、治療として介入できる可能性が示唆された。

## 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 8 件)

1. Kitano K, Usui S, Ootsuji H, Takashima S, Kobayashi D, Murai H, Furusho H, Nomura A, Kaneko S, Takamura M; Rho-kinase activation in leukocytes plays a pivotal role in myocardial ischemia/reperfusion injury. *PLoS One*. 2014 Mar 17;9(3):e92242. 査読あり

〔学会発表〕(計 0 件)

該当なし

〔図書〕(計 件)

該当なし

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

該当なし

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 0 件)

該当なし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

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

大辻 浩 (Otsuji Hiroshi)

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：70581651

(2)研究分担者

該当なし ( )

研究者番号：

(3)連携研究者

該当なし ( )

研究者番号：