

脂肪酸組成の制御を標的とした心不全予防・治療の構築

須永浩章

群馬大学大学院医学系研究科 循環器内科学

【研究の背景】

脂肪酸は心臓において重要なエネルギー源であり、細胞膜の構成成分やシグナル分子としても利用される。我々はこれまで、生体内の飽和・不飽和脂肪酸の組成を調節する酵素である Elongation of long chain fatty acid-6 (Elovl6)¹⁾ に着目し、脂肪酸の量的な変化だけでなく、飽和/不飽和脂肪酸分画の「質」的な変化が、肥満・糖尿病時の心筋細胞、肺線維症および新生内膜肥厚形成などの病態形成に関与することを明らかにしてきた²⁻⁴⁾。

圧負荷によって誘導される心肥大においては、筋蛋白の合成や間質線維化の他、心筋細胞の脂肪酸合成も促進することが知られている。これまで、心肥大のメカニズムとして機械的な伸展刺激の他、アンジオテンシン II や交感神経系などの神経体液性因子の重要性が明らかにされている。しかし、心筋細胞を構成する脂肪酸の組成変化が心不全病態に及ぼす影響についてはほとんど報告がない。

【目 的】

本研究では、心不全病態時における心臓の脂肪酸組成に着目し、病態に伴う組成の変化や、Elovl6 の発現動態および機能を検討することで、脂肪酸組成の制御を標的とした新規の心不全予防・治療戦略の構築を目的とする。

【方 法】

野生型マウスおよび Elovl6 欠損マウスの心臓に横行大動脈縮窄術(TAC)を処置することで圧負荷心不全モデルを作成し、術後 1、4、8 週目における心機能や心肥大等の病理学的変化、心臓の脂肪酸組成比(Bligh and Dyer 法⁵⁾)による脂質抽出)および病態関連因子の発現を検討した。また、Elovl6 flox マウスと、心筋細胞特異的タモキシフェン誘導性 Cre マウス: MerCreMer マウスとを掛け合わせ、タモキシフェンを腹腔内注射することにより作成した心筋細胞特異的 Elovl6 欠損マウスに TAC 処置を行い、コントロールマウスと比較して病態の程度を検討した。さらに、培養ラット新生児心筋細胞(CM)に Elovl6 siRNA 導入および飽和・不飽和脂肪酸を外因性刺激することで、病態関連因子の発現を検討した。

【結 果】

○全身および心筋細胞特異的 Elovl6 欠損マウスに TAC 処置を行うと、コントロールマウスと比較して心/体重比および心臓線維化の増加が有意に抑制されており、心機能の低下も改善されていた。

Elovl6 全身欠損マウスに TAC 処置を行うと、野生型マウスと比較して心肥大および線維化の増加が有意に抑制されていた。次に、心機能をエコーで調べたところ、左室内径短縮率が野生型マウスの TAC 処置 4 週目および 8 週目後で低下したものの、Elovl6 欠損マウスではその低下が抑制されており、心機能が改善されていた。さらに、TAC 処置した心筋細胞特異的 Elovl6 欠損マウスでも、コントロールマウスと比較して心肥大および心臓線維化の抑制傾向が認められた。

○Elovl6 欠損マウスの心臓では飽和脂肪酸であるパルミチン酸分画が増加し、AMPK-KLF4 経路の活性化が認められた。

モデルマウス心臓の mRNA 発現を検討したところ、TAC 処置した野生型マウスで上昇している心筋肥大マーカー ANP、BNP や β ミオシン重鎖などの発現が Elovl6 欠損マウスで抑制されており、線維化因子である collagen type I および III も著明に抑制されていた。次に、脂肪酸分画を測定したところ、Elovl6 欠損マウスの心臓ではパルミチン酸分画の上昇および細

胞毒性の強いステアリン酸分画の減少傾向が認められた。さらに、Elovl6 欠損マウスの心臓では、エネルギーセンサーとして知られる AMPK のリン酸化や細胞初期化因子 KLF4 の発現上昇が認められた。

○Elovl6 をノックダウンした培養ラット新生児心筋細胞 (CM) では、線維化関連因子の発現が減少した。

培養 CM に Elovl6 siRNA の導入またはパルミチン酸を添加させると、マウスの結果と同様に AMPK-KLF4 経路の活性化が認められた。また、CM にイソプロテレノール、ノルエピネフリンおよびアンギオテンシン II などの肥大刺激を行うと、線維化進展因子 TGF- β および CTGF、心肥大関連因子 ANP および BNP の発現が上昇したが、Elovl6 をノックダウンさせると、これらの発現上昇が抑制された。

【考 察】

本研究結果より、Elovl6 による脂肪酸組成の変化が、AMPK-KLF4 経路を介して圧負荷誘導性の心肥大を制御する可能性が示唆された。我々は最近、血管平滑筋細胞における Elovl6 欠損が AMPK-KLF4 経路を活性化し、細胞増殖を抑制することで血管傷害に対して保護的に作用することを見出した⁴⁾。AMPK の活性化は圧負荷誘導性の心肥大を抑制することが報告されているが⁶⁾、脂質代謝の変化が心臓における AMPK の誘導刺激となることは新たな知見である。現在、繊維芽細胞特異的 Elovl6 欠損マウスの作成を進めており、心不全病態時における心筋細胞・心臓繊維芽細胞の脂肪酸組成やエネルギー代謝変化等をさらに詳細に検討していく。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

我々の研究結果から、様々な外的ストレスにより Elovl6 の発現や活性が変化すること、また、その発現レベルの変化により局所の脂肪酸分画が変化し、心不全病態の発症や進展にも深く関与する可能性が示唆された。今後は Elovl6 の阻害剤や遺伝子発現を制御している因子、もしくは減少が認められた飽和・不飽和脂肪酸を標的として、心不全モデル動物へ投与（経口・経腹腔・経静脈注射）することにより病態形成が抑制できるか等を検討することで、Elovl6 の発現や活性を制御する食事成分、薬剤の解明など、心不全病態の予防・治療の新たなアプローチの可能性が広がると考えている。

【参考・引用文献】

- 1) Matsuzaka T. *et al.*, Crucial role of a long-chain fatty acid elongase, Elovl6, in obesity-induced insulin resistance. *Nat Med.* 13: 1193-1202, 2007
- 2) Matsui H *et al.*, Stearoyl-CoA Desaturase-1 (SCD1) Augments Saturated Fatty Acid-induced Lipid Accumulation and Inhibits Apoptosis in Cardiac Myocytes. *PLoS One.* 7(3): e33283, 2012.
- 3) Sunaga H *et al.*, Deranged fatty acid composition causes pulmonary fibrosis in Elovl6-deficient mice. *Nat Commun.* 4: 2563, 2013.
- 4) Sunaga H *et al.*, Elongation of Long-Chain Fatty Acid Family Member 6 (Elovl6)-Driven Fatty Acid Metabolism Regulates Vascular Smooth Muscle Cell Phenotype Through AMP-Activated Protein Kinase/Krüppel-Like Factor 4 (AMPK/KLF4) Signaling. *J Am Heart Assoc.* 5 (12): e004014, 2016
- 5) Bligh EG. *et al.* A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 37: 911-917, 1959
- 6) Zhang CX *et al.*, Metformin attenuates ventricular hypertrophy by activating the AMP-activated protein kinase-endothelial nitric oxide synthase pathway in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 38: 55-62, 2011