

## 心臓リモデリングにおける細胞膜脂質の合成機構の意義

松井弘樹

群馬大学大学院保健学研究科 生体情報検査科学講座

### 【研究の背景】

心臓に血行動態負荷が加わると、心肥大(構造リモデリング)が生じると同時に、代謝変化(代謝リモデリング)が生じる。構造リモデリングでは、心筋細胞の肥大や線維芽細胞の増殖、間質の線維化が亢進し、代謝リモデリングでは、心肥大初期(代償期)より脂肪酸酸化が減少し、グルコース取り込みが増加することが知られている。構造・代謝リモデリングは、短期的には代償機構であるが、長期的に続くと破綻して心不全への進展につながると考えられており、リモデリングのメカニズムの解明は心不全の病態生理を理解する上で重要である。これまで圧負荷・伸展刺激・液性因子によって誘導される心肥大のメカニズムとして、代謝に必要な不可欠な脂肪酸が構造リモデリングに与える影響、特に心筋細胞の肥大に必要な細胞膜脂質の供給不足、組成の変化に伴う心機能低下、心不全への影響に関しては明らかにされてこなかった。

### 【目 的】

本研究では、心筋細胞を構成する脂肪酸の構成が、圧負荷病態下でどう変化するのか、また、それらが障害された場合、心肥大形成や心不全の進展にどう影響するかについて、脂肪酸合成酵素 Fatty acid synthase (FAS) および脂肪酸鎖長伸長酵素 Elongation of long chain fatty acid 6 (Elovl6) の遺伝子改変マウスを用いて明らかにすることを目的とする。

### 【方 法】

タモキシフェン誘導性の心筋細胞特異的 FAS 欠損(FAS cKO)マウス、Elovl6 欠損(Elovl6 cKO)マウスを作成し、それぞれのマウスの横行大動脈を縮窄(TAC)することで圧負荷心不全モデルを作製した。心肥大や線維化などの病理学的変化や、エコーによる心機能評価、心肥大・線維化に関連する因子の遺伝子・タンパク発現、心臓における脂肪酸の組成について検討した。また、RNA シークエンスにより網羅的な遺伝子プロファイリングと Gene Ontology (GO) 解析を行い、遺伝子発現や脂肪酸組成の変化と比較検討した。さらに、培養ラット新生児心筋細胞に FAS siRNA、Elovl6 siRNA によるノックダウン実験、脂肪酸の外因性の投与により、動物モデルで見られた結果と比較して整合性が認められるか検証した。

### 【結 果】

まず、FAS cKO マウスにおいて、TAC 処置(1, 4, 8 週間)したところ、心重量/体重比においては、コントロール群と比較して有意な差を認めなかった。また、心機能所見においては、心筋特異的 FAS 欠損マウスの心臓では、flox マウスと比較して、収縮能の指標である左室内径短縮率(FS)が有意に低下していたが、左室後壁厚などの壁厚に関しては差をほとんど認めなかった。

次に、Elovl6 cKO マウスに TAC 処置したところ、コントロールマウスと比較して心/体重比や間質線維化、左室壁厚の増加が有意に抑制され、左室収縮能の低下も有意に改善した。また、コントロールマウスの TAC 処置で認められる ANP や BNP、胎児性タンパクである  $\beta$ -MHC、procollagen I、III、TGF- $\beta$  などの肥大・線維化関連因子の発現増加が、TAC 処置した Elovl6 cKO マウスの心臓では有意に抑制されていた。また、心筋細胞における Elovl6 の発現変化が、心臓の線維化に影響

するか明らかにするため、培養ラット新生児心筋細胞に心肥大に関連するイソプロテレノールやノルエピネフリン、アンギオテンシンⅡなどの液性因子刺激を行ったところ、TGF- $\beta$  1 や CTGF、BNP の発現が誘導されるのに対し、Elovl6 を予めノックダウンさせておくと、それらの遺伝子の顕著な抑制を認めた。

これまでの結果から、心筋細胞における Elovl6 の発現変化が、心肥大や線維化に関わることが明らかとなったことから、メカニズムを明らかにするため、RNA シークエンスによる遺伝子発現の網羅的スクリーニングを行った。その結果、コントロールマウスと比較して TAC 処置した Elovl6 欠損マウスの心臓で減少している遺伝子として、炎症に関わる IL-6 や IL-1 $\beta$ 、心肥大に関与する ANP、ET-1、線維化に関与する procollagen I、TGF- $\beta$ 、CTGF、アポトーシスに関与する Caspase3 の発現が軒並み減少していた。GO 解析や heatmap 解析においても、TAC 処置で増加する extracellular matrix や immune response、extracellular region といった遺伝子群が、Elovl6 欠損マウスにおいて著明に低下していた。一方、コントロールマウスと比較して Elovl6 欠損マウスの心臓で増加している遺伝子として、我々は細胞の恒常性に関わるタンパク X 因子に着目した。この X 因子の増加に伴い、心肥大の形成、心機能低下が抑制される傾向が確認され、Elovl6 欠損マウスの心臓で減少するステアリン酸(C18:0)を培養ラット新生児心筋細胞に添加すると、著明な X 因子の発現低下を認めたことから、脂肪酸組成によって影響を受ける因子であることが確認された。

### 【考 察】

我々の結果から、心筋細胞における Elovl6 の欠損に伴い、脂肪酸組成が変化し、X 因子の発現が増加することで、圧負荷誘導性の過剰なリモデリングが抑制され、心肥大、心不全の改善につながる可能性が示唆された。現在、線維芽細胞特異的 Elovl6 欠損マウスへの TAC による心肥大・線維化への影響を検討するとともに、Elovl6 欠損に伴う X 因子の発現誘導機構について、責任脂質をリポドミクス解析により解析中である。また、Elovl6 欠損マウスから X 因子を欠損させることで、心肥大・心不全の改善効果がキャンセルされるかについても、検討していきたい。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

脂肪酸組成により影響を受ける X 因子の心臓への過剰発現や、X 因子の発現誘導を促す脂質を含む食品、薬剤の投与により、心肥大・心不全の改善効果が認められれば、既存の治療法とは違う、新たな心肥大、心不全の予防・治療アプローチにつながることを期待される。

### 【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) Umbarawan Y et al., Myocardial fatty acid uptake through CD36 is indispensable for sufficient bioenergetic metabolism to prevent progression of pressure overload-induced heart failure. *Sci Rep.* 8(1): 12035, 2018.
- 6) Umbarawan Y et al., Glucose is preferentially utilized for biomass synthesis in pressure-overloaded heart: Evidence from fatty acid binding protein-4 and -5 knockout mice. *Cardiovasc Res.* 114(8): 1132-44. 2018.