

## 論文の内容の要旨

論文題目 高脂質低炭水化物食の質が心不全に与える影響の機序解明

氏名 武城 怜史

### (序文)

心疾患は本邦で癌について第 2 位の死因である。あらゆる心疾患の終末像である心不全は、社会の高齢化に伴い、その患者数は年間 1 万人ずつ急増しており、世界的な感染症の流行になぞらえて「心不全パンデミック」と呼ばれる爆発的な増加に今後陥る可能性がある。心不全患者数の増加は、国民医療費の増加のみならず、健康寿命の低下に伴う労働力の低下や介護費の増加を招くため、その患者数の抑制は喫緊の問題である。心不全の治療の進歩は目覚ましいものの、根本的治療法はなく、その発症予防が重要である。そのため、発症の危険因子となる生活習慣病の予防が重要であり、特に毎日の生活で欠くことのできない食事の影響は大きい。しかし、いまだ心不全予防に適した食事は確立されていない。

低炭水化物食 (LCD) は、肥満を是正するために考案され、体重減少や心血管リスク因子の抑制効果を示してきた。しかし近年になり、これらの効果は短期的であり、長期的にはむしろ心血管死亡率が上昇することが指摘されている。一方で、制限した炭水化物の代わりに摂取する脂質やタンパク質の「質」が重要であることも認識され始めた。LCD の含有する脂質またはタンパク質が動物性であれば心血管死亡率は上昇し、逆に植物性であれば心血管死亡率は低下することが報告された。この機序を解明する必要があるが、疫学研究のみでは困難である。基礎研究で科学的に分子機序を明らかにすることが、安全な LCD の確立に必須と考えた。

### (方法)

LCD の脂質の質が心臓に与える影響を評価するため、高動物性脂質低炭水化物 (LCD-A) と高植物性脂質低炭水化物食 (LCD-P) を作成した。次に、マウスに横行大動脈縮窄術 (TAC) を施行し、圧負荷心不全モデルを作成した。術後に 3 群にわけ、各群に通常食 (SD)、LCD-A、LCD-P のいずれかの食事を摂取させた。術後 1 週目に心臓の組織評価と RNA-seq による遺伝子発現の評価、また血液と心臓の脂肪酸分析を行った。術後 4 週目に心臓超音波検査により心機能の評価した。

さらに RNA-seq の結果に基づき、転写因子 PPAR $\alpha$  に注目し、PPAR $\alpha$  の心臓における役割を評価した。圧負荷心不全モデルマウスに術前 1 週から術後 8 週の計 9 週間、PPAR $\alpha$  活性化薬であるペマフィブラートを経口投与した。術後 1 週目に心臓の RT-qPCR、術後 8 週目に心臓超音波検査と組織評価を行った。さらに、心臓特異的 PPAR $\alpha$  ノックアウトマウスを作製し、TAC 手術を行い、術後 4 週目に心臓超音波検査を実施した。

### (結果)

3 種類の食餌 (SD、LCD-A、LCD-P) を投与した圧負荷心不全モデルマウスの心臓超音

波検査では、3種類の食餌とも同程度の心肥大を生じた。さらに、SDやLCD-AではTAC群が偽手術群（Sham）と比べて有意に心臓が拡大し、心収縮率が低下した。一方で、LCD-Pでは心拡大と心収縮率低下は抑制された。TAC群内の比較では、LCD-AとLCD-PはそれぞれSDと比較して有意差は認めなかったが、LCD-PはLCD-Aに対して心拡大と心収縮率低下が有意に抑制された。心重量も心臓超音波検査と同様の傾向であった。免疫染色により、F4/80陽性マクロファージとCD45陽性好中球の細胞数がLCD-A TAC群で、他群と比較し著明に増加していることが明らかとなった。

RNA-seqでは、TAC群内の比較で、SDに対してLCD-Aでは細胞分裂関連遺伝子群、LCD-Pでは脂質代謝関連遺伝子群の発現が有意に増加していた。LCD-AとLCD-P間の比較でも同じ結果であった。さらに、LCD-Pの発現変動遺伝子のネットワーク解析を行い、脂質代謝関連遺伝子群の中でも特に転写因子PPAR $\alpha$ の下流遺伝子が中心であることが判明した。PPAR $\alpha$ の下流遺伝子の発現量を詳細に確認すると、SDやLCD-AではTAC群がSham群より発現量が低下する傾向にあったが、LCD-Pでは発現量が維持もしくは増加する傾向が見られた。

次に、PPAR $\alpha$ 活性化薬であるペマフィブラートを投与した圧負荷心不全モデルマウスでは、RT-qPCRでペマフィブラート群が対照群に対して、心不全の程度を示すNppaが有意に低値であった。心臓超音波検査では、両群で同程度の心肥大を示したが、心拡大はペマフィブラート群で有意に抑制され、心収縮率低下も抑制される傾向にあった。心重量や心筋の線維化もペマフィブラート群で有意に少なかった。また、心臓特異的PPAR $\alpha$ ノックアウトマウスでは、ノックアウト群が対照群に対して、著明な心拡大と心収縮率低下を認めた。

最後に、3種類の食餌（SD、LCD-A、LCD-P）が生体内の脂質構成へ与える影響を探索した。食餌中では、LCD-Aに一価不飽和脂肪酸のオレイン酸、LCD-Pに飽和脂肪酸のステアリン酸が多く含まれていた。ステアリン酸は、血液および心臓内でもLCD-Pで多く認められた。一方で、オレイン酸は高脂質食間で有意差はないものの、心臓内でその絶対量が逆転し、LCD-PがLCD-Aより増加していた。ステアリン酸からオレイン酸への不飽和化を行う酵素SCDの遺伝子発現が、LCD-Pで最も上昇していた。また、心臓内のトリグリセリド（TG）は、LCD-PがSDやLCD-Aと比べて有意に増加していた。

（考察）

LCDの脂質の質が圧負荷心不全モデルマウスに異なる影響を与えることを確認した。疫学研究と同様、LCD-Aは心機能を増悪、LCD-Pは心機能を改善させる傾向にあった。その要因として、脂質代謝をコントロールする転写因子PPAR $\alpha$ 活性に差異を見出した。また、ペマフィブラートを用いてPPAR $\alpha$ 活性化による心不全抑制効果と心臓特異的PPAR $\alpha$ ノックアウトマウスを用いて心機能維持にPPAR $\alpha$ が必要不可欠であることを確認した。

LCD-Pの心臓内で多く認められたステアリン酸やオレイン酸は、PPAR $\alpha$ のリガンドであり、心臓の主要なエネルギー基質でもある。オレイン酸はTGの構成脂肪酸となり心臓内の脂

肪滴に貯蔵されるが、LCD-P では TG の増加を認めており、脂質代謝が亢進している可能性がある。そのため、代謝フラックス解析などで実際に脂質代謝の反応速度や ATP 産生量を測定することを検討している。また、LCD-P の食餌の主体を占めたステアリン酸にも、炎症抑制やミトコンドリア機能改善効果が報告されている。今後は心筋細胞に各種脂肪酸負荷を行い、PPAR $\alpha$ 活性や心肥大シグナルの変化を検証する予定である。