

核内受容体型転写因子とアディポカインの
心血管疾患における病態生理的意義

内科学専攻 代謝・栄養病態学

【指導教員】 門脇 孝 教授

【申請者】 添田 光太郎

目次

P.1 要旨

P.2-8 序文

P.9-15

研究1：ドナリエラ抽出物（核内受容体型転写因子活性化剤）による動脈硬化抑制作用の検討

方法

結果 カフ傷害モデルのもと、9CDE 投与群では非投与群に比較して、内膜中膜比が有意に低下した

考察

P.16-27

研究2：慢性圧負荷モデルにおけるアディポネクチン・AdipoR シグナルの検討

方法

結果 TAC 施行後、心室壁は増大し、内径は拡大し、心臓重量は増加した

TAC 施行後は代償性に心肥大をきたすが、その後徐々に心機能は低下した

TAC 施行2週間後の心臓では PGC-1 α 、PPAR α や脂肪酸燃焼に関与する各分子の発現低下が認められた

TAC 施行2週間後の心臓では AdipoR1、AdipoR2 の発現が低下していた

考察

P.28 結論

P.29 謝辞

P.30-40 引用文献

P.41-68 図・表

要旨

糖尿病と心血管疾患は相互に関連し、肥満と慢性炎症・酸化ストレスは病態の共通基盤をなす可能性が指摘されている。また、脂肪細胞から分泌され抗糖尿病作用を有する生理活性物質であるアディポネクチンは、心血管疾患にも抗病的に働くことが明らかになってきた。本研究では、カフ傷害モデルにおいてはβカロテン関連物質のドナリエラ抽出物（抗酸化物質）により動脈硬化が改善した。心臓圧負荷モデルにおいては代償期終末にAdipoRの発現が低下するとともにその下流の脂肪酸酸化関連遺伝子の発現が減少し、その後非代償期となって心不全が発症した。心血管疾患においてアディポネクチン・AdipoRシグナルの増強が治療において重要である可能性が示唆された。

序文

糖尿病はインスリン作用の不足により生じる慢性の高血糖を主徴とする代謝症候群である。2007年の国民健康・栄養調査では日本全国の「糖尿病が強く疑われる人」と「糖尿病の可能性を否定できない人」の有所見者数は2200万人に達し、その増加への対処は国家的課題として位置づけられている。成人糖尿病の約95%が2型糖尿病であると考えられているが、特に近年の2型糖尿病の発症増加には、ライフスタイルの変化による環境因子が大きく関与していることは明らかである。即ち、食生活の欧米化や身体活動度の低下といったエネルギー蓄積をきたす生活習慣が肥満を形成し、インスリン抵抗性を増強し、糖尿病発症に促進的に作用していると考えられている (図1)。

糖尿病におけるインスリン作用不足においては、インスリン分泌の低下とインスリン抵抗性が病態の観点から重要と考えられている。そこでインスリンを分泌する膵β細胞とインスリンの標的臓器である肝臓と骨格筋が最も重要と考えられてきた。しかし近年では、先述の通り2型糖尿病の原因として肥満が重要であるという事実が多く研究者の関心を脂肪組織にも向けさせた。そして、脂肪組織が単に脂肪蓄積のための臓器ではなく、多数のホルモンやサイトカインを分泌する内分泌臓器であるということが明らかになってきた。脂肪組織 (adipose tissue) から分泌されるサイトカインはアディポカイン (adipokine)

と呼ばれている。これらに更に消化管や中枢神経を加えた多数の臓器がネットワークを形成して糖代謝を精妙に調節していると現在では考えられているが、その破綻をきたす基盤病態として、炎症・酸化ストレスが注目されている。

Framingham Study などの大規模臨床研究において、Body mass index (BMI) と酸化ストレスの指標である 8-epi-PGF2 α (8-epi-prostaglandin-F2 α) が相関する[1,2]ことが示され、肥満によって全身の酸化ストレスレベルが上昇することが明らかになっている。また、酸化ストレスはインスリン抵抗性の発症に寄与している[3]ことが明らかになっており、肥満による酸化ストレスの上昇がメタボリックシンドロームの病態の成因となっている可能性が指摘されており、各種抗酸化物質はその病態改善に寄与する可能性があると考え得る。

アディポネクチンは脂肪細胞から分泌されるアディポカインの一種であり、酸化ストレスに対して抗病態的に関与する生理活性物質として知られている。アディポネクチンは、ヒト脂肪組織遺伝子ライブラリーに高頻度に出現し、脂肪組織特異的に発現した遺伝子 apM1 (adipose most abundant gene transcript 1) の産物で、244アミノ酸からなる分泌タンパク質である (図 2) [4]。同時期にアディポネクチンのマウスホモログとして ACRP30、AdipoQ が独立した施設から報告されている[5,6]。正常ヒト血中には4~30 $\mu\text{g/mL}$ という高濃度で存在しているが、肥満による脂肪細胞肥大化に伴い分泌量は減少する性質を有

し (図 3) [7]、疫学的には低アディポネクチン血症が糖尿病[8-10]や心血管疾患 [11,12]のリスク因子であることが報告されている。また、基礎医学的検討によって抗糖尿病作用[13,14]、抗動脈硬化作用[15,16]、抗炎症・酸化ストレス作用を併せ持つことが明らかにされている。さらに、肥満によるアディポネクチン分泌低下などアディポカインの発現異常には脂肪組織での慢性的な炎症反応や酸化ストレスの亢進が関与する可能性が示唆されており (図 4) [17-19]、その受容体も標的臓器で肥満に伴う酸化ストレスにより発現が低下してアディポネクチン抵抗性をきたす[20]可能性があると考えられている (図 5)。

アディポネクチンホモ欠損マウスはインスリン抵抗性が存在し、耐糖能低下を示すと報告されており [13,14]、アディポネクチンは抗糖尿病作用を有すると考えられる。その作用機序として、アディポネクチンはその受容体としてクローニングされた AdipoR1、AdipoR2 (図 6) を介して AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMP-activated protein kinase; AMPK) やペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体- α (peroxisome proliferator-activated receptor- α ; PPAR α)、PPAR gamma coactivator-1 α (PGC-1 α)を活性化して脂肪酸燃焼を促進し、耐糖能改善に寄与していることが示されている (図 7、図 8) [21-23]。また、アディポネクチン欠損マウスでは野生型マウスと比較して、カフ傷害に対する内膜肥厚が有意に増加している (図 9) [14]ことから、アディポネクチンが生理的に抗動脈硬

化作用を有する因子として作用している可能性が示唆されている。以上のような様々な知見に基づき、アディポネクチンの遺伝因子・環境因子相互作用による欠乏は2型糖尿病、メタボリックシンドローム、心血管病の主要な原因であると考えられている（図 10） [24]。また、各種抗酸化物質は、酸化ストレスの軽減によりアディポネクチン産生量の低下、及び標的臓器における AdipoR 発現量の低下を抑制するなどして病態を改善する可能性があると考えられる。

心血管病の臨床的病態の終末像の多くが心不全と関連しているが、2型糖尿病やメタボリックシンドロームから心不全をきたす過程では冠動脈疾患と左室肥大 (left ventricular hypertrophy; LVH) が主要かつ重要な病態であると考えられている。そこで私は、冠動脈疾患の背景として重要な動脈硬化の動物モデルであるカフ傷害モデルを用いて、アディポネクチン作用を増強する核内受容体型転写因子活性化剤であり抗酸化剤であるドナリエラ抽出物の病態改善効果について検討し（「研究1」）、LVHの動物モデルとして横行大動脈結紮モデル（「研究2」）を用いて、心血管疾患におけるアディポネクチン・AdipoRシグナルの病態生理的意義について検討した。

冠動脈疾患は、冠動脈の閉塞や狭窄などにより、心筋への血流が阻害され、心臓に障害が起こる疾患の総称であるが、その背景として動脈硬化は重要な病態である。そこで私は本研究の「研究1」において、経口投与可能な抗酸化物

質で、アディポネクチン作用増強効果を有する物質（共同研究者による未発表データ。投稿準備中。）として、ドナリエラ抽出物（9-*cis* β-carotene-rich *Dunaliella bardawil* extract; 9CDE）を用い、同物質のカフ傷害モデルにおける新生内膜形成抑制効果を検討し、同物質の動脈硬化抑制効果について検証を試みた。*Dunaliella bardawil*はβ-caroteneを豊富に含む長径約10μmの好塩性緑色藻であり、強光、高塩濃度条件下で9-*cis*型とall-*trans*型を約50%ずつ含むβ-caroteneを蓄積する（図11）。本研究の「研究1」では、日健総本社より重量比で約70%9-*cis*型を含む抽出物（乾燥粉末）をご提供いただいた。以前よりβ-caroteneは抗酸化物質として知られていたが、1992年、Kliwer SAらより核内受容体型転写因子の活性化作用を有することが報告され[25]、9-*cis*型は9シス-レチノイン酸の前駆体で、all-*trans*型と異なり核内受容体型転写因子であるレチノイドX受容体（retinoid X receptor；RXR）を活性化することが分かった。また、RXRはその活性化により抗糖尿病作用を有することが報告された[26]。RXRはPPAR、LXRとヘテロダイマーを形成し、それぞれのヘテロダイマーはPPARアゴニストやLXRアゴニストで活性化されるが、RXRアゴニスト単独でもRXR/PPARヘテロダイマー活性化能、RXR/LXR活性化能を有し[27]、またRXR共存によってPPARアゴニスト効果、LXRアゴニスト効果を増幅するシナジー作用も知られている[28]。PPARαはこのRXRとヘテロダイ

マーを形成して脂肪燃焼促進やこれによる血中 TG の低下、血中 HDL-コレステロールの増加をもたらすと考えられており、PPAR α 作動薬であるベザフィブラートと併用した場合は、メタボリックシンドロームに対するこのような抗病態的効果が増強され[29]、また LDL 受容体欠損マウスでは、9-*cis* β -carotene の投与により動脈硬化領域が縮小した[30] と報告されており、9-*cis* β -carotene の粥状硬化抑制作用の可能性が示唆された。また、私達の研究グループの実験結果からは、9CDE が経口投与可能な抗酸化物質として、また抗糖尿病作用を有する核内受容体型転写因子 RXR の活性化剤として、そしてさらにアディポネクチン産生を増加させ、AdipoR を増加させる可能性のある物質としてはたらき、動脈硬化改善に有用である可能性が考えられた。(共同研究者による未発表データ。投稿準備中。)

「研究 1」で使用したカフ傷害モデルとは、動脈硬化の過程の一部でもある血管リモデリングの評価系であり、ポリエチレン製チューブを大腿動脈周囲に留置して新生内膜形成を評価する動物モデルである。主に血管外膜、中膜での炎症反応により引き起こされる血管リモデリング（例えば、血管形成術後の再狭窄）の病態モデルとして一般的に用いられている。カフ傷害モデルでは、外膜の炎症細胞の浸潤が中膜の平滑筋細胞の遊走、集積、さらには内膜での細胞外マトリックスの沈着を引き起こすと考えられている[31,32]。

「研究 2」では LVH の動物モデルを用いてアディポネクチン・AdipoR シグナルの病態生理的意義の解明を試みた。従来、LVH は圧負荷に対する代償性変化として考えられてきたが、Framingham Heart Study によって LVH 自体が心血管疾患の独立した危険因子であることが報告され[33]、早期発見、早期治療が重要とされてきた。「研究 2」では LVH から心不全に至る動物モデルとして横行大動脈縮窄術 (transverse aortic constriction; TAC) [34]を用いて LVH におけるアディポネクチン・AdipoR シグナルの果たす病態生理的意義について検討した。TAC とは横行大動脈に一定の間隙を残して結紮して縮窄を形成し、慢性的に左室に圧負荷を与える手技であり、一般的には施行後 2 週間は慢性的な圧負荷に対して代償的に心肥大をきたすが、施行後 4 週間後には心不全に至るという動物モデルである[35-37]。アディポネクチン欠損マウスでは野生型マウスと比較して、TAC による左室圧負荷に対する高血圧性心肥大が増悪し、生存率が低下することが示されており、アディポネクチンが心肥大から心不全をきたす病態において抗病態的作用を有する[38]可能性が示唆されている。しかしながら、高血圧性心肥大から心不全に至る実際の病態において、どのようにしてアディポネクチンのシグナルが変化するかは明らかでなかった。そこで今回、私は TAC モデルを用いて心肥大から心不全にいたる病態におけるアディポネクチン・AdipoR シグナルの変化について検討した。

研究1 ドナリエラ抽出物（核内受容体型転写因子 **RXR** 活性化剤）による動脈硬化抑制作用の検討

方法

動物

ドナリエラ抽出物（*9-cis* β-carotene-rich *Dunaliella bardawil* extract (9CDE)）は *9-cis* β-carotene を重量比で 70%含む乾燥粉末で、遮光条件のもと日健総本社より提供を受けた。


また、6週齢のオス野生型（C57B6/J）マウスをチャールズリバー株式会社より購入し、12時間毎の明暗周期のもと、普通食（CE-2®、日本クレア）で飼育した。10週齢で後述の方法でカフ傷害モデルを作成し、2週間後（12週齢）に回収するまで、1日1個体あたり 9CDE を抽出物（乾燥粉末）として 14mg 含むメチルセルロースに懸濁させた液体 200μL を連日強制経口投与した。

（図 12）コントロール群には 9CDE 非懸濁のメチルセルロースを 1日あたり同量の 200μL 連日経口投与した。

実験動物については「実験動物の飼養及び保管等に関する基準（昭和 55 年 3 月 27 日総理府告示）」を遵守して実験に利用し、実験動物の生活環境の保全と、実験に際してできる限り苦痛を与えないように努力している。また、「研究機関

等における実験動物等の実施に関する基本指針（平成 18 年文部科学省告示第 7 1 号）」を遵守している。また、この研究を行うに至った背景、あるいは基となる関連研究の遺伝子組み換え実験は、平成 19 年 9 月 19 日の東京大学医学部組み換え DNA 実験安全委員会において承認を受けた糖尿病・代謝内科門脇研究室の「アデノウイルス・レトロウイルス・遺伝子改変マウスを用いた糖尿病の原因解明と治療法の開発」（整理番号 27-3）に含まれており、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（平成 15 年 6 月 18 日法律 9 7 号）」に遵守し、適切な拡散防止措置をとっている。

カフ傷害モデル

先述の 10 週齢オス野生型マウスの両側大腿動脈周囲に長さ 1mm のポリエチレン製チューブ（PE50®、内径 0.58mm、外径 0.965mm、Becton Dickinson, NJ, USA）を留置し（ 13）、留置直後から 9CDE 投与を開始した。その後、先述の 2 週間の強制経口投与の期間の直後に同部位を回収した。

血管の走行方向に垂直でチューブ中央の断面のヘマトキシリン・エオジン染色（HE 染色）像において、新生内膜領域と中膜領域を同定してその断面積を測定し、新生内膜中膜比（intima/media ratio; I/M 比）を算出した。新生内膜は管腔と内膜内縁の間の領域、中膜は内膜外縁と中膜外縁の間の領域と定義した。

統計解析

結果は平均±標準誤差で示し、統計学的な比較にスチューデントの t 検定を用いた。p 値が 0.05 未満の場合に統計学的有意とした。

結果

カフ傷害モデルのもと、9CDE 投与群では非投与群に比較して、内膜中膜比が有意に低下した。(図 14、図 15)

顕微鏡下で新生内膜と中膜の領域を同定した。(図 14) 新生内膜の断面積は投与群で非投与群に比較して有意に縮小を認め (図 15a)、中膜の断面積には統計学的有意差を認めなかった (図 15b)。また、新生内膜断面積を中膜断面積で除した新生内膜中膜比 (intima / media ratio; I/M 比) は、投与群で非投与群に比較して有意に低下を認めた (図 15c)。(内膜面積 : 2340 ± 280 vs $1470 \pm 290 \mu\text{m}^2$, $p=0.04$ 、中膜面積 : 14200 ± 820 vs $13400 \pm 550 \mu\text{m}^2$ (統計学的有意差なし)、新生内膜中膜比 : 0.17 ± 0.02 vs 0.11 ± 0.02 , $p=0.04$ (コントロール群(n=9) vs 9CDE 群(n=6)))

考察

本研究では心不全を引き起こす主要な病態として動脈硬化と心肥大の動物モデルを用い、動脈硬化については、アディポネクチン作用増強作用の可能性を有する抗酸化物質で核内受容体型転写因子RXR活性化剤である9CDEのカフ傷害モデルにおける新生内膜形成抑制の検討（「研究1」）を、心肥大については横行大動脈縮窄モデル（TACモデル）におけるアディポネクチン・AdipoRシグナルの果たす病態生理的意義（「研究2」）を検討した。

まず、「研究1」では、9CDEを用いてカフ傷害モデルにおける新生内膜形成の抑制の可能性の検討を試みた。

カフ傷害モデルは、中膜、外膜における炎症反応を介して新生内膜形成を惹起するモデルであるが、ドナリエラ抽出物投与群でコントロール群と比較して新生内膜中膜比が有意に低下し、同物質が動脈硬化抑制作用を有する可能性が示唆された。カフ傷害モデルは炎症による血管リモデリングの動物モデルであり、9CDEが血管形成術後の再狭窄の抑制効果などを有する物質として有用である可能性が示唆された。

9CDEはサプリメントの含有物として実用化されている（ドナリエラソフトカプセル®など、日健総本社製）物質であり、実用化されている摂取量で顕著な副作用の報告はなく、実用化に関して有望である可能性が考えられた。ただし、

9-*cis* β-carotene としての今回のマウスへの投与量（約 500mg/kg 体重）は、製品としての摂取推奨量（1mg/kg 体重 未満）を大幅に上回っており注意を要する。また、9CDE の含有物質のうち、9-*cis* β-carotene 以外の物質、特に他の抗酸化物質の寄与の可能性については排除されておらず、さらなる検討を要すると考えられた。具体的には、9-*cis* β-carotene が光照射によって容易に変質することを利用して、同物質の濃度が低濃度から高濃度まで複数の濃度となる投与試料を準備する（[30]に掲載の同様の手法）ことなどが考え得る。また、9-*cis* β-carotene がカフ傷害に対する新生内膜形成抑制効果をもたらした機序として、血圧を介した機序も考え得るので、9-*cis* β-carotene と同程度の降圧効果をもたらす薬剤を投与して新生内膜形成抑制効果を比較することも重要であると考えられた。

共同研究者からは、9CDE はアディポネクチン発現増加作用の可能性と、臓器限定的ではあるが AdipoR 発現を増加させる効果を有する可能性が示唆されている。（未発表データ。投稿準備中。）また、先述の通りアディポネクチン作用はインスリン抵抗性改善に加え、新生内膜形成抑制作用を有する可能性があると考えられている[14]。同物質は、全身のインスリン抵抗性改善に加え、血管局所でアディポネクチン作用を増強することによって、新生内膜形成抑制作用を有する可能性があり（図 16）、アディポネクチン作用の関与については遺伝子

改変マウス(アディポネクチン欠損マウス、または AdipoR 欠損マウス(AdipoR1 欠損または AdipoR2 欠損または AdipoR1/2 ダブル欠損)、組織特異的 AdipoR 欠損マウス) による検討が望まれた。

以上、「研究1」では、抗酸化物質である 9-*cis* β-carotene を豊富に含むドナリエラ抽出物の投与によって、カフ傷害による新生内膜形成が抑制され、病態改善には核内受容体型転写因子 RXR の活性化作用や、抗酸化作用、また全身及び血管におけるアディポネクチン・AdipoR シグナルの増強作用の関与も推察され、今後の検討が望まれた。

研究2 慢性圧負荷モデルにおけるアディポネクチン・AdipoR シグナルの検討

方法

動物

6週齢のオス野生型 (C57B6/J) マウスをチャールズリバー株式会社より購入し、12時間毎の明暗周期のもと、普通食 (CE-2®、日本クレア) で飼育した。10週齢で後述の方法で横行大動脈結紮モデルを作成した。(図 17) なお、方法1と同様、基準や指針、法令に則って行った。

横行大動脈結紮 (transverse aortic constriction; TAC) モデル

胸部を除毛したのちに挿管し、人工呼吸器に接続した。胸骨左縁に沿って開胸して、右無名動脈と左総頸動脈を同定し、この間の部位の横行大動脈を27ゲージ針とともに7-0ナイロン糸で結紮した後、27ゲージ針を抜去した。結紮部位を確認し、閉胸した。(図 18) TAC 施行群に対し、同週齢の TAC 非施行群をコントロール群として準備した。

施術後1週間後 (TAC 群 n=10, コントロール群 n=4 (11週齢))、または2週間後 (TAC 群 n=9, コントロール群 n=3 (12週齢))、または1か月後 (TAC 群 n=9, コントロール群 n=5 (15週齢)) にイソフルランによる吸入麻酔のもと、心臓超音波検査 (Vevo2100、株式会社ソノサイト) を各個体に1回行い、拡張

期末期の心室中隔壁厚 (interventricular septum thickness; IVST)、後壁厚 (posterior wall thickness; PWT)、拡張期末期左心室内径 (end diastolic left ventricular interdiameter; LVIDd) と収縮期末期左心室内径 (end systolic left ventricular interdiameter; LVIDs) を測定した。(図 19)

また、10%ホルマリン固定を施した TAC 1 週間後、TAC 2 週間後、TAC 1 か月後の標本に HE 染色を行い、心筋線維断面を 1 スライスあたり 200-300 個測定し、その平均をその標本の心筋線維断面積とした。TAC 1 週間後、TAC 2 週間後、TAC 1 か月後につきそれぞれ n=3, それぞれの群に対して同週齢のコントロール群を準備した。(11 週齢 (TAC 1 週間後のコントロール群として) n=2、12 週齢 (TAC 2 週間後のコントロール群として) n=3、15 週齢 (TAC 1 か月後のコントロール群として) n=2)

TAC 2 週間後の標本では長軸に垂直な断面でシリウスレッド・ファストグリーン染色 (膠原線維が赤く染色される) を行い、赤に染色された領域が断面積に占める割合を算出した。(TAC 群 n=3, 同週齢(12 週齢)コントロール群 n=2) 画像解析には ImageJ (アメリカ国立衛生研究所にて開発された) を用いた。

TAC 2 週間後の個体から心臓を摘出し、この標本で後述の遺伝子発現解析を行った。コントロール群には同週齢 (12 週齢) のマウスを準備した。(TAC 群 n=11, コントロール群 n=10)

遺伝子発現解析

組織より全 RNA を定法に則って (ISOGEN® (ニッポンジーン)を用いて) 抽出し、逆転写により cDNA を得た。qPCR によって目的の遺伝子の cDNA を定量した。目的遺伝子の発現の定量は、製造済みの既知のプライマー (TaqMan® Gene Expression Assays) を用いて行った。目的の遺伝子の発現量は同 cDNA の内在性コントロール (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; GAPDH) を用いて補正した。(TAC 群 n=11, コントロール群 n=10)

統計解析

結果は平均±標準誤差で示し、統計学的な比較にスチューデントの t 検定を用いた。p 値が 0.05 未満の場合に統計学的有意とした。

結果

TAC 施行後、心室壁は増大し、内径は拡大し、心臓重量は増加した。(図 20、図 21)

TAC1 週間後または 2 週間後または 1 か月後に小動物用心エコーを用いて各種パラメータを測定したところ、IVST、PWT の測定値のいずれもが各時点でコントロール群と比較して有意に増大していた。LVIDd、LVIDs については、TAC1 週間後の LVIDd を除いてコントロール群と比較して有意に増大していた(表 1、図 20)。また、TAC2 週間後の心臓重量腓骨長比はコントロール群に比べ約 35%有意に増大し、1 か月後の心臓重量腓骨長比は約 50%有意に増加した(図 21)。(TAC 2wk; 8.1 ± 0.5 vs $10.8 \pm 0.3^*$ mg/mm, (コントロール (n=10) vs TAC (n=11), *p<0.01)) TAC 1mo; 7.6 ± 0.2 vs $12.0 \pm 1.0^*$ mg/mm, (コントロール (n=9) vs TAC (n=10), *p<0.01))

TAC 施行後は代償性に心肥大をきたすが、その後徐々に心機能は低下した(図 22、図 23、図 24)

ヘマトキシリン・エオジン染色による心臓断面においては心筋細胞横断面積(cardiomyocyte cross-sectional area) は、TAC 施行 2 週間後に約 2 倍にまで有意に増加したが、その後は横ばいであった(図 22a、図 23)。(TAC 1 週間後; 159 vs 231 ± 3.5 μm^2 , (コントロール群 (n=2) vs TAC 群 (n=3)), TAC 2 週間後;

178±14 vs 287±11*, (コントロール群 (n=3) vs TAC 群 (n=3), *p<0.05), TAC 1 か月後; 153 vs 287±8.7 μm² (コントロール群 (n=2) vs TAC 群 (n=3)) また、シリウスレッド・ファストグリーン染色では膠原線維が赤く染色されるが、TAC 2 週間後の心臓断面では赤色染色面積の断面積全体に対する割合が TAC 施行群でコントロール群に比較して約 2 倍に増大する傾向を認めた (図 24)。(コントロール群 (n=2) 0.018 vs TAC 群 (n=3) 0.048 ±0.01 (ratio))

小動物用心エコーで fractional shortening (FS = (LVIDd - LVIDs) / LVIDd)を測定したところ、TAC 1 週間後はコントロール群と比較して低下する傾向を認め、TAC 2 週間後にはコントロール群と比較して FS に統計学的有意差を認めなかった。TAC 1 か月後には FS はコントロール群と比較して有意に低下した (表 1、図 22b)。(TAC 1 週間後; 0.36±0.03 vs 0.22±0.02**, (コントロール群 (n=4) vs TAC 群 (n=10), ** p<0.01), TAC 2 週間後; 0.36±0.05 vs 0.29±0.03, (コントロール群 (n=3) vs TAC 群 (n=9)), TAC 1 か月後; 0.31±0.03 vs 0.22±0.03* (コントロール群 (n=5) vs TAC 群 (n=9), * p<0.05))

先述の結果も合わせると、TAC 施行後に代償的肥大反応をきたしており、代償的反応中に一過性に FS の低下をきたしたものの、肥大により駆出能を代償し、TAC 2 週間後には FS を保ったが、その後 TAC1 か月後には FS が低下して非代償期に至っていると考えられた。

TAC 施行 2 週間後の心臓では PGC-1 α 、PPAR α や脂肪酸燃焼に關与する各分子の発現低下が認められた。(図 25、図 26)

以上の結果から、TAC 2 週間後には心肥大が進み、非代償期に移行する前の代償期の終末期にあたるものと考えられた。TAC 2 週間後のマウスの心臓を用いて遺伝子発現解析を行った。内在性コントロールとして GAPDH (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) を用い、これの発現による補正を行って評価を行ったところ、BNP (brain natriuretic peptide)、Col Ia2 (collagen Ia2)、Col IIIa1 (collagen IIIa1) の上昇を認めた (図 25)。(BNP; 1 ± 0.12 vs $5.5\pm 1.18^*$, Col Ia2; 1 ± 0.13 vs $5.4\pm 0.99^{**}$, Col IIIa1; 1 ± 0.10 vs $7.6\pm 1.22^{**}$, (ratio, コントロール群 (n=10) vs TAC 群 (n=11), $*p<0.05$, $**p<0.01$)) また、PGC-1 α 、PPAR α 、ACO (acyl-CoA oxidase)、MCAD (medium-chain acyl-CoA dehydrogenase)、CPT1 β (carnitine palmitoyltransferase 1 β)の有意な発現低下を認めた (図 26)。(PGC-1 α ; 1 ± 0.09 vs $0.53\pm 0.03^{**}$, PPAR α ; 1 ± 0.05 vs $0.50\pm 0.04^{**}$ (図 26a), ACO; 1 ± 0.05 vs $0.68\pm 0.05^*$, MCAD; 1 ± 0.05 vs $0.47\pm 0.03^{**}$, CPT1 β ; 1 ± 0.10 vs $0.67\pm 0.07^*$ (図 26b) (ratio, コントロール群 (n=10) vs TAC 群 (n=11), $*p<0.05$, $**p<0.01$))

TAC 施行 2 週間後の心臓では AdipoR1、AdipoR2 の発現が低下していた。(図 27)

同解析においては、TAC 施行群でコントロール群に比較して AdipoR1 と AdipoR2 の発現が有意に低下していた (図 27)。AdipoR1 は 18%、AdipoR2 は 16%共に有意に低下を認めた。(AdipoR1; 1 ± 0.05 vs 0.82 ± 0.05 , AdipoR2; 1 ± 0.05 vs 0.84 ± 0.05 (ratio, コントロール群 (n=10) vs TAC 群 (n=11), ともに $p < 0.05$))

考察

本研究では心不全を引き起こす主要な病態として動脈硬化と心肥大の動物モデルを用い、動脈硬化については、アディポネクチン作用増強作用の可能性を有する抗酸化物質で核内受容体型転写因子 **RXR** 活性化剤である **9CDE** のカフ傷害モデルにおける新生内膜形成抑制の検討（「研究 1」）を、心肥大については横行大動脈縮窄モデル（**TAC** モデル）におけるアディポネクチン・**AdipoR** シグナルの果たす病態生理的意義（「研究 2」）を検討した。

「研究 2」では、**LVH** から心不全にいたる動物モデルである圧負荷心不全モデルを横行大動脈縮窄術（**transverse aortic constriction**）によって作成し、アディポネクチン・**AdipoR** シグナルの変化について検討した。10週齢の野生型マウスに27G針と同じ太さの狭窄を作成して施術し、各時点で観察を行った。同程度の縮窄形成で縮窄部より近位部で収縮期血圧は手術直後に **40mmHg** 程度上昇し、左心室に慢性圧負荷を与えることが知られている[34]が、心エコーでは施術1週間後まで心室壁の肥厚を認め、心室長軸方向に垂直な断面の切片では施術2週間後まで心筋線維の肥大化を認めたのちにその状態で横ばいとなった。また、**FS** を測定して駆出能を評価したところ、施術2週間後には施術前の値を維持したものの、その後低下する傾向を認めた。これは、**TAC** 2週間後には代償期にあり、その後非代償期に至るということを表している。

そこで、高血圧性心肥大が完成し、非代償期に移行する前段階であると考えられた TAC 2 週間後の時点の組織を用いて遺伝子発現解析を試みた。BNP、Col 1a2、Col IIIa1 は著明に増加し、また、シリウスレッド・ファストグリーン染色では線維化領域の増大が認められ、TAC による心筋圧負荷の増大と線維化の進行を示唆していた。さらに AdipoR1 の下流遺伝子である PGC-1 α 、AdipoR2 の下流遺伝子である PPAR α の低下を認め、また、ACO、MCAD、CPT1 β の低下を認め、脂肪酸酸化関連遺伝子の発現低下が認められた。

PGC-1 α や PPAR α はその遺伝子改変マウスに対する同様の TAC モデルなどによる検討[39,40]において、これらの遺伝子が抗心不全的に働いている可能性が報告されている。また、アディポネクチン欠損マウスを用いて TAC モデルを作成した検討では、アディポネクチン欠損マウスで野生型に比べて生存率が低下し、心肥大が増悪していた[38]ことから、アディポネクチン自体に抗心不全的効果を有する可能性があることが示唆されていたが、高血圧性心肥大から心不全に至る実際の病態において、どのようにしてアディポネクチンのシグナルが変化するかは明らかでなかった。本研究では高血圧性心肥大が完成し、非代償期に移行する前段階であると考えられた TAC 2 週間後の時点で、AdipoR1 と AdipoR2 の低下が認められたが、PGC-1 α や PPAR α がこれら受容体の下流に存在し、AdipoR1 と AdipoR2 がこれらを正に制御していることを考慮すると、高

血圧性心肥大から心不全に至る過程で、これら受容体の発現低下がより根本的な病態生理的意義を持つ可能性があることを示唆している。(図 28)

心臓は、正常な状態では、その活動のためのエネルギー基質の大半を脂質によっていると考えられており、不全心においてはエネルギー基質の利用が脂肪酸から糖質にシフトする[41]と言われている。AdipoR の下流には脂肪酸酸化関連遺伝子が存在しているが、心肥大が完成する TAC 2 週間後の心臓で AdipoR の発現が低下することは、正常状態から肥大心・不全心にいたる病態を把握する上で重要である可能性が示唆されたと考え得る。正常状態から肥大心・不全心に至るまでの脂肪酸から糖質へのエネルギー基質のシフトは、心筋の相対的虚血状態によって惹起された適応的变化であると考えられているが、この変化にアディポネクチン・AdipoR シグナルが関与している可能性が示唆された。(図 28)

基礎研究においては心肥大・心不全においてアディポネクチンが抗病的な作用を有することが明らかになっている[38]とともに、高血圧治療を受けていない男性において行われた検討では、血圧や肥満と独立して左室肥大と負の相関を示す[42]ことが報告されており、肥満者において血清アディポネクチン濃度は左室心筋重量 (LV mass index) と負の相関を示す[43]ことが報告されている。しかしながら、肥大型心筋症患者のアディポネクチン濃度は拡張不全が高度とな

るほど高値をとる[44]ことが報告され、複数の臨床研究においては、心不全患者では重症化するごとに血清アディポネクチン濃度が上昇する[45,46]と報告されており、両者を合理的に結び付ける結論はいまだ得られていないのが現状である。以上のことは、本研究の結果を考慮すると、肥太心から不全心に至る際に心臓で AdipoR が減少する過程が存在するのに加えて、低アディポネクチン血症から高アディポネクチン血症に転換する現象が存在する可能性を示唆するものであると考えられ、そのメカニズムとしては BNP 等を介したアディポネクチンの代償性の増加の可能性などが想定し得ると考えられた。

以上の観点から、今後は2種類の受容体 AdipoR1、AdipoR2 のそれぞれの果たす病態生理的意義の解明が望まれる。アディポネクチン欠損マウスに対して大動脈縮窄を行った報告では、siRNA 法を用いて AdipoR1 のノックダウンを行い、アディポネクチン・AdipoR シグナルから AMPK を介した血管新生作用が関与する可能性が示唆されている[47]。しかし AdipoR2 の病態生理的意義については不明であるし、本稿で論じたように利用エネルギー基質のシフトなど、解明すべき点が多い。そこで、AdipoR 欠損マウス（R1 欠損または R2 欠損または R1R2 両受容体欠損）による検討を現在計画中である。

また、AdipoR1、AdipoR2 は全身の臓器に発現し様々な作用を有していることから、より心筋特異的な検討を行うためには心筋特異的 AdipoR 欠損マウスの

作製が望まれ、これに着手中である。

以上、「研究 2」では、慢性圧負荷によって高血圧性心肥大が完成し、非代償期に移行する前段階であると考えられた TAC 2 週間後の時点で心臓において AdipoR1、AdipoR2 が低下し、その下流にある脂肪酸酸化関連遺伝子の発現が低下しており、アディポネクチン・AdipoR シグナルが心肥大から心不全に至る病態において病態生理的意義を有する可能性が示唆された。

結論

本研究の「研究1」「研究2」に示された通り、アディポネクチン・AdipoR シグナルは、心血管疾患の重要な病態である動脈硬化及び心肥大において病態生理的意義を有している可能性があり、アディポネクチンまたは AdipoR を増加させる物質を投与するなどしてアディポネクチン・AdipoR シグナルを増強することや、あるいは AdipoR アゴニストの開発・実用化を目指すことが新たな治療法開発に重要であると考えられた。

謝辞

今回の学位論文作成にあたり、門脇孝教授、山内敏正講師、岩部真人特任助教、岩部美紀特任助教（以上、糖尿病・代謝内科）、河本幸子様（日健総本社）、また循環器内科 307 研の諸先生方にご指導、ご鞭撻を賜りました。ここに感謝の意を表します。

引用文献

1. Demissie S, Levy D, Benjamin EJ, Cupples LA, Gardner JP, Herbert A, Kimura M, Larson MG, Meigs JB, Keaney JF, Aviv A. Insulin resistance, oxidative stress, hypertension, and leukocyte telomere length in men from the Framingham Heart Study. *Aging Cell* 5:325-330, 2006
2. Keaney JF, Jr., Larson MG, Vasan RS, Wilson PW, Lipinska I, Corey D, Massaro JM, Sutherland P, Vita JA, Benjamin EJ. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 23:434-439, 2003
3. Houstis N, Rosen ED, Lander ES. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature* 440:944-948, 2006
4. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochemical and Biophysical Research Communications* 221:286-289, 1996
5. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry* 270:26746-26749, 1995

6. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *The Journal of Biological Chemistry* 271:10697-10703, 1996
7. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 257:79-83, 1999
8. Daimon M, Oizumi T, Saitoh T, Kameda W, Hirata A, Yamaguchi H, Ohnuma H, Igarashi M, Tominaga M, Kato T. Decreased serum levels of adiponectin are a risk factor for the progression to type 2 diabetes in the Japanese Population: the Funagata study. *Diabetes Care* 26:2015-2020, 2003
9. Choi KM, Lee J, Lee KW, Seo JA, Oh JH, Kim SG, Kim NH, Choi DS, Baik SH. Serum adiponectin concentrations predict the developments of type 2 diabetes and the metabolic syndrome in elderly Koreans. *Clinical Endocrinology* 61:75-80, 2004
10. Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S,

Tataranni PA, Knowler WC, Krakoff J. Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Lancet* 360:57-58, 2002

11. Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S, Ouchi N, Arita Y, Okamoto Y, Shimomura I, Hiraoka H, Nakamura T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 23:85-89, 2003

12. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *The Journal of the American Medical Association* 291:1730-1737, 2004

13. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nature Medicine* 8:731-737, 2002

14. Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, Kubota T, Moroi M, Matsui J, Eto K, Yamashita T, Kamon J, Satoh H, Yano W, Froguel P, Nagai R, Kimura S, Kadowaki T, Noda T. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and

neointimal formation. *The Journal of Biological Chemistry* 277:25863-25866, 2002

15. Okamoto Y, Arita Y, Nishida M, Muraguchi M, Ouchi N, Takahashi M, Igura T, Inui Y, Kihara S, Nakamura T, Yamashita S, Miyagawa J, Funahashi T, Matsuzawa Y. An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Hormone and Metabolic Research* 32:47-50, 2000

16. Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, Nishida M, Arita Y, Kumada M, Ohashi K, Sakai N, Shimomura I, Kobayashi H, Terasaka N, Inaba T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 106:2767-2770, 2002

17. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation* 114:1752-1761, 2004

18. Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Ozdelen E, Tuncman G, Gorgun C, Glimcher LH, Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science* 306:457-461, 2004

19. Lazar MA. The humoral side of insulin resistance. *Nature Medicine* 12:43-44, 2006
20. Tsuchida A, Yamauchi T, Ito Y, Hada Y, Maki T, Takekawa S, Kamon J, Kobayashi M, Suzuki R, Hara K, Kubota N, Terauchi Y, Froguel P, Nakae J, Kasuga M, Accili D, Tobe K, Ueki K, Nagai R, Kadowaki T. Insulin/Foxo1 pathway regulates expression levels of adiponectin receptors and adiponectin sensitivity. *The Journal of Biological Chemistry* 279:30817-30822, 2004
21. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 423:762-769, 2003
22. Yamauchi T, Nio Y, Maki T, Kobayashi M, Takazawa T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Kawamoto S, Kubota N, Kubota T, Ito Y, Kamon J, Tsuchida A, Kumagai K, Kozono H, Hada Y, Ogata H, Tokuyama K, Tsunoda M, Ide T, Murakami K, Awazawa M, Takamoto I, Froguel P, Hara K, Tobe K,

Nagai R, Ueki K, Kadowaki T. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nature Medicine* 13:332-339, 2007

23. Iwabu M, Yamauchi T, Okada-Iwabu M, Sato K, Nakagawa T, Funata M, Yamaguchi M, Namiki S, Nakayama R, Tabata M, Ogata H, Kubota N, Takamoto I, Hayashi YK, Yamauchi N, Waki H, Fukayama M, Nishino I, Tokuyama K, Ueki K, Oike Y, Ishii S, Hirose K, Shimizu T, Touhara K, Kadowaki T. Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1alpha and mitochondria by Ca(2+) and AMPK/SIRT1. *Nature* 464:1313-1319, 2010

24. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation* 116:1784-1792, 2006

25. Kliewer SA, Umesono K, Noonan DJ, Heyman RA, Evans RM. Convergence of 9-cis retinoic acid and peroxisome proliferator signalling pathways through heterodimer formation of their receptors. *Nature* 358:771-774, 1992

26. Leibowitz MD, Ardecky RJ, Boehm MF, Broderick CL, Carfagna MA,

Crombie DL, D'Arrigo J, Etgen GJ, Faul MM, Grese TA, Havel H, Hein NI, Heyman RA, Jolley D, Klausing K, Liu S, Mais DE, Mapes CM, Marschke KB, Michellys PY, Montrose-Rafizadeh C, Ogilvie KM, Pascual B, Rungta D, Tyhonas JS, Urcan MS, Wardlow M, Yumibe N, Reifel-Miller A. Biological characterization of a heterodimer-selective retinoid X receptor modulator: potential benefits for the treatment of type 2 diabetes. *Endocrinology* 147:1044-1053, 2006

27. Shulman AI, Larson C, Mangelsdorf DJ, Ranganathan R. Structural determinants of allosteric ligand activation in RXR heterodimers. *Cell* 116:417-429, 2004

28. Ohta K, Kawachi E, Inoue N, Fukasawa H, Hashimoto Y, Itai A, Kagechika H. Retinoidal pyrimidinecarboxylic acids. Unexpected diaza-substituent effects in retinobenzoic acids. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 48:1504-1513, 2000

29. Shaish A, Harari A, Hananshvili L, Cohen H, Bitzur R, Luvish T, Ulman E, Golan M, Ben-Amotz A, Gavish D, Rotstein Z, Harats D. 9-cis beta-carotene-rich powder of the alga *Dunaliella bardawil* increases plasma HDL-cholesterol in fibrate-treated patients. *Atherosclerosis* 189:215-221,

2006

30. Harari A, Harats D, Marko D, Cohen H, Barshack I, Kamari Y, Gonen A, Gerber Y, Ben-Amotz A, Shaish A. A 9-cis beta-carotene-enriched diet inhibits atherogenesis and fatty liver formation in LDL receptor knockout mice. *J Nutr* 138:1923-1930, 2008

31. Kockx MM, De Meyer GR, Jacob WA, Bult H, Herman AG. Triphasic sequence of neointimal formation in the cuffed carotid artery of the rabbit. *Arterioscler Thromb* 12:1447-1457, 1992

32. Wu L, Iwai M, Nakagami H, Li Z, Chen R, Suzuki J, Akishita M, de Gasparo M, Horiuchi M. Roles of angiotensin II type 2 receptor stimulation associated with selective angiotensin II type 1 receptor blockade with valsartan in the improvement of inflammation-induced vascular injury. *Circulation* 104:2716-2721, 2001

33. Vasan RS, Levy D. The role of hypertension in the pathogenesis of heart failure. A clinical mechanistic overview. *Archives of Internal Medicine* 156:1789-1796, 1996

34. Rockman HA, Ross RS, Harris AN, Knowlton KU, Steinhilper ME, Field LJ, Ross J, Jr., Chien KR. Segregation of atrial-specific and inducible

expression of an atrial natriuretic factor transgene in an in vivo murine model of cardiac hypertrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88:8277-8281, 1991

35. Nakamura A, Rokosh DG, Paccanaro M, Yee RR, Simpson PC, Grossman W, Foster E. LV systolic performance improves with development of hypertrophy after transverse aortic constriction in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281:H1104-1112, 2001

36. Liao Y, Ishikura F, Beppu S, Asakura M, Takashima S, Asanuma H, Sanada S, Kim J, Ogita H, Kuzuya T, Node K, Kitakaze M, Hori M. Echocardiographic assessment of LV hypertrophy and function in aortic-banded mice: necropsy validation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282:H1703-1708, 2002

37. Sano M, Minamino T, Toko H, Miyauchi H, Orimo M, Qin Y, Akazawa H, Tateno K, Kayama Y, Harada M, Shimizu I, Asahara T, Hamada H, Tomita S, Molkenstein JD, Zou Y, Komuro I. p53-induced inhibition of Hif-1 causes cardiac dysfunction during pressure overload. *Nature* 446:444-448, 2007

38. Shibata R, Ouchi N, Ito M, Kihara S, Shiojima I, Pimentel DR, Kumada M, Sato K, Schiekofer S, Ohashi K, Funahashi T, Colucci WS, Walsh K.

Adiponectin-mediated modulation of hypertrophic signals in the heart.

Nature Medicine 10:1384-1389, 2004

39. Smeets PJ, Teunissen BE, Willemsen PH, van Nieuwenhoven FA, Brouns AE, Janssen BJ, Cleutjens JP, Staels B, van der Vusse GJ, van Bilsen M.

Cardiac hypertrophy is enhanced in PPAR alpha^{-/-} mice in response to chronic pressure overload. *Cardiovascular Research* 78:79-89, 2008

40. Arany Z, Novikov M, Chin S, Ma Y, Rosenzweig A, Spiegelman BM.

Transverse aortic constriction leads to accelerated heart failure in mice lacking PPAR-gamma coactivator 1alpha. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:10086-10091, 2006

41. Sambandam N, Lopaschuk GD, Brownsey RW, Allard MF. Energy metabolism in the hypertrophied heart. *Heart Failure Reviews* 7:161-173, 2002

42. Mitsuhashi H, Yatsuya H, Tamakoshi K, Matsushita K, Otsuka R, Wada K, Sugiura K, Takefuji S, Hotta Y, Kondo T, Murohara T, Toyoshima H.

Adiponectin level and left ventricular hypertrophy in Japanese men. *Hypertension* 49:1448-1454, 2007

43. Ebinc H, Ebinc FA, Ozkurt ZN, Dogru MT, Tulmac M, Yilmaz M,

Caglayan O. Impact of adiponectin on left ventricular mass index in non-complicated obese subjects. *Endocrine Journal* 55:523-528, 2008

44. Unno K, Shibata R, Izawa H, Hirashiki A, Murase Y, Yamada T, Kobayashi M, Noda A, Nagata K, Ouchi N, Murohara T. Adiponectin acts as a positive indicator of left ventricular diastolic dysfunction in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart* 96:357-361, 2010

45. George J, Patal S, Wexler D, Sharabi Y, Peleg E, Kamari Y, Grossman E, Sheps D, Keren G, Roth A. Circulating adiponectin concentrations in patients with congestive heart failure. *Heart (British Cardiac Society)* 92:1420-1424, 2006

46. Tsutamoto T, Tanaka T, Sakai H, Ishikawa C, Fujii M, Yamamoto T, Horie M. Total and high molecular weight adiponectin, haemodynamics, and mortality in patients with chronic heart failure. *European Heart Journal* 28:1723-1730, 2007

47. Shimano M, Ouchi N, Shibata R, Ohashi K, Pimentel DR, Murohara T, Walsh K. Adiponectin deficiency exacerbates cardiac dysfunction following pressure overload through disruption of an AMPK-dependent angiogenic response. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 49:210-220, 2010

図1

わが国の2型糖尿病急増の背景

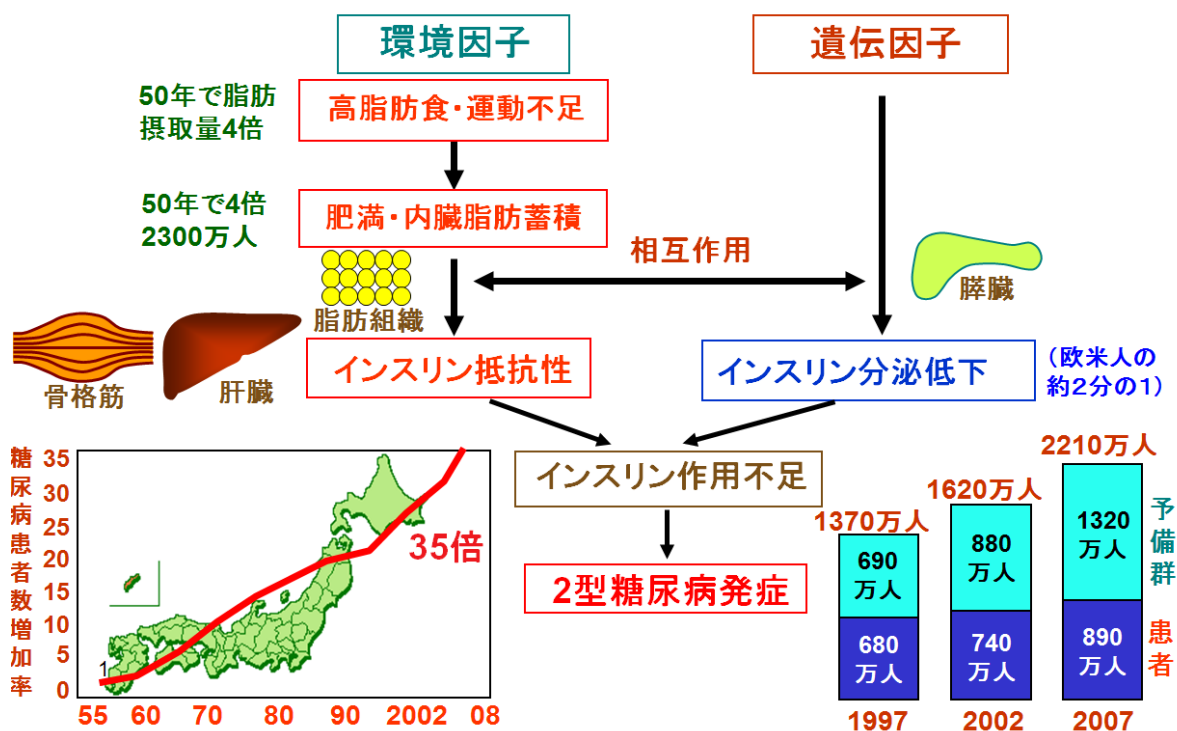


図1: わが国の2型糖尿病急増の背景 2型糖尿病急増の背景のひとつには、環境因子として高脂肪食・運動不足による肥満・内臓脂肪蓄積がある。これらがインスリン抵抗性を惹起するとともに、遺伝因子としてのインスリン分泌低下と相まってインスリン作用不足を引き起こし、2型糖尿病を発症する。

図2

アディポネクチン

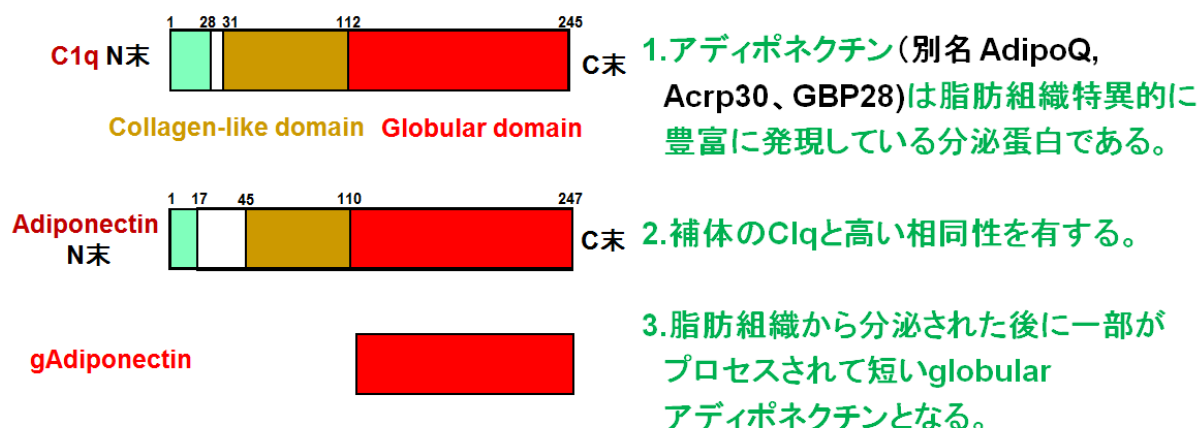


図2: アディポネクチンの分子構造 アディポネクチン (別名 AdipoQ, Acrp30, GBP28) は脂肪組織特異的に豊富に発現している分泌蛋白であり、補体C1qと高い相動性を有する。脂肪組織から分泌された後に一部がプロセッシングを受け、短いglobularアディポネクチン (gAdiponectin) となる。

図3 肥満とアディポカイン(脂肪細胞から出るホルモン)の分泌異常

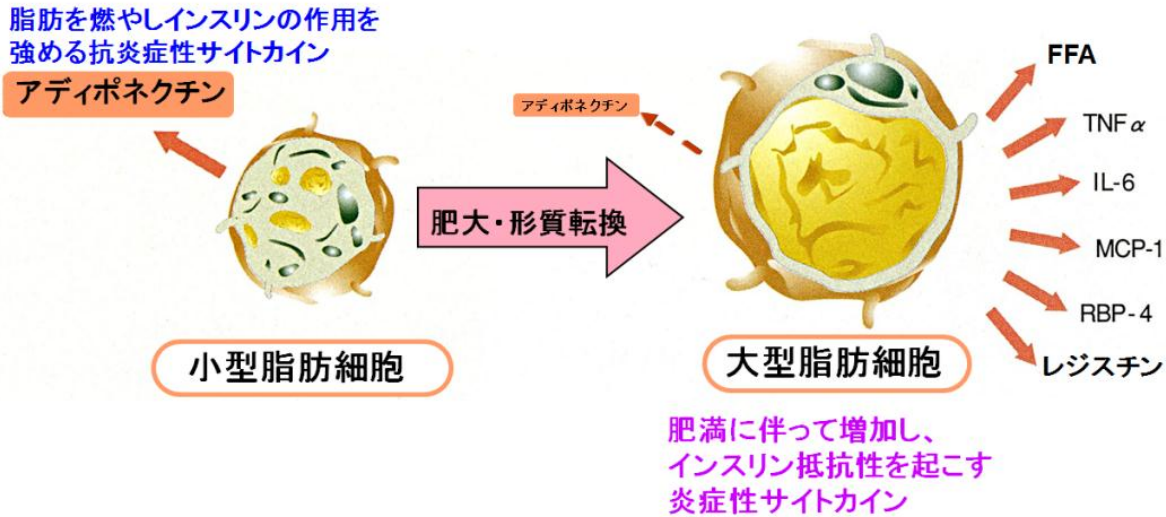


図3: 肥満とアディポカインの分泌異常 アディポネクチンは肥満による脂肪細胞肥大化に伴い、分泌量が減少する。他方、インスリン抵抗性を引き起こす各種サイトカインの分泌量は増加する。これら脂肪細胞から分泌されるサイトカインであるアディポカインの分泌異常がインスリン抵抗性を引き起こす重要な因子となっている。

図4 肥満・炎症に伴うアディポカイン異常とインスリン抵抗性

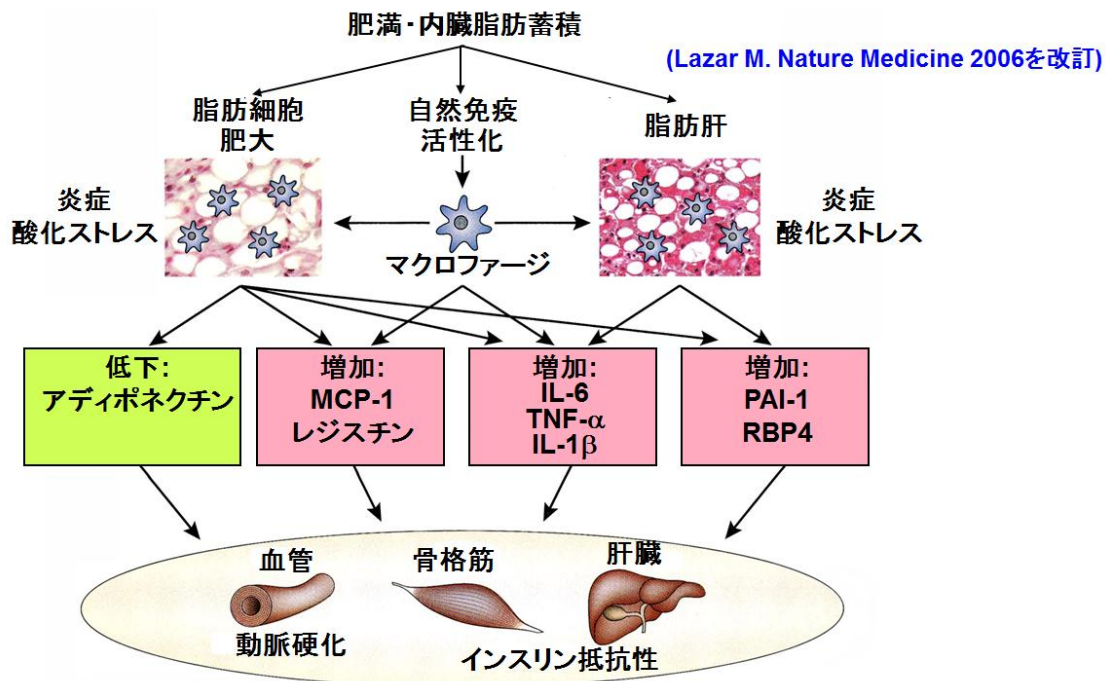


図4: 肥満・炎症に伴うアディポカイン異常とインスリン抵抗性 肥満によるアディポネクチン分泌低下などアディポカインの発現異常には脂肪組織での慢性的な炎症反応や酸化ストレスの亢進が関与する可能性が示唆されている。

図5

肥満はアディポネクチン欠乏に加えて、アディポネクチン受容体発現低下によりインスリン抵抗性を惹起する

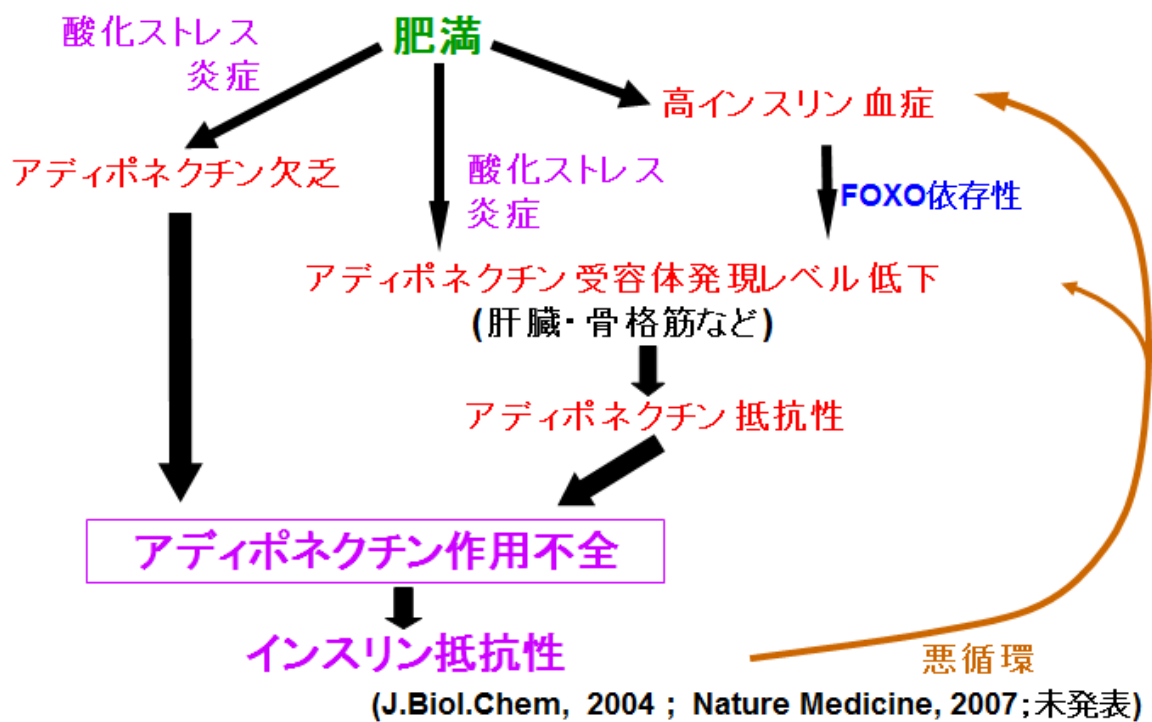


図5: 肥満はアディポネクチン欠乏に加えて、アディポネクチン受容体発現低下によりインスリン抵抗性を惹起する 肥満によって酸化ストレス、炎症、高インスリン血症が亢進し、肝臓や骨格筋などの標的臓器でアディポネクチン受容体発現レベルの低下が引き起こされ、アディポネクチン抵抗性をきたし、アディポネクチン欠乏と相まってアディポネクチン作用不全をきたし、インスリン抵抗性が増悪する。

図6 アディポネクチンの受容体のクローニング

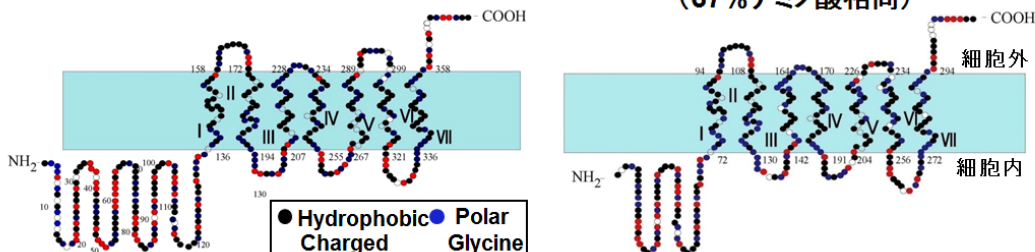
(Yamauchi T. et al, Nature 423:762-768, 2003)

アディポネクチン受容体AdipoR1及びAdipoR2はN末側が細胞内に、C末側が細胞外に存在する7回膜貫通型蛋白と予測される

AdipoR1 (1型受容体)

AdipoR2 (2型受容体)

(67%アミノ酸相同)



発現: 骨格筋、肝臓、
視床下部、マクロファージなど

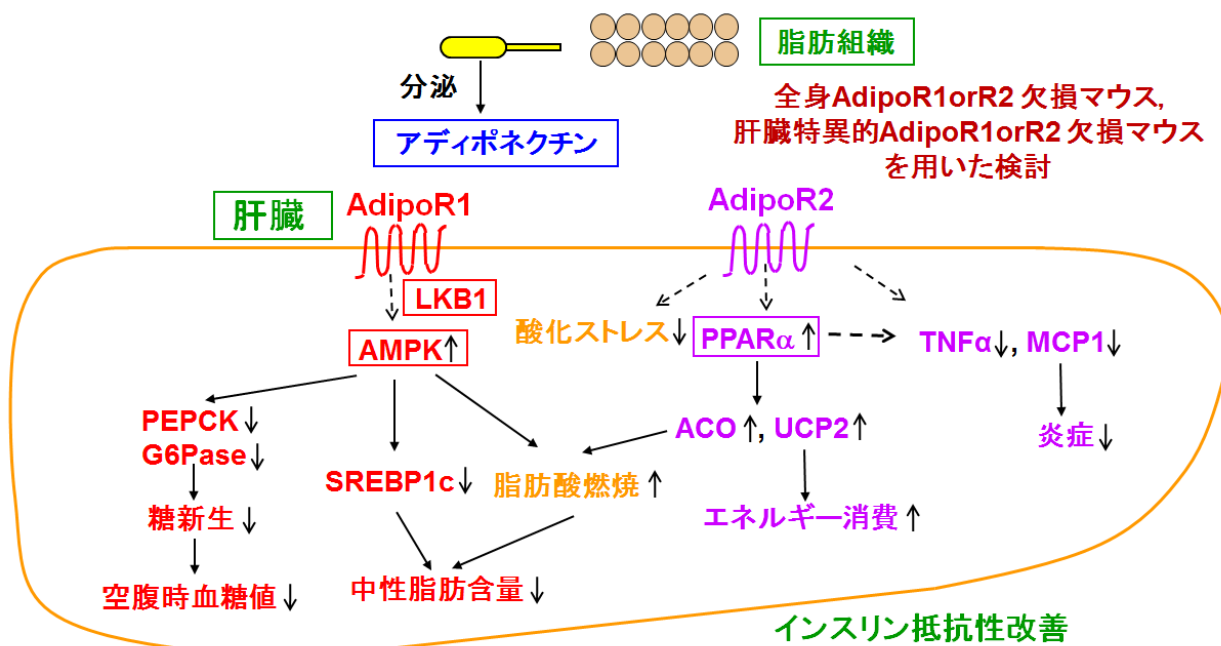
肝臓、血管内皮など

機能: AMPキナーゼ活性化

PPAR(α、δ、γ)活性化

図6:アディポネクチン受容体のクローニング アディポネクチン受容体AdipoR1及びAdipoR2はN末側が細胞内に、C末側が細胞外に存在する7回膜貫通型蛋白と予測されている。AdipoR1は骨格筋、肝臓などに多く発現し、AdipoR2は肝臓、血管内皮などに多く発現している。

図7 AdipoR1はAMPキナーゼの活性化、AdipoR2はPPARαの活性化・炎症の抑制などの作用を伝達する



(Yamauchi T et al. Nature Medicine 2007、未発表)

図7: AdipoR1はAMPキナーゼの活性化、AdipoR2はPPARαの活性化・炎症の抑制などの作用を伝達する アディポネクチンは肝臓においてはAdipoR1はAMPKを介して、AdipoR2はPPARαを介して作用しており、糖新生抑制、脂肪酸燃焼、エネルギー消費促進、抗炎症作用を有する。

図8

アディポネクチンはAMPキナーゼ/SIRT1を介してPGC-1 α を活性化する

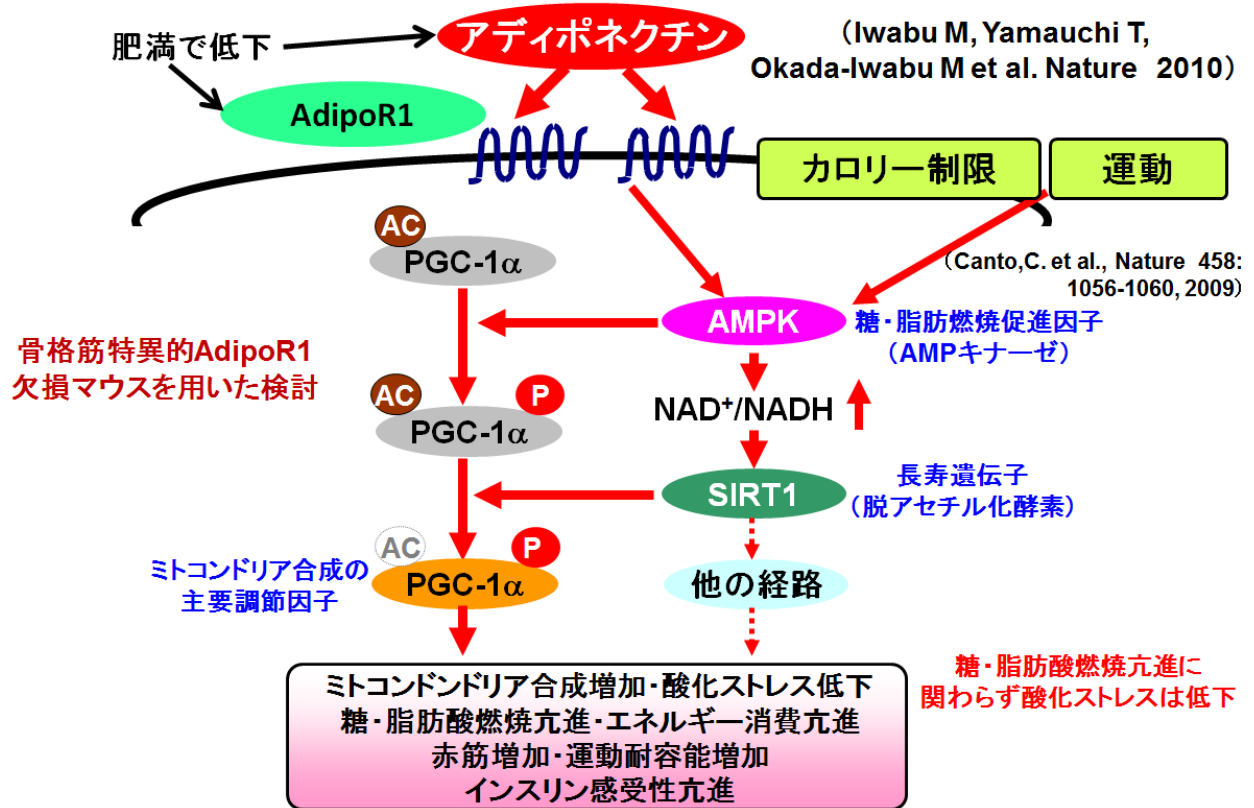
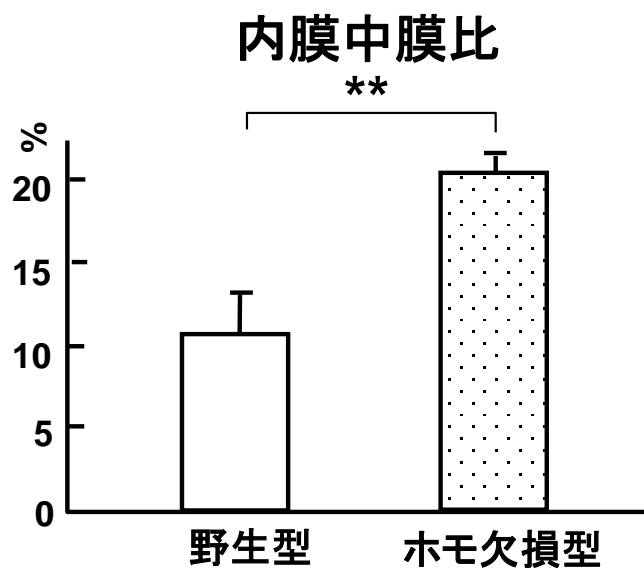
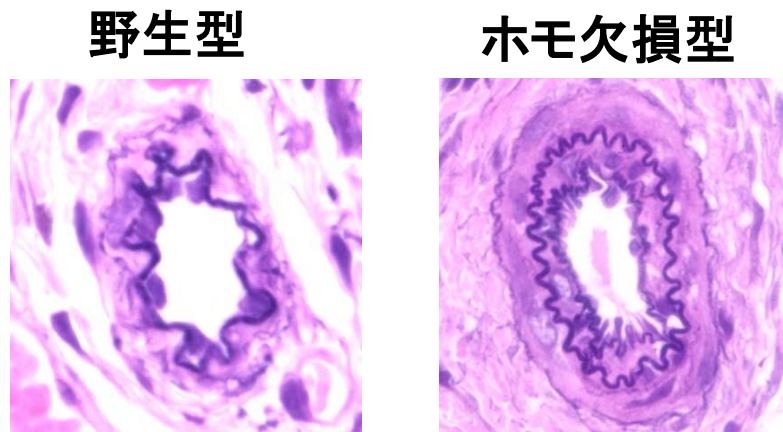


図8: アディポネクチンはAMPキナーゼ/SIRT1を介してPGC-1 α を活性化する アディポネクチンは骨格筋においてはAdipoR1よりAMPキナーゼ、SIRT1 (sirtuin (silent mating type information regulation 2 homolog) 1)を介してPGC-1 α を活性化し、ミトコンドリア合成を増加させる。他方、酸化ストレスを低下させ、糖・脂肪酸燃焼を亢進し、エネルギー消費を亢進し、インスリン感受性を亢進する。これらはアディポネクチン・AdipoRシグナルは骨格筋に置いて運動模倣効果を有することを示唆している。

図9

アディポネクチン欠損マウスのカフ傷害モデル



(Kubota N. J. Biol. Chem. 277:25863-6, 2002)

図9: アディポネクチン欠損マウスのカフ傷害モデル 動脈硬化を惹起する動物モデルであるカフ傷害モデルにおいては、アディポネクチンホモ欠損型マウスにおいて内膜中膜比が増加する。スライドはカフ留置部分の大腿動脈横断面のヘマトキシリン・エオジン染色像であり、ホモ欠損型マウス(右)でコントロール(左)より新生内膜が増加している。

図10

アディポネクチンの遺伝因子・環境因子相互作用による欠乏は2型糖尿病・メタボリックシンドローム・心血管病の主要な原因である
 (アディポネクチン仮説: Kadowaki T. et al. J.Clin.Invest. 116: 1784-1792, 2006)

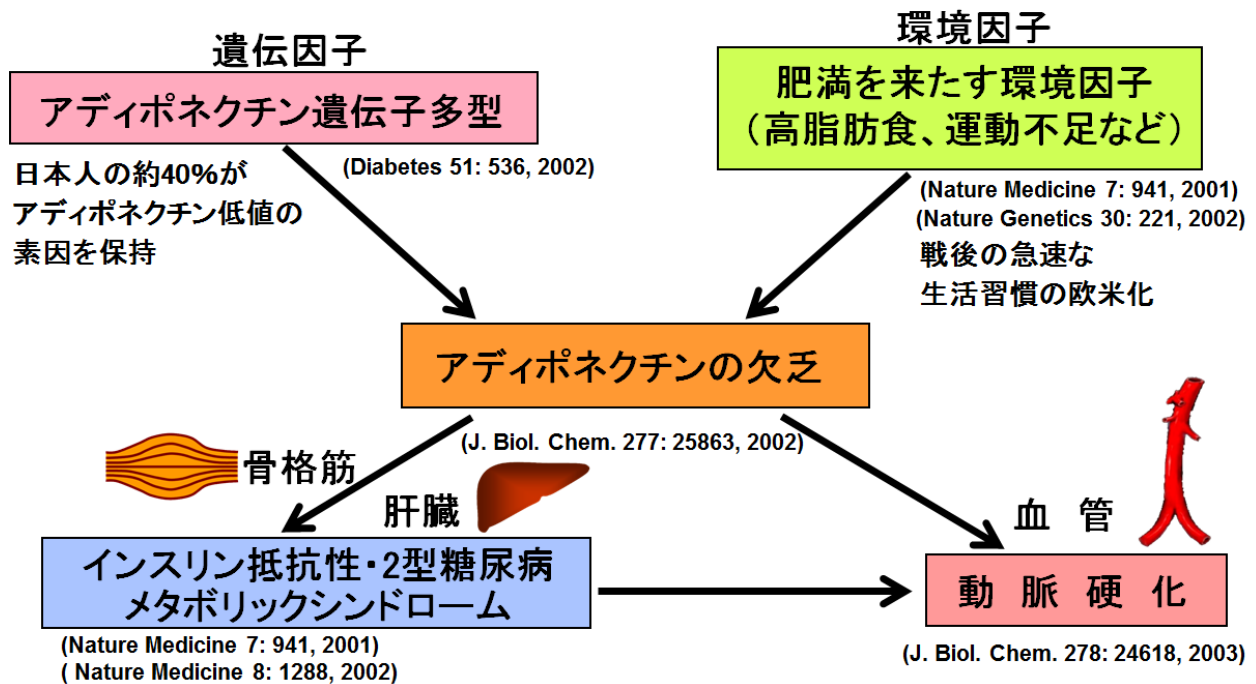
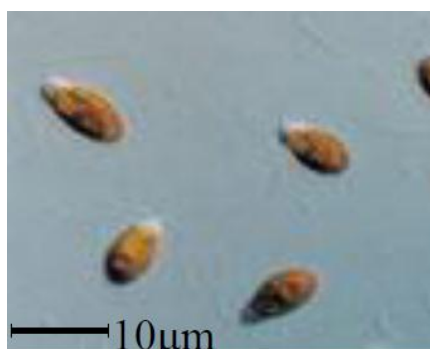


図10: アディポネクチンの遺伝因子・環境因子相互作用による欠乏は2型糖尿病・メタボリックシンドローム・心血管病の主要な原因である (アディポネクチン仮説) 遺伝因子としてのアディポネクチン遺伝因子多型と環境因子としての高脂肪食、運動不足など肥満をきたす生活習慣の両者によりアディポネクチンの欠乏が起こり、インスリン抵抗性・2型糖尿病・メタボリックシンドロームをきたし、動脈硬化性疾患が惹起される。

図11 ドナリエラとは

学術名 *Dunaliella bardawil*



- ・好塩基性緑色藻類
- ・長径約10μm
- ・強光、高塩濃度条件下でβ-caroteneを蓄積

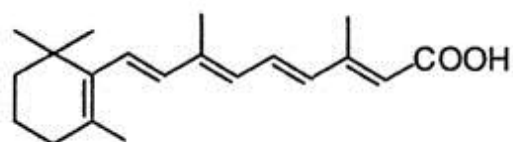
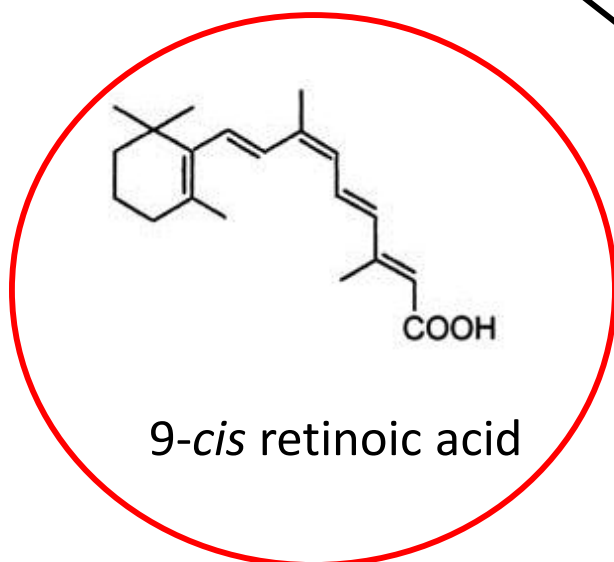
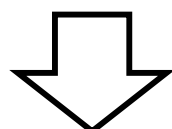
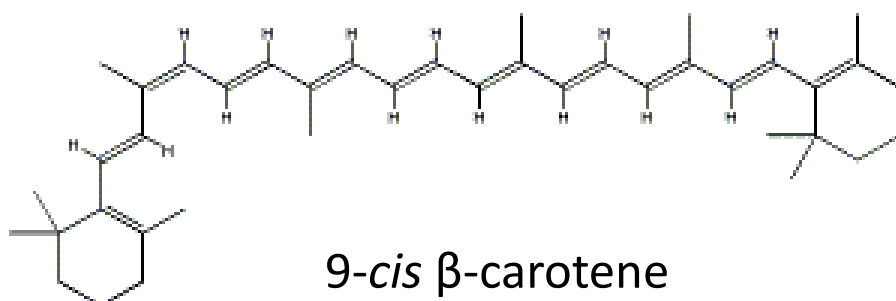


図11:ドナリエラとは ドナリエラ(学術名 *Dunaliella bardawil*)はβカロチンを豊富に含む好塩性緑色藻であり、高塩濃度条件下で9-cis型とall-trans型を約50%ずつ含むβカロチンを蓄積する。9-cis型は9シス-レチノイン酸の前駆体であるが、9シス-レチノイン酸はRXR(retinoid X receptor)を活性化する。RXRは核内受容体型転写因子であり、その活性化により抗生活習慣病作用を有することが知られている。

図12 ドナリエラ抽出物による動脈硬化抑制作用の検討（実験概要）

実験概要

- ドナリエラ抽出物(9CDE)のC57B/6Jマウスに対するカフ傷害による新生内膜形成の抑制効果を検討した。
- ポリエチレン製チューブを大腿動脈周囲に留置し、9CDEを2週間強制経口投与（抽出物(乾燥粉末)として14mgを含むメチルセルロース懸濁液を連日投与)または非投与ののち大腿動脈を回収した。
- 血管標本断面のHE染色において内膜中膜面積比を算出し、投与/非投与の2群間で比較した。

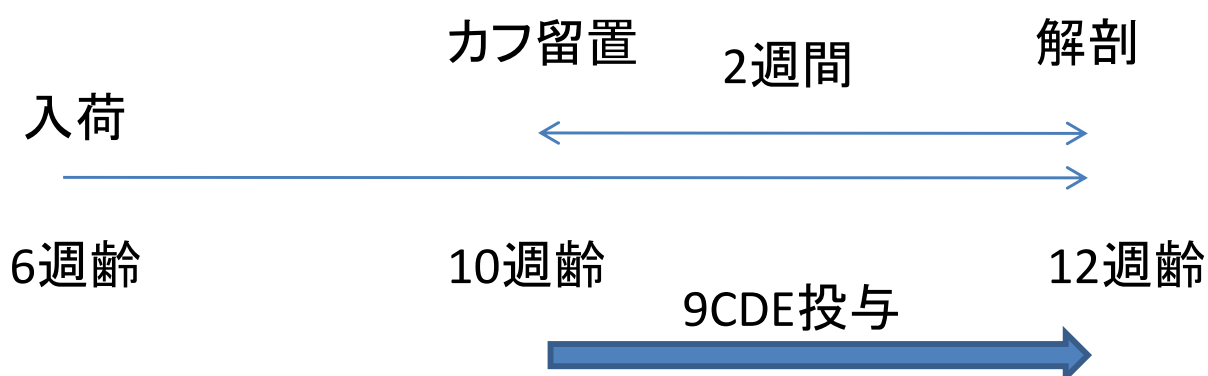
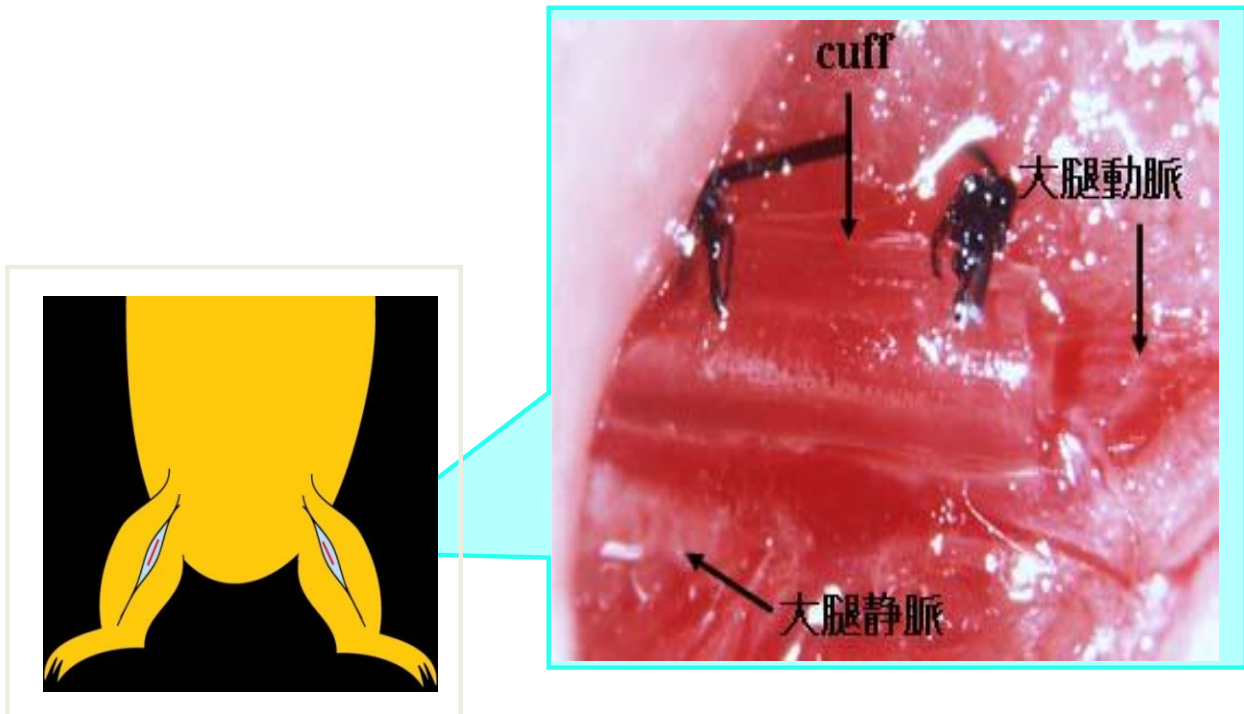


図13 カフ傷害モデルは新生内膜形成を惹起する動物モデルである

カフ傷害モデル

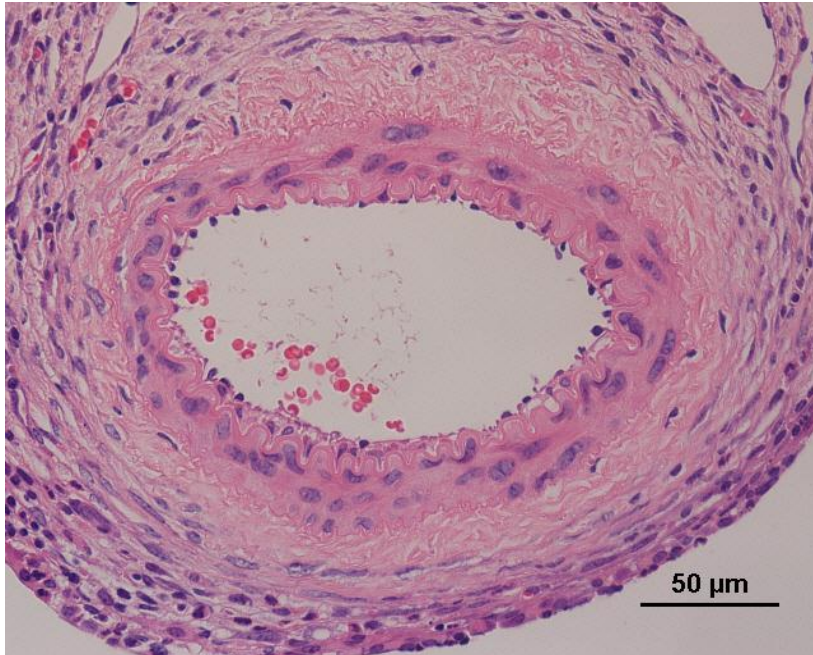


(Moroi M., et al. J Clin Invest. 101:1225-32. 1998)

図13:カフ傷害モデルは新生内膜形成を惹起する動物モデルである カフ傷害モデルはポリエチレンチューブを大腿動脈周囲に留置し、中膜、外膜の炎症反応により生ずる新生内膜形成を評価する動物モデルである。内膜肥厚部分は主に骨髄由来細胞や血管中膜より遊走し増殖した血管平滑筋細胞からなる。バルーン傷害モデルと異なり、血管内膜を傷つけないため血管内皮機能をより適切に評価することができる。

図14 カフ傷害モデルにおける大腿動脈横断面像の比較

a コントロール



b 9CDE 2週間投与

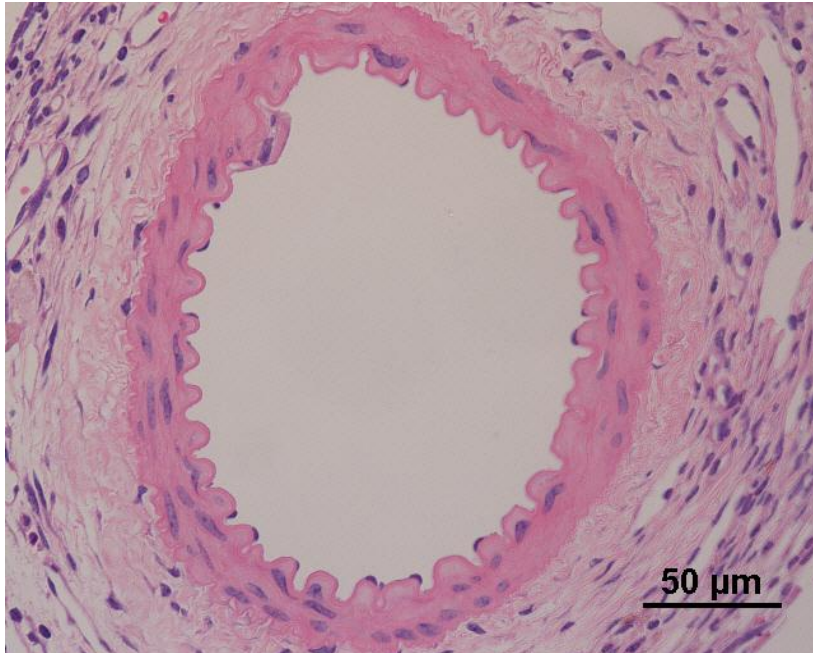
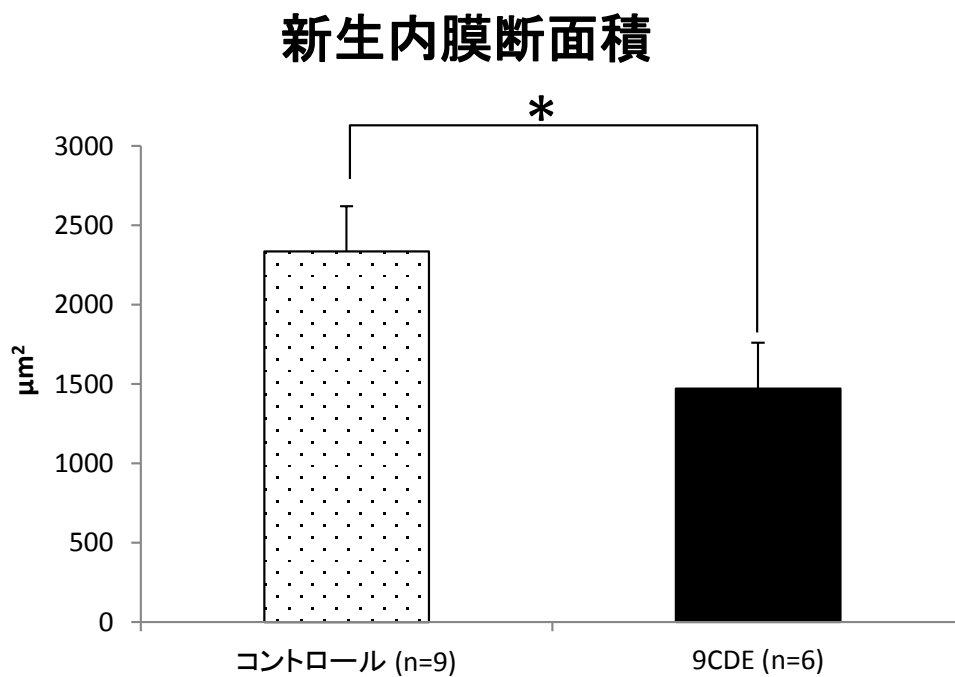


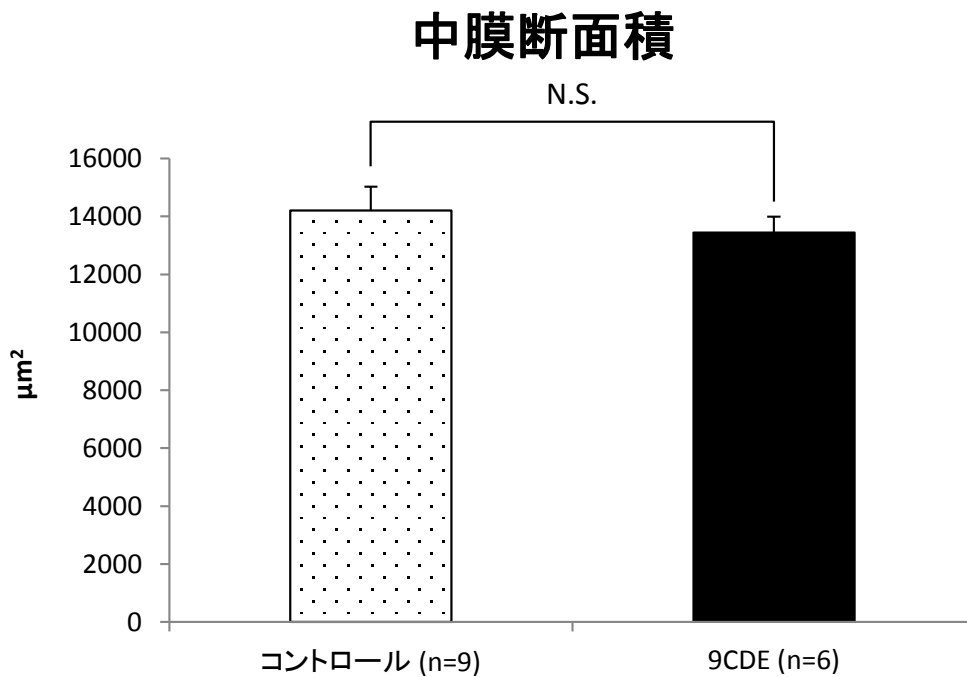
図14:カフ傷害モデルにおける大腿動脈横断面像の比較 大腿動脈カフ留置部位中央の横断面のヘマトキシリン・エオジン染色像。コントロール(a)に比べ、9CDEを投与した個体(b)では新生内膜領域が縮小している。

図15 カフ傷害モデルにおいて9CDEを投与されたマウスは対照群に比較して、新生内膜形成が抑制される

a



b



新生内膜中膜比 (I/M ratio; intima media ratio)

C

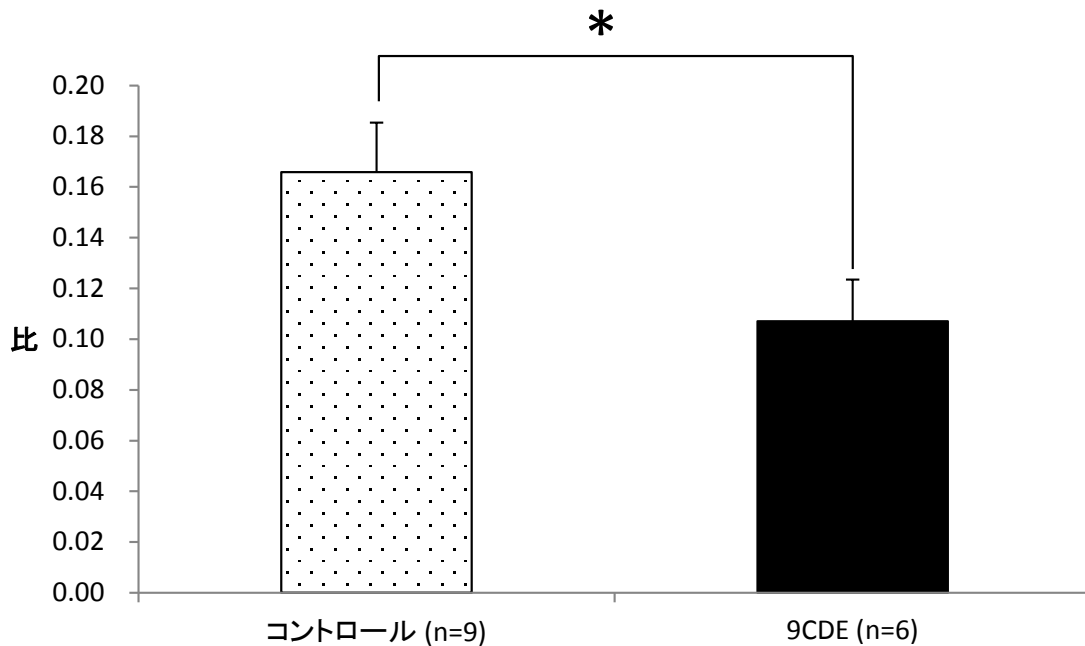


図15:カフ傷害モデルにおいて9CDEを投与されたマウスは対照群に比較して、新生内膜形成が抑制される カフ傷害モデルにおいて、9CDEを投与されたマウスは対照群に比較して、チューブ留置部の新生内膜断面積が縮小する(a)。また、チューブ留置部の中膜断面積には明らかな差が認められなかった(b)。そして、チューブ留置部の新生内膜断面積・中膜断面積比は縮小する(c)。(内膜面積: 2340 ± 280 vs $1470 \pm 290 \mu\text{m}^2$, $p=0.04$ 、中膜面積: 14200 ± 820 vs $13400 \pm 550 \mu\text{m}^2$ 、内膜中膜比: 0.17 ± 0.02 vs 0.11 ± 0.02 , $p=0.04$ (コントロール群(n=9) vs 9CDE群(n=6)、平均±標準誤差))

図16 ドナリエラ抽出物の動脈硬化改善効果における作用機序(仮説)

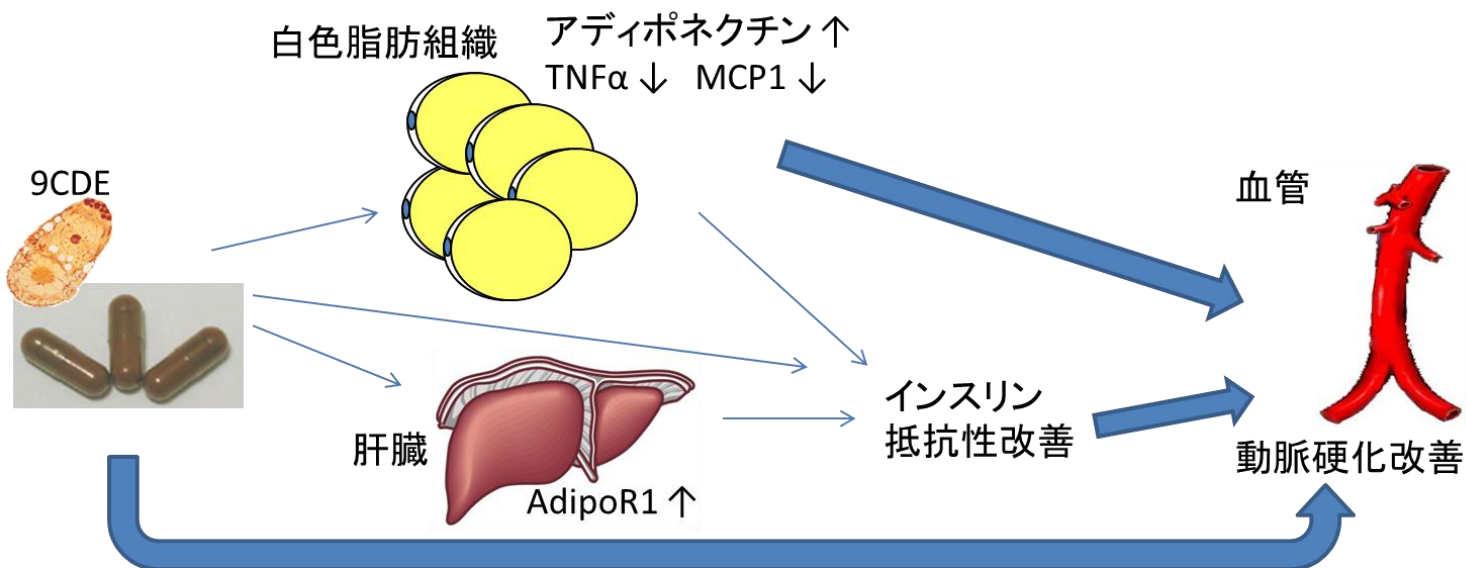


図16:ドナリエラ抽出物の動脈硬化改善効果における作用機序(仮説) ドナリエラ抽出物は抗酸化物質であると同時に、アディポネクチン発現増加効果、肝臓でのAdipoR1増加作用を有する。本研究ではドナリエラ抽出物が新生内膜形成を抑制し、動脈硬化改善作用を有する可能性が示唆されたが、その機序の一つとして、アディポネクチン作用による全身のインスリン抵抗性改善作用と、血管局所におけるアディポネクチン作用の両者の可能性が考え得る。

図17 慢性圧負荷モデルにおけるアディポネクチン・AdipoRシグナルの検討

実験概要

- C57BL6/J ♂ 10週齢に対して横行大動脈縮窄 (TAC)
- 1ヶ月後まで観察

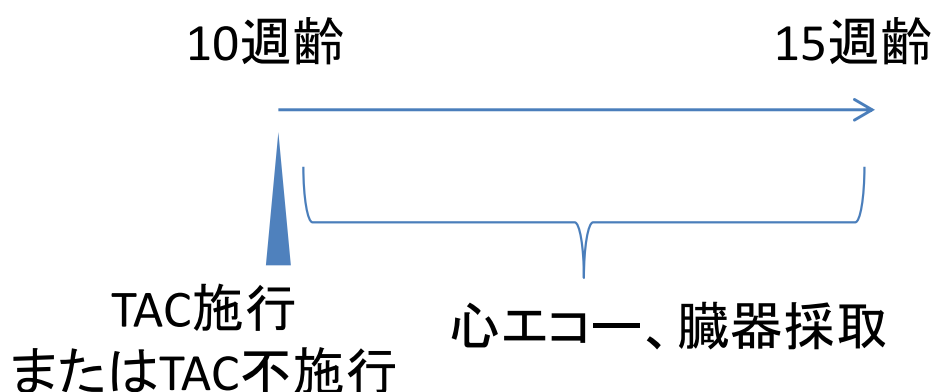


図17:慢性圧負荷モデルにおけるアディポネクチン・AdipoRシグナルの検討(実験概要) 10週齢のオスC57B6/Jに対して横行大動脈縮窄術(TAC)を施行し、その1週間後または2週間後または1か月後に心臓超音波検査を行い、臓器の採取を行った。TACを施行していない同週齢のマウスをコントロールとして扱い、摘出した心臓は遺伝子発現解析に用い、またHE染色、シリウスレッド・ファストグリーン染色を施して断面を画像的に解析した。

図18

圧負荷心不全モデル

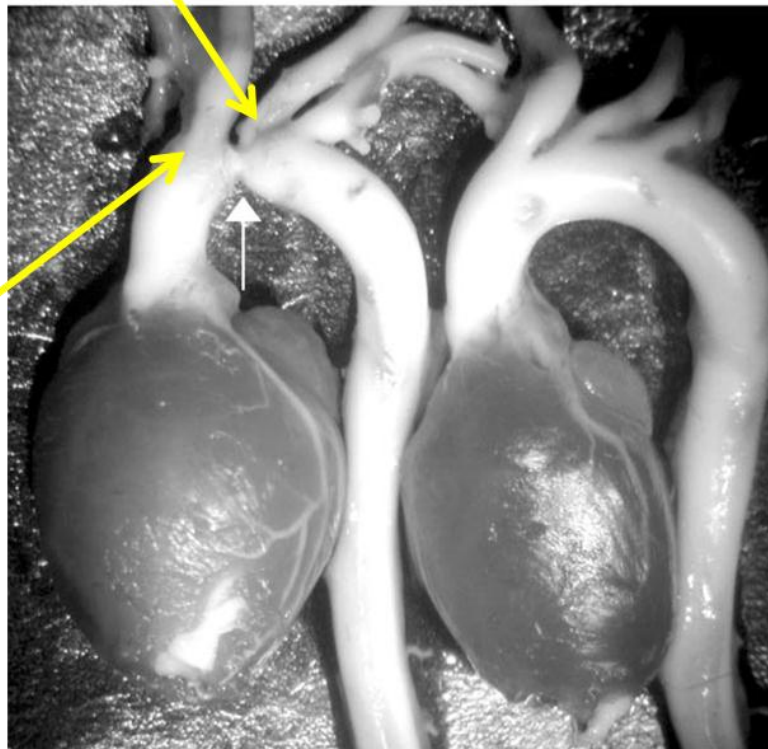
Transverse aortic constriction (TAC)

左総頸
動脈

TAC

sham

(右)無
名動脈

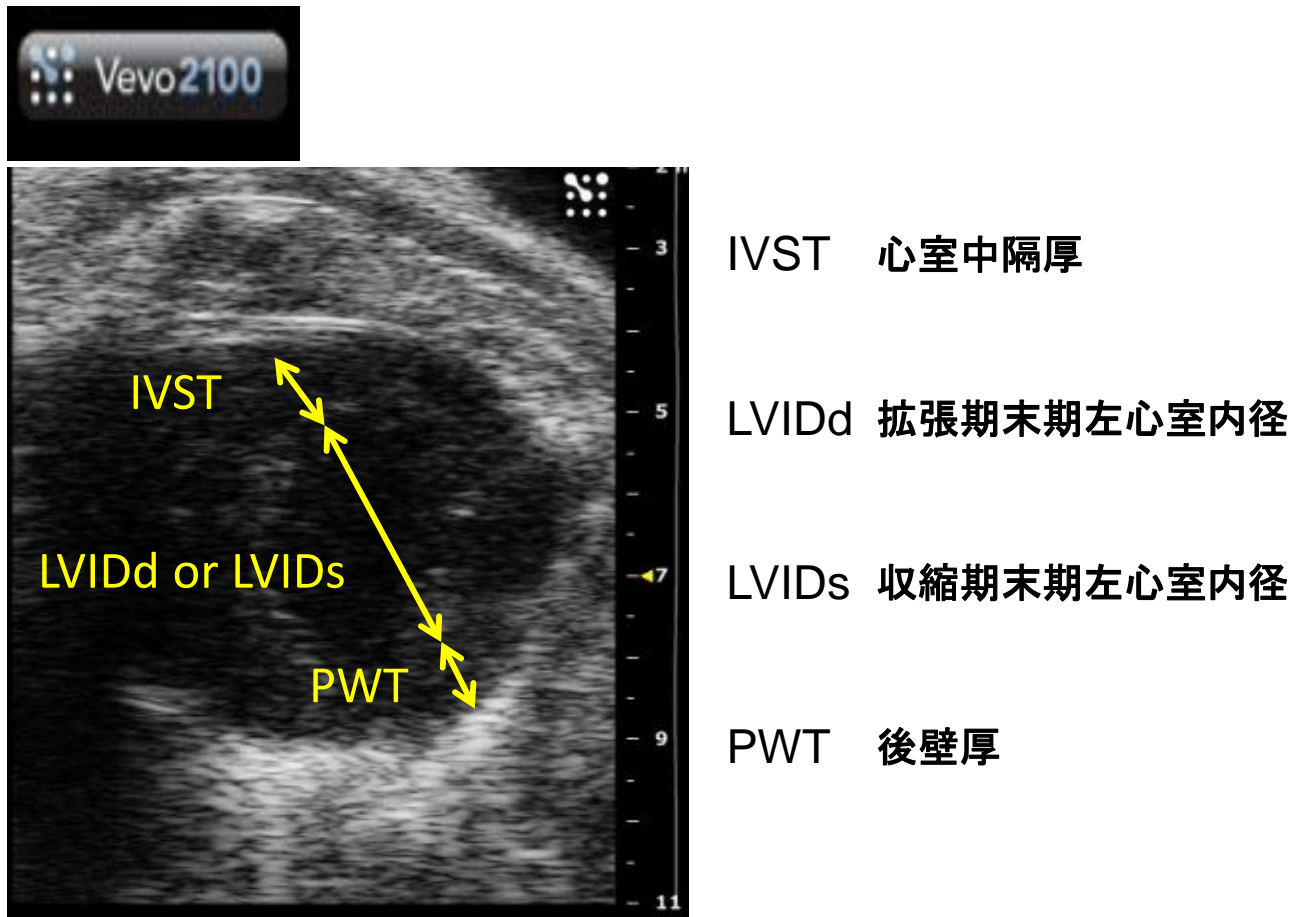


Am J Physiol Heart Circ Physiol 285: H1261–
H1269, 2003.

図18: 圧負荷心不全モデル(transverse aortic constriction: TAC) 結紮後の心臓・大血管を摘出し、固定した組織標本。無名動脈と左総頸動脈の間の横行大動脈(transverse portion of the aorta)部位を27G針とともに結紮した後に針のみ抜去することにより縮窄部より近位部に圧負荷を与える動物モデルである。慢性圧負荷より心肥大から心不全に至る病態の動物モデルとして広く用いられている。

図19

小動物心エコーによる評価の実際



- 乳頭筋断面短軸断面像を用いて上記を測定する。
- 駆出能； **FS: Fractional Shortening**(円周短縮率)
- $FS = (LVIDd - LVIDs) / LVIDd$

図19: 小動物心エコーによる評価の実際 イソフルランにて麻酔し、乳頭筋断面短軸像の超音波画像を得る。拡張期末期像からIVST、LVIDd、PWTを測定し、収縮期末期像からLVIDsを測定する。駆出能はFSにより評価した。

表1 横行大動脈縮窄 (transverse aortic constriction; TAC) 施行後の心臓超音波所見

		TAC1週間後		TAC2週間後		TAC1か月後	
		コントロール n=4	TAC n=10	コントロール n=3	TAC n=9	コントロール n=5	TAC n=9
IVST	平均	0.68	** 0.96	0.69	* 0.93	0.63	** 0.87
	標準誤差	0.05	0.05	0.11	0.04	0.03	0.05
LVIDd	平均	3.86	3.81	3.10	** 3.86	3.99	* 4.50
	標準誤差	0.23	0.08	0.28	0.09	0.17	0.13
LVIDs	平均	2.48	* 2.97	1.98	* 2.75	2.74	* 3.54
	標準誤差	0.20	0.11	0.16	0.16	0.17	0.21
PWT	平均	0.71	** 1.05	0.80	* 1.08	0.68	** 0.97
	標準誤差	0.03	0.05	0.22	0.05	0.04	0.07
FS	平均	0.36	** 0.22	0.36	0.29	0.31	* 0.22
	標準誤差	0.03	0.02	0.05	0.03	0.03	0.03

* p<0.05, ** p<0.01, コントロール群 vs TAC群, 単位mm

表1: TAC施行後の心臓超音波所見の推移(図19参照) TAC1週間後または2週間後または1か月後に測定したIVST, LVIDd, LVIDs, PWTの平均値と標準誤差を示す。IVST、PWTはTAC1週間後から1か月後までほぼ一様に増加していた。またLVIDd, LVIDsはTAC1週間後、2週間後、1か月後の順にコントロール群と比較して増加していく傾向にあった。(グラフは図19参照) (IVST; interventricular septum thickness 心室中隔厚、PWT; posterior wall thickness 後壁厚、LVIDd; end diastolic left ventricular interdiameter 拡張期末期左心室内径、LVIDs; end systolic left ventricular interdiameter 収縮期末期左心室内径)

図20 TAC(transverse aortic constriction; TAC)施行後は心室壁の肥厚(a, b)、内径の拡大(c, d)をきたす

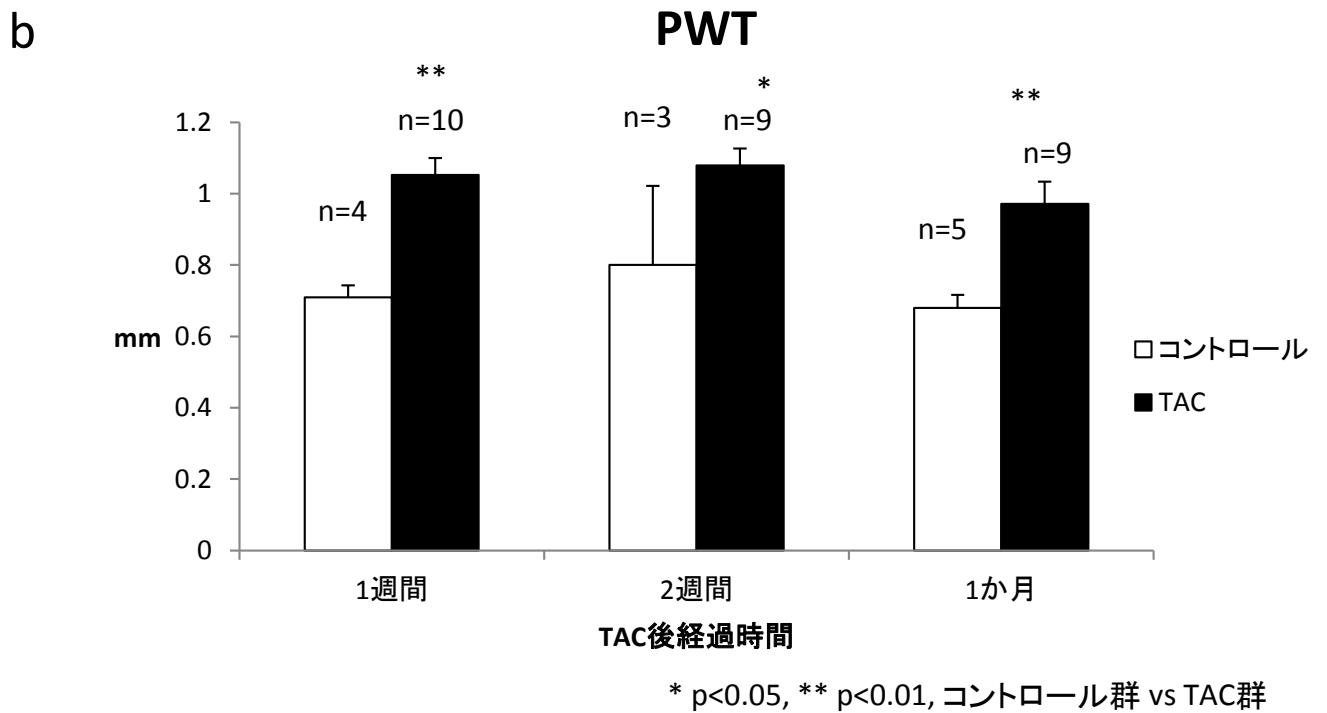
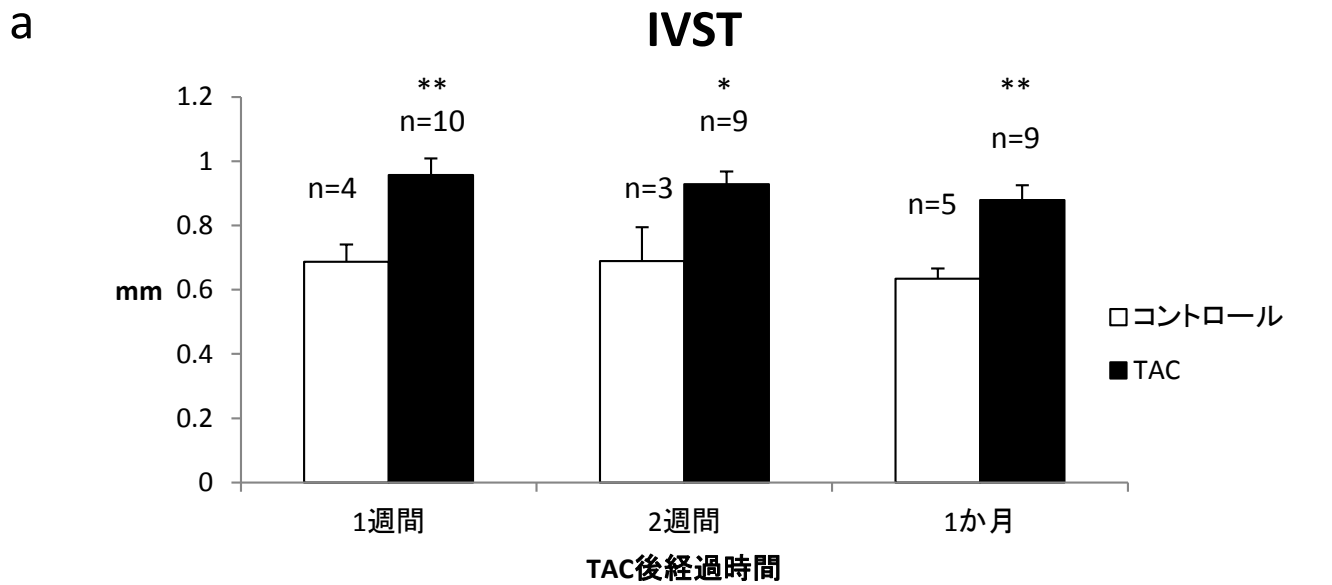
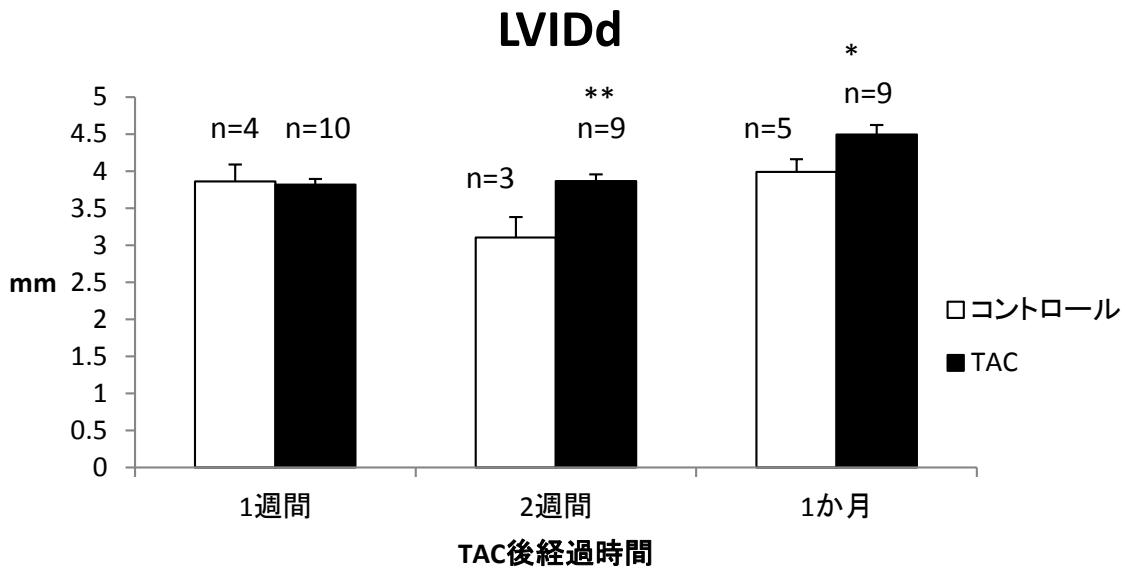


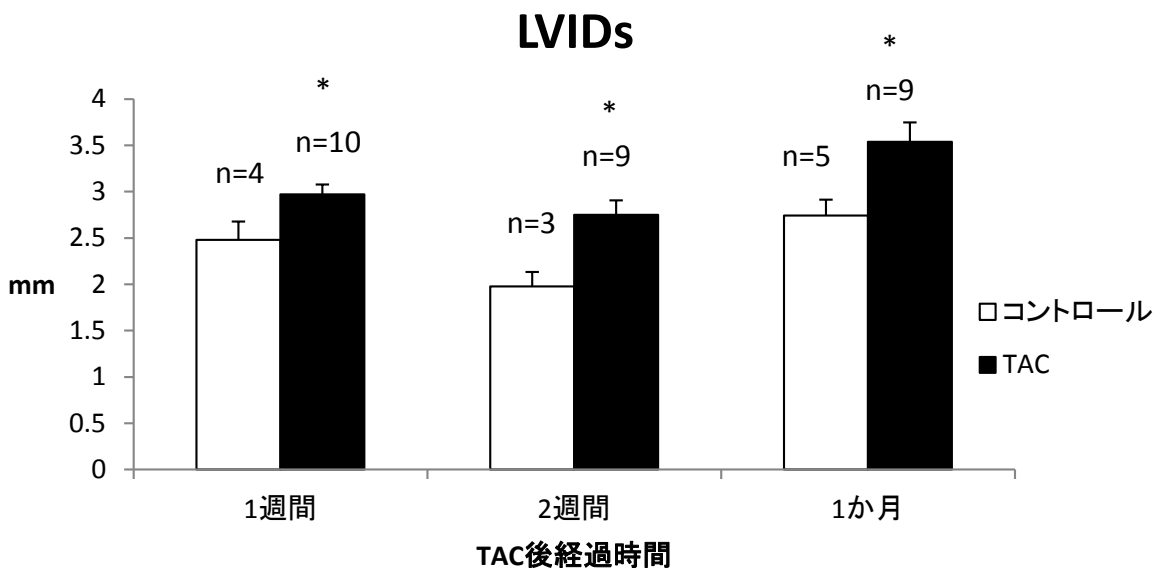
図20

c



* p<0.05, ** p<0.01, コントロール群 vs TAC群

d



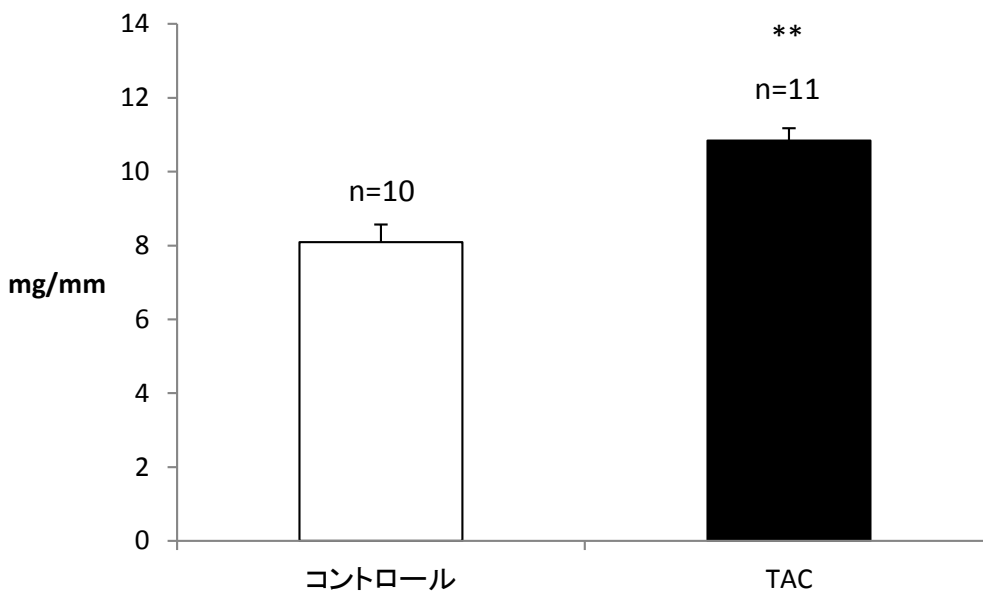
* p<0.05, ** p<0.01, コントロール群 vs TAC群

図20: TAC (transverse aortic constriction; TAC) 施行後は心室壁の肥厚(a)、内径の拡大(b)をきたす TAC施行前、施行後1週間、2週間、1か月後に心臓超音波検査を行ったところ、PWT (post wall thickness; 心室後壁厚)、IVST (interventricular septum thickness; 心室中隔厚)はTAC1週間後まで増加してその後横ばいとなり、LVIDd (end diastolic left ventricular internal dimension; 拡張期末期左心室内径)、LVIDs (end systolic left ventricular internal dimension; 収縮期末期左心室内径)はTAC1か月後まで徐々に増加した。TACモデルは横行大動脈に縮窄を作成して慢性的に心室壁に圧負荷を与える動物モデルであるが、ラプラスの法則によれば、心室壁への張力ないしストレスは、心室内圧および内径に比例し、壁の厚さに反比例する。実験結果はこの法則に矛盾しなかった。

図21

a

心重量・腓骨長比 (TAC2週間後)



b

心重量・腓骨長比 (TAC1か月後)

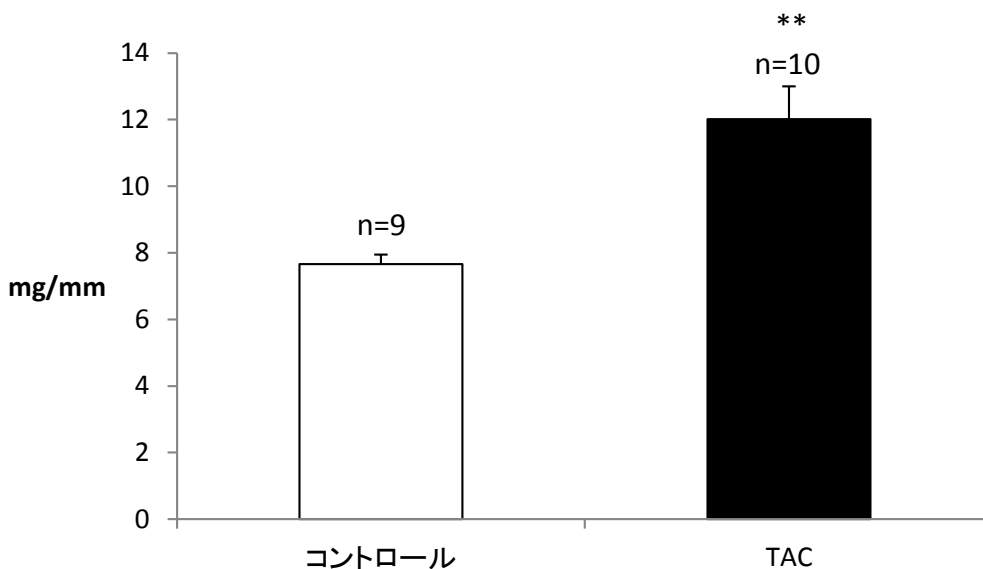


図21: TAC施行後は心重量の増大をきたす TAC施行2週間後(a)、1か月後(b)ともに対照群に比較して心重量・腓骨長比(heart weight / tibia length)の有意な増大を認めた。(TAC 2wk; 8.1 ± 0.5 vs $10.8 \pm 0.3^*$ mg/mm, (コントロール(n=10) vs TAC (n=11), $*p < 0.01$)) TAC 1mo; 7.6 ± 0.2 vs $12.0 \pm 1.0^*$ mg/mm, (コントロール(n=9) vs TAC (n=10), $*p < 0.01$)) 心重量の増大は圧負荷に対する代償性の心肥大を反映したものと考えられる。

図22 TAC施行後、代償的に心肥大を来すが、その後徐々に心機能は低下する

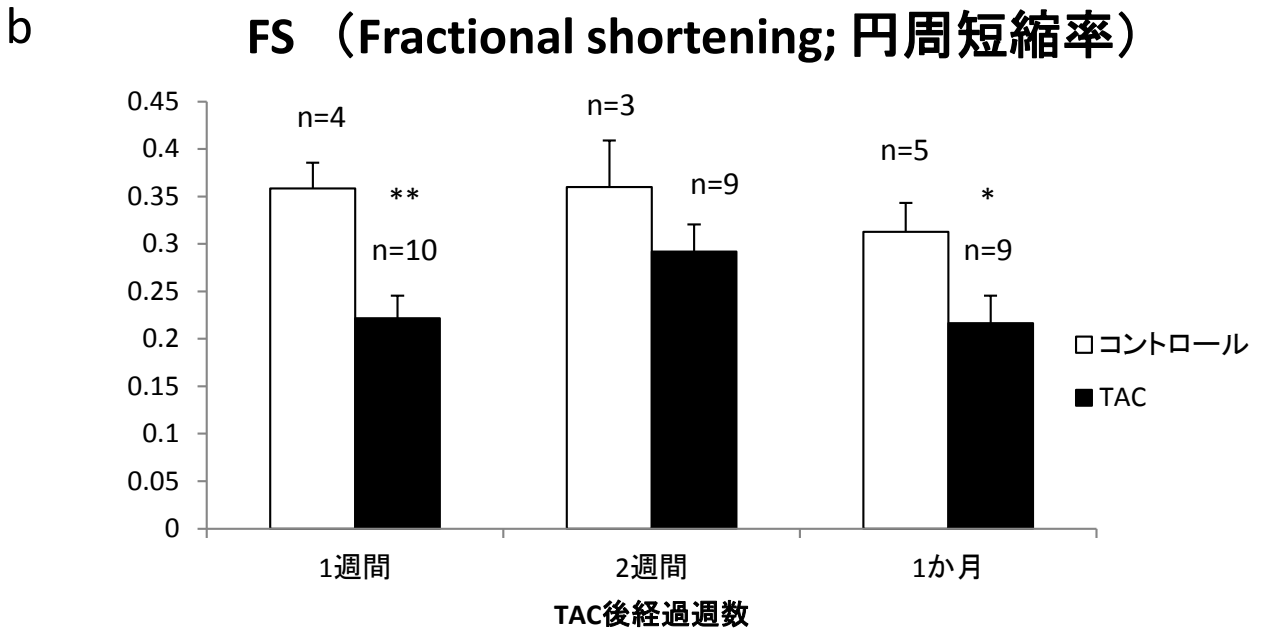
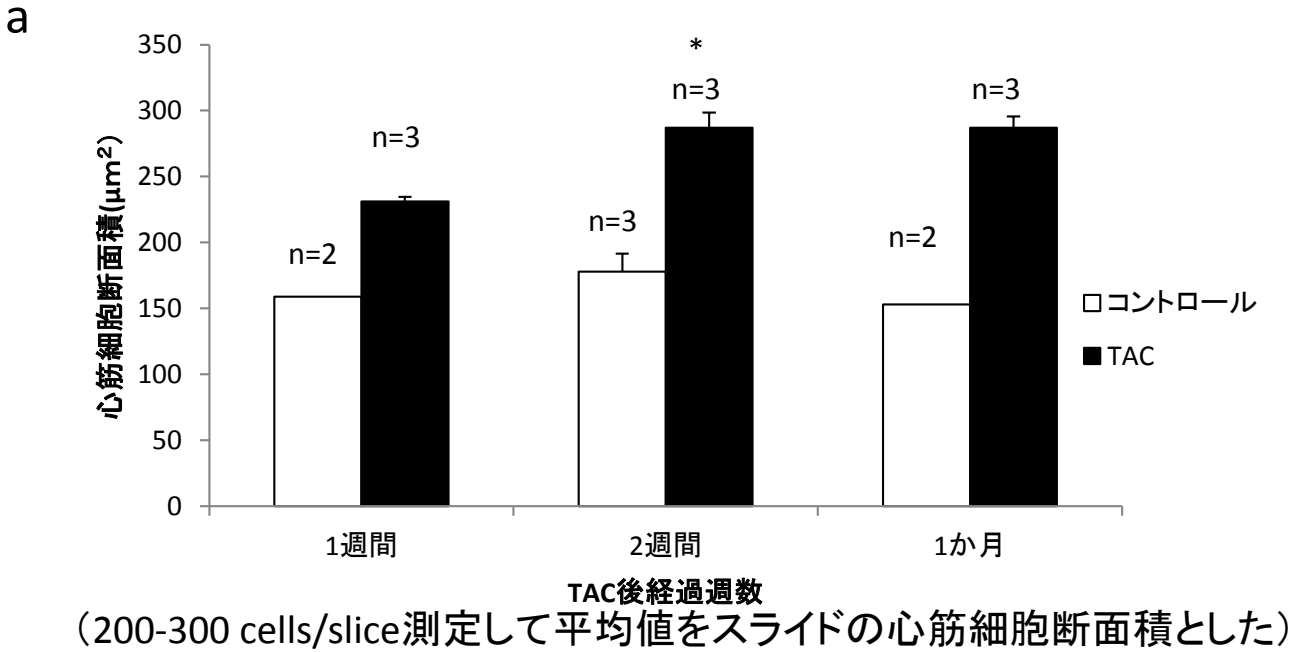
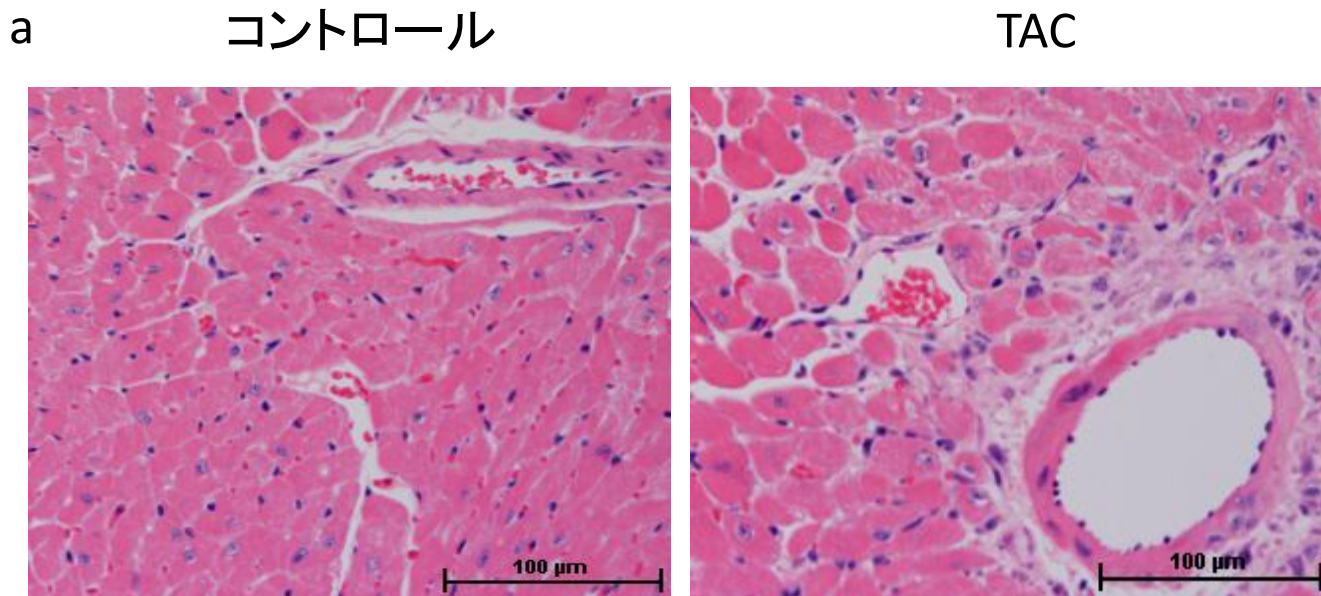


図22: TAC施行後、代償的に心肥大を来すが、その後徐々に心機能は低下する TAC施行後は心筋細胞断面積が増大するが、2週間後から横ばいになる(a)。TAC2週間後はFS (fractional shortening) が保たれるが、その後徐々に低下する傾向をみとめた(b)。(データは表1参照) TAC施行後に代償的肥大反応をきたしており、代償的反應中に一過性にFSの低下をきたしたものの、肥大により駆出能を代償してTAC2週間後にはFSを保ったが、その後TAC1か月後にはFSが低下して非代償期に至っていると考えられた。

図23 TAC2週間後の心臓の水平横断面へマトキシリン・エオジン染色では心筋線維の肥大化を認めた



b
心筋細胞横断面積
TAC 2週間後

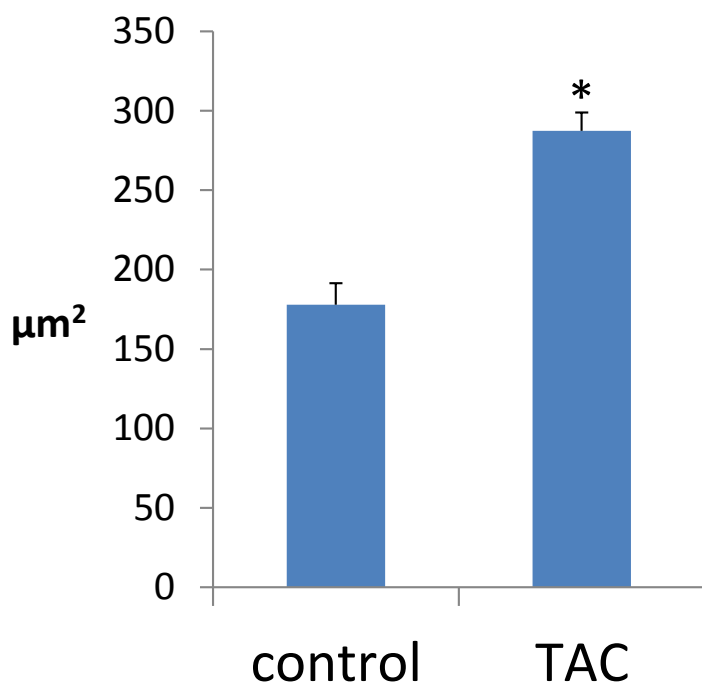


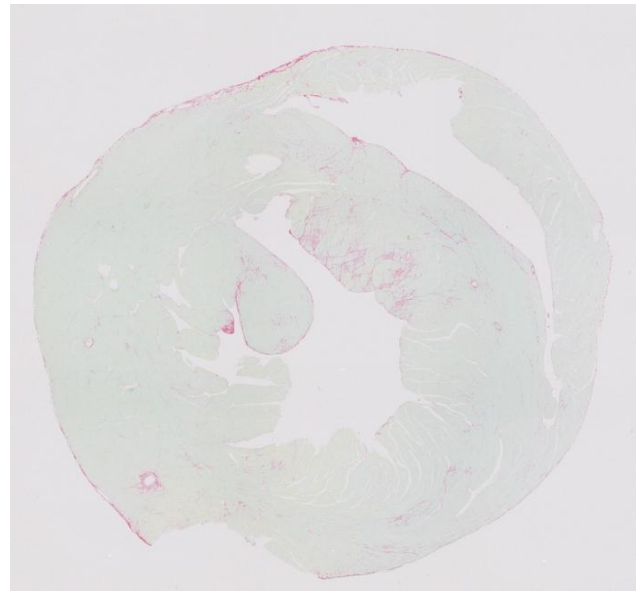
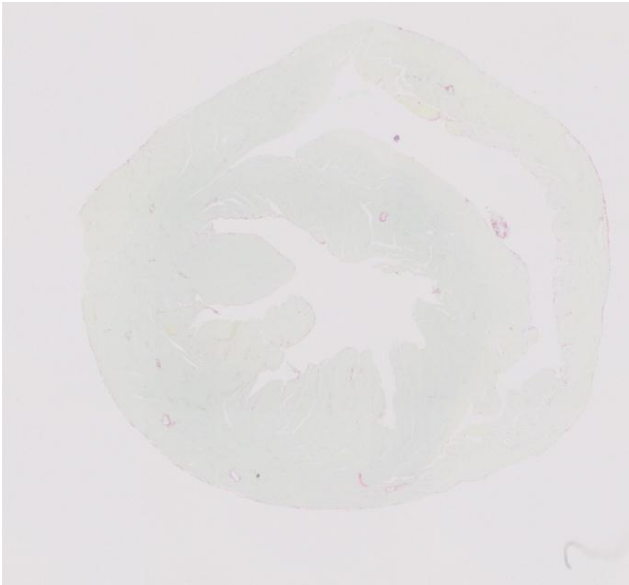
図23: TAC2週間後の心臓の水平横断面へマトキシリン・エオジン (HE)染色では心筋線維の肥大化を認めた TAC施行2週間後のマウス(右)と対照群のマウス(左)のHE染色像(a)。HE染色像の心筋細胞断面(200-300細胞/スライス, 3スライス/群)はTAC施行後のマウスで有意に増大した(b)。(178±14 vs 287±11*, (コントロール(n=3) vs TAC (n=3), *p<0.05),

200-300 cells/slice, 3スライス/群 * p<0.05

図24 TAC2週間後の心臓の水平横断面のシリウスレッド・ファストグリーン染色では線維化が進行する傾向を認めた

a **コントロール**

TAC



b **線維化面積
TAC 2週間後**

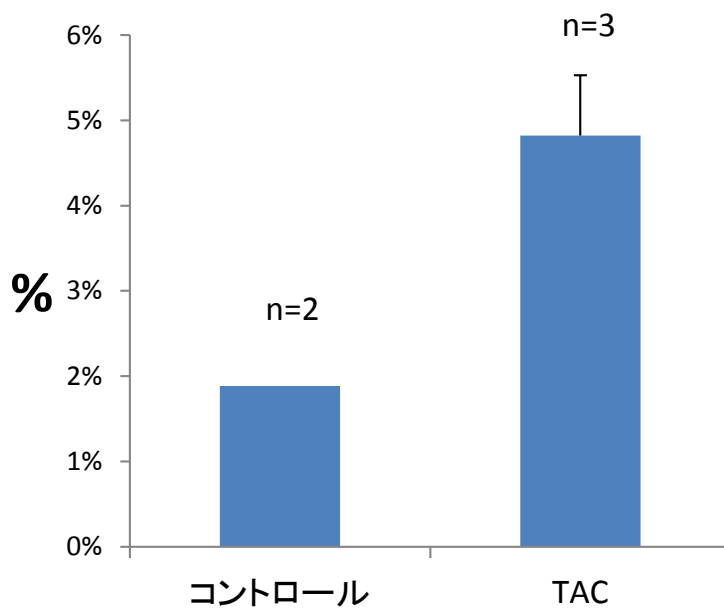


図24: TAC2週間後の心臓の水平横断面のシリウスレッド・ファストグリーン染色では線維化が進行する傾向を認めた TAC施行2週間後のマウス(右)と対照群のマウス(左)のシリウスレッド・ファストグリーン染色像(a)。シリウスレッド・ファストグリーン染色で赤色に染色された領域の断面積に占める割合はTAC施行後のマウスで増大する傾向を認めた(b)。(コントロールn=2, TAC n=3)

ImageJによる赤色染色面積の評価

図25 TAC2週間後の心臓ではBNPと膠原線維遺伝子の発現量の増大を認めた

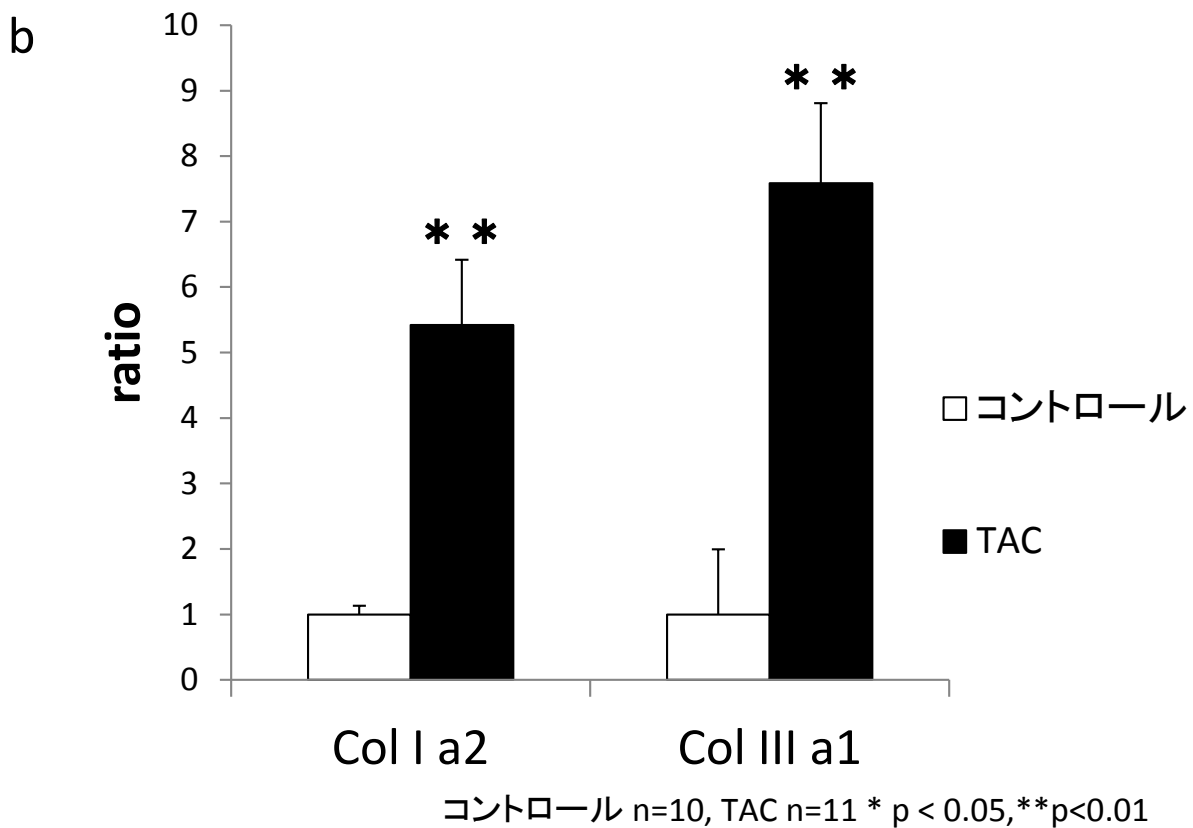
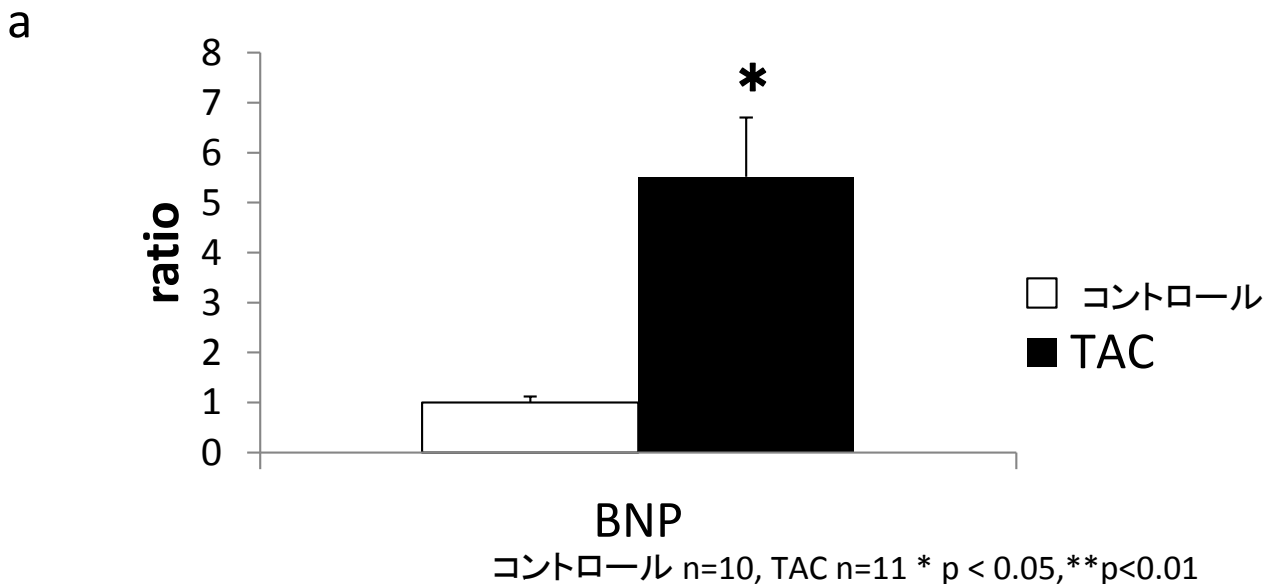


図25: TAC2週間後の心臓ではBNPと膠原線維遺伝子の発現量の増大を認めた TAC2週間後の心臓ではBNP発現量の有意な増大を認めた(a)。TAC2週間後の心臓で膠原線維遺伝子発現の有意な増大を認めた(b)。(BNP; 1 ± 0.12 vs $5.5 \pm 1.18^*$, Col Ia2; 1 ± 0.13 vs $5.4 \pm 0.99^{**}$, Col IIIa1; 1 ± 0.10 vs $7.6 \pm 1.22^{**}$, (ratio, コントロール(n=10) vs TAC (n=11), *p<0.05, **p<0.01))

図26 TAC2週間後の心臓でPPAR α とPGC-1 α 並びに標的遺伝子で脂肪酸燃焼に関わる分子の発現低下を認めた

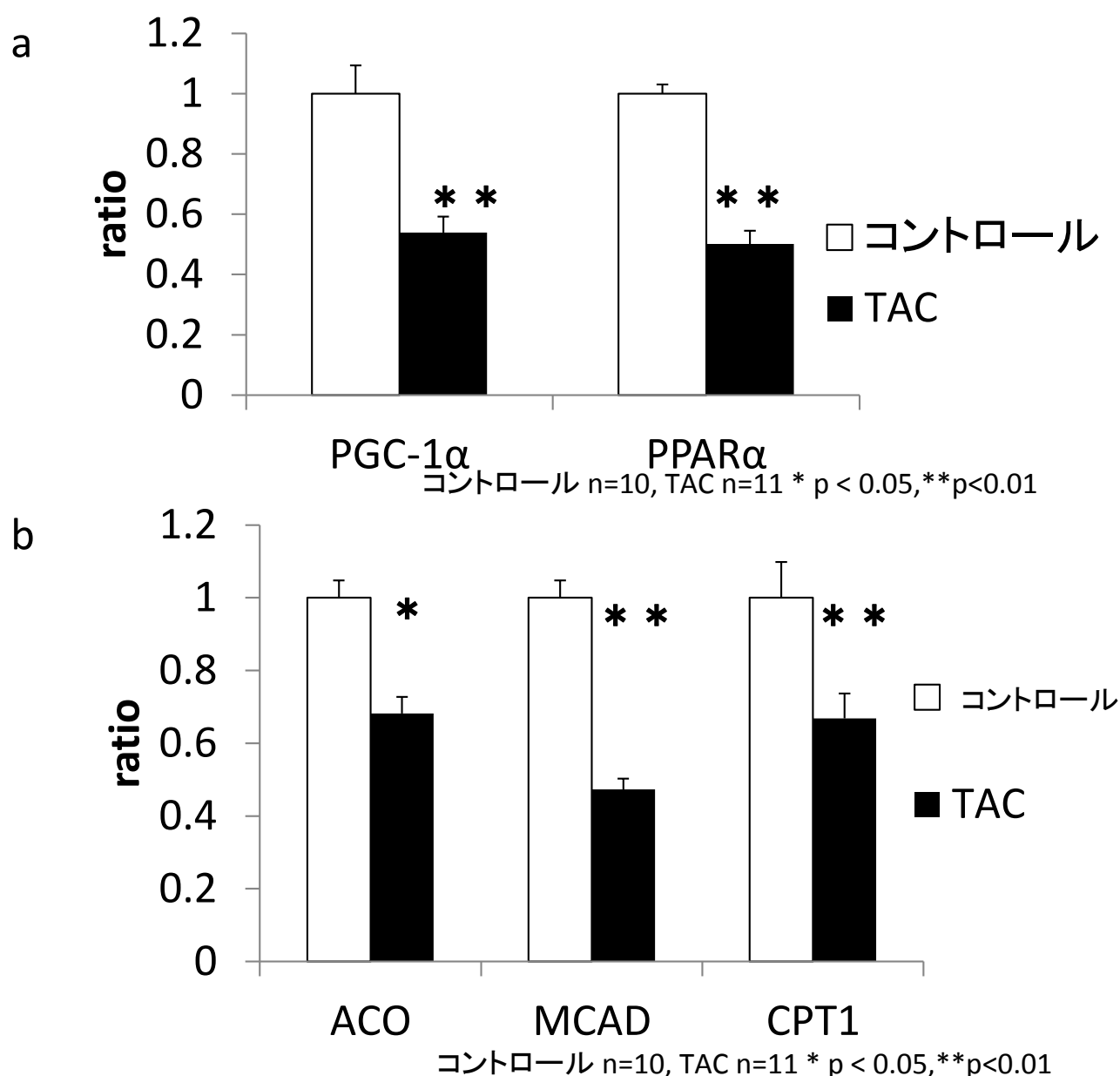
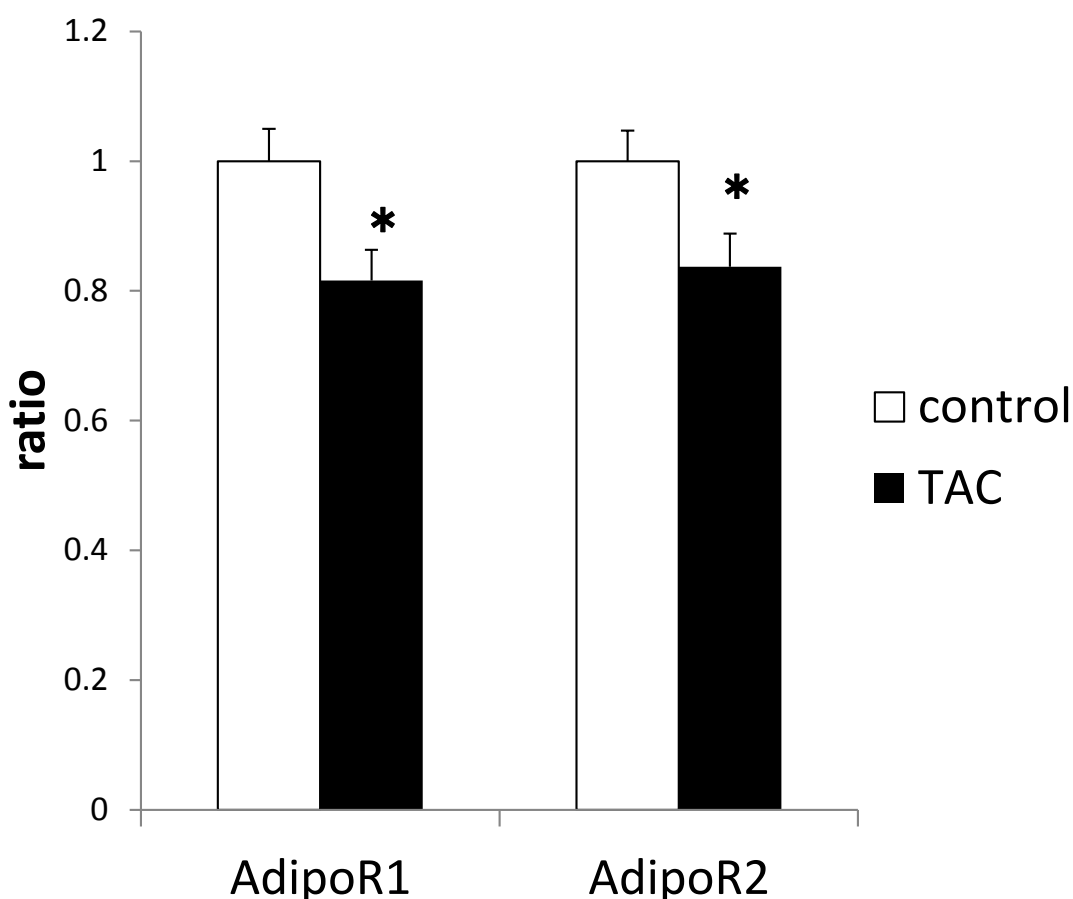


図26: TAC2週間後の心臓でPPAR α とPGC-1 α 並びに標的遺伝子で脂肪酸燃焼に関わる分子の発現低下を認めた RT-PCRにおいて、TAC2週間後の心臓ではPPAR α とPGC-1 α のmRNAの有意な発現低下 (PGC-1 α は46%、PPAR α は50%の低下)を認めた(a)。RT-PCRにおいて、TAC2週間後の心臓ではACO, MCAD, CPT1のmRNAの有意な発現低下 (ACOは32%、MCADは53%、CPT1は33%の低下)を認めた(b)。PGC-1 α ; 1 ± 0.09 vs $0.53 \pm 0.03^{**}$, PPAR α ; 1 ± 0.05 vs $0.50 \pm 0.04^{**}$ (a), ACO; 1 ± 0.05 vs $0.68 \pm 0.05^*$, MCAD; 1 ± 0.05 vs $0.47 \pm 0.03^{**}$, CPT1 β ; 1 ± 0.10 vs $0.67 \pm 0.07^*$ (b) (ratio, コントロール (n=10) vs TAC (n=11), *p<0.05, **p<0.01)

図27 TAC2週間後の心臓ではAdipoR1、AdipoR2の有意な発現低下を認めた



コントロール n=10, TAC n=11 * p < 0.05, **p<0.01

図27 TAC施行2週間後の心臓ではAdipoR1、AdipoR2の発現が低下していた。TAC施行群で非施行群に比較してAdipoR1とAdipoR2の発現が有意に低下していた(図26)。AdipoR1は18%、AdipoR2は16%共に有意に低下を認めた。(AdipoR1; 1 ± 0.05 vs 0.82 ± 0.05 , AdipoR2; 1 ± 0.05 vs 0.84 ± 0.05 (ratio, コントロール vs TAC, コントロール n=10, TAC n=11, ともに $p < 0.05$))

図28 : 慢性圧負荷より心不全をきたす病態においてアディポネクチンおよびAdipoR1、AdipoR2の果たす意義(仮説)

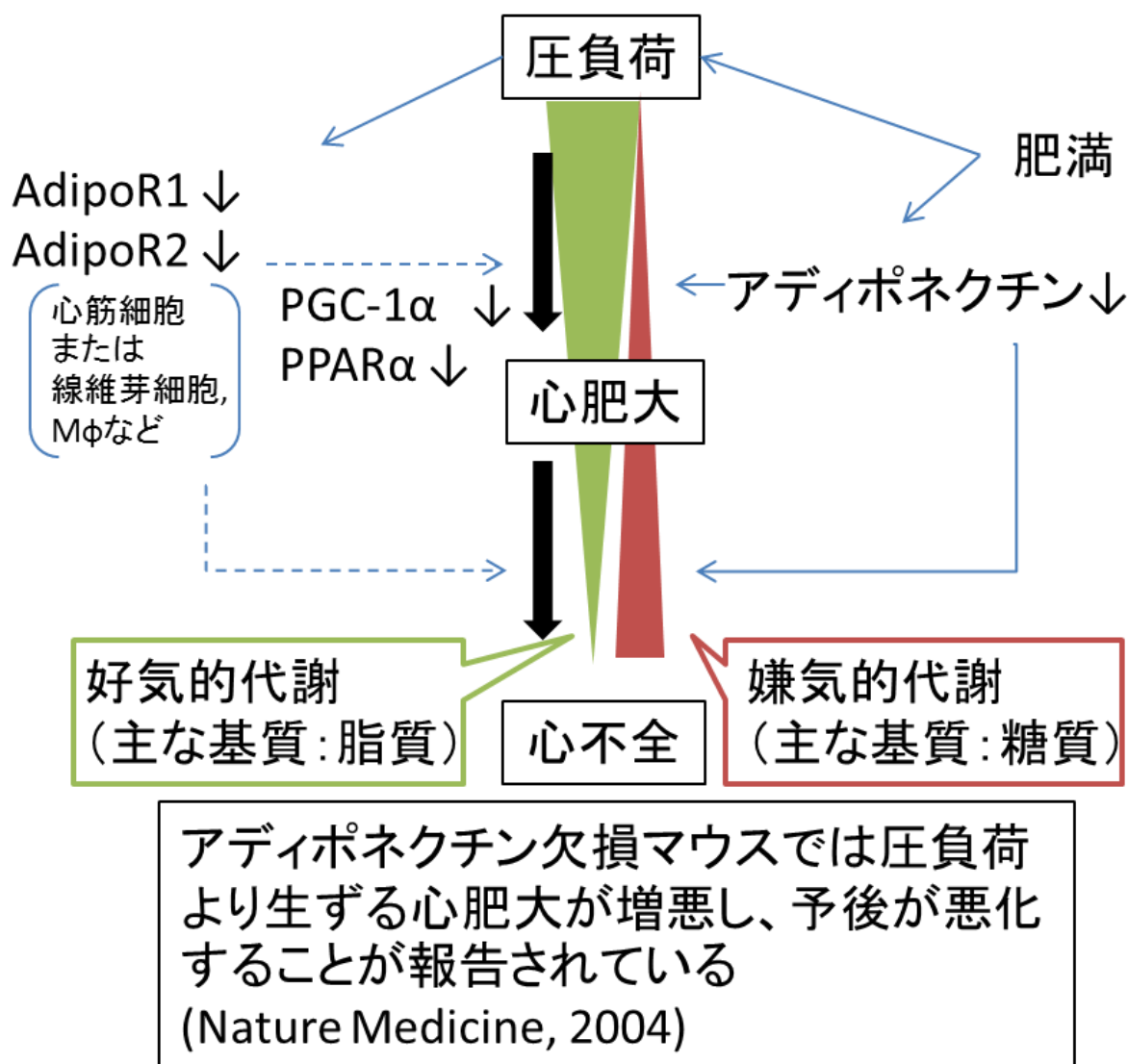


図28: 慢性圧負荷より心不全をきたす病態においてアディポネクチンおよびAdipoR1、AdipoR2の果たす意義(仮説) 本態性高血圧など慢性圧負荷が継続すると心肥大をきたし、やがて心不全に至ると考えられている。アディポネクチン欠損マウスに圧負荷を与えた検討から、肥満などによる血中アディポネクチン量の低下は心肥大を増悪させると考えられていたが、圧負荷から心肥大をきたし、不全心に至る過程でどのようなシグナルを介してアディポネクチン・AdipoRシグナルが病態に関与するかは明らかでなかった。本研究では慢性圧負荷に対する代償期終末においては心臓においてAdipoR1、AdipoR2が有意に低下しており、その下流の脂肪酸酸化関連遺伝子の発現低下を認めた。心肥大から心不全に至る過程では、心筋の利用する基質が脂質から糖質に移行することが知られており、脂肪酸酸化関連遺伝子の低下はこれに関与すると考えられている。心臓におけるAdipoR1、AdipoR2の発現レベルの低下が、慢性圧負荷から心肥大、心不全に至る病態生理的意義を有する可能性が示唆された。