



Endothelial lipase modulates pressure overload-induced heart failure through alternative pathway for fatty acid uptake

中島, 英人

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2013-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲5876

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005876>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

Endothelial lipase modulates pressure overload-induced heart failure through alternative pathway for fatty acid uptake

血管内皮リパーゼは心筋の脂肪酸取込みの副経路として圧負荷心不全の進展に関与する

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
循環器内科学
(指導教員：平田 健一 教授)

中島 英人

要旨

【目的】

心筋は収縮と弛緩を絶えず繰り返しており、そのエネルギー基質の約 70%を脂肪酸に依存している。この心筋のエネルギー基質となる脂肪酸の多くは、血中を循環するトリグリセリドを豊富に含んだリポ蛋白をリポ蛋白リパーゼ(Lipoprotein lipase, LPL)が分解することによって産生され、心筋に供給される。血管内皮リパーゼ(Endothelial lipase, EL)はLPLと同じトリグリセリドリパーゼファミリーに属するが、特にリン脂質に基質特異性が高いホスホリパーゼ A1 分子であり、高比重リポ蛋白(HDL)などに含まれるリン脂質を分解することにより脂肪酸を産生する。心臓においてELの発現が認められることは報告されているものの、その機能については未だ明らかになっていない。そこで我々は、ELがHDLを基質として心筋の脂肪酸取込みの副経路として機能するという仮説を立て、圧負荷心不全の発生におけるELの役割について検討した。

【方法】

1. 野生型マウスの上行大動脈を26G針と共に糸で結紮することによって、大動脈縮窄による圧負荷心不全モデルを作成し、術後1、4、7、28日目の心臓におけるELとLPLのmRNA発現量の時間的変動をReal-time PCR法を用いて評価した。また、Western blotting法を用いてELの蛋白発現量を検討した。
2. 野生型およびEL欠損マウスを用いて圧負荷心不全モデルを作成し、病的負荷のかかった心臓におけるEL欠損の影響を検討した。術後4週間目に心エコーを用いて心機能を評価した後、心不全のマーカー、脂肪酸 β 酸化関連酵素、ATPなどの定量評価をおこなった。
3. 新生仔ラットの心臓から心筋細胞と非心筋細胞を分離し、炎症性刺激によるELの発現制御機構を検討した。また、アデノウイルスベクターを用いて心筋細胞にEL遺伝子を過剰発現させた後、HDLと37℃で24時間インキュベーションし、各心筋細胞におけるCPT-IとMCADのmRNA発現量を比較した。lacZ遺伝子を発現させた心筋細胞を対照として用いた。

【結果】

1. 大動脈縮窄による圧負荷心不全を作製した野生型マウスでは、心臓におけるELのmRNA発現量は圧負荷を加えていない心臓と比べて、術後1日目には13.5倍にまで著明に増加し、その後は徐々に減少した。ELの蛋白発現量も術後急性期に増加していた。対照的に、LPLのmRNA発現量は、術後1日目には約50%減少していた。

2. 野生型および EL 欠損マウスに圧負荷心不全を作成したところ、EL 欠損マウスでは野生型マウスと比較して有意に左室拡張末期径が増加し、駆出率は低下していた。一方、左室壁厚については両群とも同様に増加していた。また、心重量は両群とも同等に増加していたが、肺重量は EL 欠損マウスにおいてのみ有意に増加していた。このことは、圧負荷による心肥大の程度は同等であったものの、EL 欠損マウスではより顕著な肺うっ血をきたしたことを示唆している。心不全マーカーである心房性ナトリウム利尿ペプチド (atrial natriuretic peptide, ANP) や脳性ナトリウム利尿ペプチド (brain natriuretic peptide, BNP) の mRNA 発現量を調べたところ、EL 欠損マウスでは野生型マウスよりも術後に有意に高値を示した。
3. 手術1日目の血漿中および心臓における脂質含有量を評価したところ、野生型マウスでは手術によって各脂質含有量に有意な変化を認めなかったが、EL 欠損マウスでは手術によって血漿中および心臓のトリグリセリド含有量の有意な増加を認めた。また、ミトコンドリアにおける脂肪酸 β 酸化関連酵素であるカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1 (carnitine palmitoyltransferase-1, CPT-1) や中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (medium-chain acyl CoA dehydrogenase, MCAD) の mRNA 発現量、さらに β -ヒドロキシアシル CoA デヒドロゲナーゼ (β -hydroxyacyl CoA dehydrogenase, β -HAD) の蛋白発現量は、術後 EL 欠損マウスでは術後野生型マウスに比べて有意に低値であり、心筋内 ATP 含有量は術後 EL 欠損マウスで有意に低値を示した。
4. 培養心筋細胞と非心筋細胞において、リポポリサッカライド (lipopolysaccharide, LPS) や腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α などの炎症性刺激は EL の発現を誘導する一方で、LPL の発現は逆に有意に抑制した。また、EL 遺伝子を過剰発現させた心筋細胞では、対照の心筋細胞と比較して、CPT-1 と MCAD の mRNA 発現量が有意に増加し、さらに心筋細胞内 ATP 含有量も高値を示した。

【考察】

圧負荷心不全モデルの急性期では炎症反応が惹起されたことにより、EL の発現が亢進し LPL の発現が逆に抑制された。この現象は、LPL 作用の減弱によるエネルギー基質の取込みを補うものであると考えられた。したがって、圧負荷による不全心筋において EL が欠損すると、脂肪酸由来のエネルギー産生に障害をきたし、重篤な心不全に陥ることが示された。

【結論】

EL は心臓に脂肪酸を供給するための副経路として働いており、圧負荷心不全の病態で心機能を制御している可能性がある。このような効果は、特に LPL の作用が抑制された病的な心臓において顕著であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2325号	氏 名	中島 英人
論文題目 Title of Dissertation	Endothelial lipase modulates pressure overload-induced heart failure through alternative pathway for fatty acid uptake 血管内皮リパーゼは心筋の脂肪酸取込みの副経路として圧負荷心不全の進展に関与する		
審査委員 Examiner	主 査 中村 俊一 Chief Examiner 副 査 西 慎一 Vice-examiner 副 査 久野 高義 Vice-examiner		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

【目的】

心筋は収縮と弛緩を絶えず繰り返しており、そのエネルギー基質の約70%を脂肪酸に依存している。この心筋のエネルギー基質となる脂肪酸の多くは、血中を循環するトリグリセリドを豊富に含んだリポ蛋白をリポ蛋白リパーゼ(Lipoproteinlipase, LPL)が分解することによって産生され、心筋に供給される。血管内皮リパーゼ(Endotheliallipase, EL)はLPLと同じトリグリセリドリパーゼファミリーに属するが、特にリン脂質に基質特異性が高いホスホリパーゼA1分子であり、高比重リポ蛋白(HDL)などに含まれるリン脂質を分解することにより脂肪酸を産生する。心臓においてELの発現が認められることは報告されているものの、その機能については未だ明らかになっていない。そこで我々は、ELがHDLを基質として心筋の脂肪酸取込みの副経路として機能するという仮説を立て、圧負荷心不全の発生におけるELの役割について検討した。

【結果】

1. 太動脈縮窄による圧負荷心不全を作製した野生型マウスでは、心臓におけるELのmRNA発現量は圧負荷を加えていない心臓と比べて、術後1日目には13.5倍にまで著明に増加し、その後は徐々に減少した。ELの蛋白発現量も術後急性期に増加していた。対照的に、LPLのmRNA発現量は、術後1日目には約50%減少していた。
2. 野生型およびEL欠損マウスに圧負荷心不全を作成したところ、EL欠損マウスでは野生型マウスと比較して有意に左室拡張末期径が増加し、駆出率は低下していた。一方、左室壁厚については両群とも同様に増加していた。また、心重量は両群とも同等に増加していたが、肺重量はEL欠損マウスにおいてのみ有意に増加していた。このことは、圧負荷による心肥大の程度は同等であったものの、EL欠損マウスではより顕著な肺うつ血をきたしたことを示唆している。心不全マーカーである心房性ナトリウム利尿ペプチド(atrialnatriureticpeptide, ANP)や脳性ナトリウム利尿ペプチド(brainnatriureticpeptide, BNP)のmRNA発現量を調べたところ、EL欠損マウスでは野生型マウスよりも術後に有意に高値を示した。
3. 手術1日目の血漿中および心臓における脂質含有量を評価したところ、野生型マウスでは手術によつ

て各脂質含有量に有意な変化を認めなかったが、EL欠損マウスでは手術によって血漿中および心臓のトリグリセリド含有量の有意な増加を認めた。また、ミトコンドリアにおける脂肪酸 β 酸化関連酵素であるカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1 (carnitine palmitoyltransferase-1, CPT-1) や中鎖アシルCoA脱水素酵素 (medium-chain acylCoA dehydrogenase, MCAD) のmRNA発現量、さらに β -ヒドロキシアシルCoAデヒドロゲナーゼ (β -hydroxyacylCoA dehydrogenase, β -HAD) の蛋白発現量は、術後EL欠損マウスでは術後野生型マウスに比べて有意に低値であり、心筋内ATP含有量は術後EL欠損マウスで有意に低値を示した。

4. 培養心筋細胞と非心筋細胞において、リポポリサッカライド (lipopolysaccharide, LPS) や腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α などの炎症性刺激はELの発現を誘導する一方で、LPLの発現は逆に有意に抑制した。また、EL遺伝子を過剰発現させた心筋細胞では、対照の心筋細胞と比較して、CPT-1とMCADのmRNA発現量が有意に増加し、さらに心筋細胞内ATP含有量も高値を示した。

【考察】

圧負荷心不全モデルの急性期では炎症反応が惹起されたことにより、ELの発現が亢進しLPLの発現が逆に抑制された。この現象は、LPL作用の減弱によるエネルギー基質の取込みを捕うものであると考えられた。したがって、圧負荷による不全心筋においてELが欠損すると、脂肪酸由来のエネルギー産生に障害をきたし、重篤な心不全に陥ることが示された。

【結論】

ELは心臓に脂肪酸を供給するための副経路として働いており、圧負荷心不全の病態で心機能を制御している可能性がある。このような効果は、特にLPLの作用が抑制された病的な心臓において顕著であることが示唆された。

本研究は、圧負荷心不全モデルの急性期でELの発現が亢進することを見出し、エネルギー代謝の観点からELの重要性を論じたものであり、心不全の病態を理解する上で価値のある業績であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。