

主論文の要旨

Adiponectin Ameliorates Endotoxin-Induced Acute Cardiac Injury

〔 アディポネクチンはエンドトキシンによって誘発された
急性心障害を改善する 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻
病態外科学講座 血管外科学分野

(指導：古森 公浩 教授)

渡辺 芳雄

【背景と目的】

敗血症は重大な合併症であり、今も先進国における主な死亡原因の1つとなっている。心収縮不全はエンドトキシン血症患者で発生する徴候の一つであり、TNF α およびIL-6のような様々な炎症性サイトカインが敗血症中の心機能障害の発生に寄与している。

一方、肥満は、敗血症の進行および結果に影響している。病的肥満患者では敗血症を含むICU合併症が生じやすく、痩せ型の患者に比べてより集中治療室(ICU)死亡率が高いことが示されている。更に、緊急手術を行った高度肥満の患者では、標準体重患者より敗血症になることが多く、また、敗血症によって引き起こされる炎症状態は体脂肪量と相関することが示されている。

アディポネクチンは、2型糖尿病、高血圧症、脂質異常症のような心血管系リスクファクターに関連してその濃度が減少するアディポサイトカインである。臨床所見同様、研究でもアディポネクチン欠乏が、TNF α レベルの増加や高血圧症、血管機能障害に関連した食事によって誘発されるインスリン抵抗性に寄与することが示されている。反対に、アディポネクチンはインスリン感受性を増強し、血管内皮細胞における炎症反応を減少させる。したがって、アディポネクチンは肥満により誘発される代謝性疾患や血管合併症に対して保護役割を果たす。しかしながら、敗血症による心機能障害に対するアディポネクチンの役割についてはほとんど知られていない。この研究では、野生型マウス(WT)とアディポネクチンノックアウトマウス(APN-KO)を用いてLPSによって引き起こされた心臓の炎症や左室(LV)機能障害に対するアディポネクチンの影響について調べた。

【方法】

C57/BL6J野生型マウス(WTマウス)およびアディポネクチン欠損マウス(APN-KOマウス)に、LPS(10mg/kg)を単回腹腔内注射し心機能低下モデルを作成した。心機能は、心エコーにて評価した。LPS投与6時間後に心筋組織を摘出し、炎症性サイトカイン(TNF- α 、IL-6)の発現をreal-time PCR法を用いて定量評価した。

次に、LPS投与5日前のAPN-KOマウスとWTマウスに、アディポネクチン(Ad-APN)または β gal(Ad-gal)の発現したアデノウイルス・ベクターを尾静脈より全身投与し、アディポネクチンがLPSによる左室収縮機能障害を改善するかどうかを心エコーを用いて評価した。

さらに、アディポネクチンの心保護作用におけるTNF α との関係を調べるために、LPS投与後のAPN-KOマウスに対して、エタネルセプトを腹腔内投与し、心エコーを用いて評価した。

【結果】

図1Aは、LPS投与6時間後のAPN-KOとWTマウスの代表的なMモード心エコー所見を表している。心エコーでは、LPS投与はLVdには影響を及ぼさず、APN-KOとWT

マウスの両方で LVDs の増加と %FS の減少が認められた。APN-KO マウスでは WT マウスに比べ、LPS 投与後に LVDs がより増加し、%FS は有意に減少した (図 1B-D)。LPS 投与後の LVDd は、APN-KO と WT マウスとの間で差は認められなかった。そして対照群 (図 1B-D) では、LVDd、LVDs、あるいは %FS において APN-KO と WT マウスの間で有意差はなかった。

LPS は WT マウスの心筋 TNF α と IL-6 の mRNA 濃度を増加させた (図 2A-B)。TNF α と IL-6 の mRNA 濃度増加は APN-KO マウスでも観察された、そして、その増加の程度は WT マウスと比較して、より大きいものであった (図 2A-B)。対照群では、APN-KO マウスと WT マウスの間で心臓の TNF α と IL-6 の濃度に有意差はなかった (図 2A-B)。アデノウイルス・ベクターによりアディポネクチンを補充したマウスでは、Ad-gal を補充したコントロール群のマウスに比べ、WT マウスと APN-KO マウスの両方で LPS 投与後の %FS が有意に増加した (図 3)。

APN-KO マウスに対してエタネルセプトを腹腔内投与すると、対照群に比べ LPS によって誘発される %FS の減少が有意に抑制された (図 4)。

【考察】

この研究結果からは、アディポネクチンが心臓での炎症を抑制することによって、LPS によって誘発される敗血症動物モデルでの心筋損害に抵抗をもたらすことが示唆される。APN-KO マウスでは、WT マウスと比較して LPS 投与後、より重度の左室収縮機能障害を示し、そしてアデノウイルスを用いてアディポネクチンを投与することにより、APN-KO マウスと WT マウスの両方で LPS によって誘発される左室機能不全が改善した。

グラム陰性菌の主要な外膜構成要素である LPS が放出されると、TNF α や IL-6 の生産過剰のような免疫反応の調節不全が誘発される。研究では、TNF α 欠損マウスでは、LPS 投与などによる心臓障害はより少なくなり、そして、可溶性 TNF 受容体または抗 TNF α 抗体による処置を行うと、急性心筋障害でおこるダメージが制限される、ということが示されている。我々のグループは以前、アディポネクチンが心筋細胞や線維芽細胞において LPS によって誘発された TNF α 産生を抑制する、と報告した。また、APN-KO マウスにおける虚血-再還流は、さらなる心筋 TNF α 発現を増加させる。アディポネクチンを補充すると、APN-KO マウスや WT マウスにおける心筋 TNF α 産生が減少し、梗塞領域は減少する。アディポネクチンはまた、LPS 刺激による TNF α 産生を減少させ、ヒトマクロファージにおいて抗炎症性サイトカインである IL-10 の濃度を上昇させることが示されている。このように、アディポネクチンは様々な種類の細胞において抗炎症反応を起こし、炎症性疾患の進行に対して保護的に作用している。

この研究において、APN-KO マウスでは、WT マウスと比較して LPS 投与後の心組織で著明に高い TNF α 濃度を示した。

さらに、可溶性 TNF 受容体であるエタネルセプトを投与すると、APN-KO マウスにおいて LPS によって誘発される心障害が減弱した。これらのデータは、LPS によって誘

発された心筋障害に対するアディポネクチンの保護作用の少なくとも一部は、心臓における TNF α の増幅を抑える能力によるものであることを示している。

多数の臨床研究において、medical ICU での死亡率と肥満は正相関の関係にあることが報告されている。そして肥満関連障害はアディポネクチン濃度の低下と関連していることがよく知られている。ここで提示したデータは、アディポネクチンが心臓での炎症を抑制することによって、LPS によって誘発された急性心障害から保護することを示している。また我々の実験結果は、アディポネクチンが心機能に影響を及ぼし、そして敗血症患者の予後にも関係しうる、極めて重要なアディポサイトカインとして機能していることを示唆している。このアディポネクチンの抗炎症作用という特性は、アディポネクチンの補充が炎症性疾患の治療や予防のために有益だということを示している。

【結論】

これらの結果は、アディポネクチンが心臓の炎症反応を抑制することで LPS によって引き起こされた急性心障害に対して保護作用を示し、アディポネクチンが敗血症に関連する心筋機能障害において潜在的な治療ターゲットとしての意義があることを示唆している。