

主論文の要約

**C1q/TNF-related protein-1 functions to protect
against acute ischemic injury in the heart**

〔 C1q/TNF-related protein-1 の虚血心筋保護効果についての検討 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻
病態内科学講座 循環器内科学分野

(指導：室原 豊明 教授)

湯浅 大祐

【背景】

虚血性心疾患は主たる死亡原因であり、その病態機序の解明や治療法の開発は急務である。肥満が心血管病の主要な危険因子であることは周知の事実であるが、肥満と心血管病発症の分子レベルでの関連については不明な部分も多い。

脂肪組織はアディポカインと総称される様々な生理活性物質を分泌している。アディポカインの多くは、肥満関連疾患に対して促進的に作用するが、アディポネクチンの様に防衛的に作用するアディポカインも報告されている。C1q/TNF-related protein(CTRP)-1 はアディポネクチンパラログの一つであり、糖尿病ラットにおいてその血中濃度が上昇することや、炎症性サイトカインの刺激によりその発現が増加することが知られている。臨床的にはメタボリックシンドロームや2型糖尿病、冠動脈疾患において、その血中濃度が上昇することが分かっている。さらに CTRP1 が肥満マウスのインスリン感受性や糖代謝を改善するとの報告もなされているが、心血管病における CTRP1 の役割については全く分かっていない。

【結果】

CTRP1 欠損により心筋虚血再灌流障害は増悪する (Fig 1.)

虚血性心疾患における CTRP1 の機能を検討するために、CTRP1 欠損マウスを作製した。CTRP1 欠損マウス(CTRP1-KO)と野生型マウス(WT)は、basal phenotype に差は認めなかった。CTRP1-KO および WT に心筋虚血再灌流 (I/R) モデルを作製したところ、心筋梗塞範囲は CTRP1-KO において増加していた。CTRP1-KO と WT の I/R 後の心筋アポトーシスについて TUNEL 染色を用いて検討したところ、CTRP1-KO では WT より多くの TUNEL 陽性のアポトーシス心筋細胞を認めた。また心筋の虚血障害への炎症反応の関与をリアルタイム PCR 法により評価した。I/R 後の心筋組織において CTRP1-KO では TNF、IL-6、IL-18 の mRNA 発現増加を認めた。

CTRP1 全身投与による心筋虚血再灌流障害改善効果 (Fig 2.)

WT マウスに、アデノウイルスの系により CTRP1 の全身での血中濃度を上昇させ、3 日後に I/R モデルを作製した。CTRP1 の血中濃度は 5 倍に増加し、I/R 後の心筋梗塞範囲は著明に縮小した。この時、虚血心筋組織における心筋細胞アポトーシスの減少と炎症性サイトカイン発現低下も認めた。

S1P シグナルを介した CTRP1 によるアポトーシス抑制効果 (Fig 3.)

ラット新生仔心筋細胞において低酸素・再酸素化刺激 (H/R) によりアポトーシスを誘導したところ、CTRP1 蛋白の前投与は濃度依存的に H/R による心筋アポトーシスを抑制した。S1P は主にスフィンゴシンがスフィンゴシンキナーゼ 1 (SK1) によりリン酸化されることで産生され、アポトーシスの制御を含めた様々な生理活性を發揮する。心筋細胞に SK1 の siRNA を用いて SK1 をノックダウンすることで CTRP1 の H/R 後の抗アポトーシス効果はキャンセルされた。また、S1P 受容体のアンタゴニストである VPC23019 の前処置によっても、CTRP1 による抗アポトーシス効果は抑制されたことから、CTRP1 の抗アポトーシス作用は S1P シグナルを介していると考

えられた。

S1P シグナルを介した CTRP1 の抗炎症作用 (Fig 4.)

CTRP1 蛋白前投与は、LPS 誘導性の TNF、IL-6、IL-18 の発現上昇を抑制し、LPS 誘導性の NF- κ B リン酸化促進も抑制していた。これらの結果より、CTRP1 は NF- κ B 活性化抑制を介して抗炎症作用を発揮することが示唆された。S1P は炎症反応の制御にも関わることが知られており、SK1 ノックダウンおよび VPC23019 存在下で、CTRP1 の抗炎症作用、NF- κ B リン酸化抑制作用もキャンセルされた。このことより CTRP1 の抗炎症作用に関しても S1P シグナルを介していることが示唆された。

S1P/cAMP 経路を介した CTRP1 の抗アポトーシス及び抗炎症作用 (Fig 5.)

心筋細胞において CTRP1 投与により細胞内 cAMP 濃度は上昇し、VPC23019 により抑制された。また、アデノウイルスを用いた CTRP1 の全身投与によって、虚血心筋での cAMP の下流の CREB のリン酸化は促進していた。アデニル酸シクラーゼの阻害剤である SQ22536 を用いて cAMP 産生を抑制すると、CTRP1 の心筋細胞における抗アポトーシス効果と抗炎症効果は抑制された。これらのことから、心筋細胞において CTRP1 は S1P/cAMP 依存性にアポトーシスや炎症反応を抑制すると考えられた。

In vivo における CTRP1 の S1P 依存性心保護効果 (Fig 6.)

WT マウスに VPC23019 を腹腔内投与後、CTRP1 を全身投与したところ、CTRP1 による心筋梗塞範囲の縮小効果と虚血心筋における CREB リン酸化促進が抑制された。また VPC23019 投与により、虚血心筋における CTRP1 の抗アポトーシス作用と抗炎症作用は抑制された。以上より CTRP1 は I/R による心筋障害を S1P 依存性に抑制していると考えられた。

【考察】

今回の検討において CTRP1 に虚血心筋保護効果があることが新たに示された。CTRP1 欠損マウスの I/R 後の虚血心筋において、アポトーシス、炎症反応の増大とそれに伴う心筋梗塞サイズの拡大が認められた。一方、CTRP1 の全身投与により I/R 後のアポトーシス、炎症反応は抑制され心筋梗塞サイズも縮小していた。さらに、*in vitro* においても CTRP1 がアポトーシスや炎症反応を抑制することが示された。これらのことから CTRP1 は抗アポトーシスや抗炎症作用を介して心筋保護効果を発揮することが示唆された。CTRP1 はメタボリックシンドロームや冠動脈疾患を有する患者でその発現は増加しており、代償性にその産生が増加している可能性がある。

S1P は I/R による心筋障害やアポトーシスに対して防御的に作用することが報告されている。今回の我々の検討においては、CTRP1 による心筋梗塞サイズ縮小効果やアポトーシス抑制効果は S1P 受容体拮抗薬投与により消失していた。また、S1P 経路の阻害により、心筋細胞や虚血心筋における CTRP1 依存性の cAMP 経路の活性化が抑制された。心筋細胞において cAMP 経路を遮断することで CTRP1 の抗アポトーシス効果は抑制された。これらのことから、CTRP1 の心筋細胞保護効果は S1P/cAMP シグナルを介することが示唆された。

S1P シグナルの阻害によって CTRP1 による心筋細胞での抗炎症作用および NF- κ B 活性化の抑制作用が消失し、さらに CTRP1 の抗炎症作用は cAMP の活性化を阻害することでも抑えられたことから、心筋における CTRP1 の抗炎症作用に関しても、S1P/cAMP シグナルを介していると考えられた。

【結語】

CTRP1 は心筋細胞において S1P/cAMP 依存性にアポトーシスや炎症反応を抑制することで、心筋虚血再灌流障害に対して防御的に作用することが明らかとなった。CTRP1-S1P 制御機構は脂肪組織と心臓とをつなぐ新たな治療標的になりうると考えられた。