

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））  
分担研究報告書

2 型糖尿病モデル *db/db* マウスでみられる adipose triglyceride lipase の活性低下は  
糖尿病心筋症を増悪させている

研究分担者 小林邦久 福岡大学筑紫病院 内分泌・糖尿病内科 教授  
（共同研究者 井上智彰 九州大学大学院医学研究院 病態制御内科学 大学院生）

研究要旨

糖尿病状態における adipose triglyceride lipase (ATGL) の発現および活性の低下が糖尿病心筋症の発症・進展に影響をおよぼしている可能性について検討した。*db/db* マウスの心筋においてトリグリセリド (TG)・ジグリセリド (DAG) の含量は増加していた。心筋における ATGL の mRNA および蛋白発現は *db/db* マウスで有意に低下していた。補助因子 CGI-58 の mRNA 発現は対照と変化は認めなかったが、蛋白量は有意な低下を認めた。ホルモン感受性リパーゼの発現は変化を認めなかった。トリグリセリド合成に関与する酵素の発現は亢進していた。*db/db* マウス心筋における蛋白キナーゼ C (PKC) のリン酸化は増加しており、酸化ストレスマーカー 8-OHdG は増加、抗アポトーシス因子 Bcl-2 は低下していた。糖尿病状態における ATGL 活性低下は DAG-PKC 経路の活性化を介して酸化ストレス亢進・アポトーシスを惹起し糖尿病心筋症の 1 因となっている可能性が考えられた。

A. 研究目的

糖尿病患者における心筋症は中性脂肪蓄積心筋血管症の心病変と類似している。われわれは、糖尿病状態における adipose triglyceride lipase (ATGL) の活性低下が糖尿病心筋症の発症・進展に影響をおよぼしている可能性について検討した。

なった。Folch 法を用いて脂質を抽出し、中性脂肪 (TG)・ジグリセリド (DAG) 含量を測定した。心筋から抽出した mRNA・蛋白を quantitative RT-PCR 法・ウエスタンブロット解析をもちいて、ATGL とその補助因子である CGI-58、ホルモン感受性リパーゼや TG 合成・酸化ストレスに関わる因子の発現を評価した。

B. 研究方法

2 型等尿病モデル C57BL/KsJ *db/db* マウス (雄性) と対照として C57BL/KsJ *db/+* を通常食にて 10 週齢あるいは 20 週齢まで飼育し、絶食採血の後に心筋を採取した。心筋切片は oil red O 染色をおこ

(倫理面の配慮)

本研究は、九州大学動物実験委員会の認可をうけて行なった。

## C. 研究結果

10 週齢の *db/db* マウスの心筋においては対照と比較して oil red O 陽性の脂質沈着を強く認めた。TG・DAG の含量は有意に増加していた。*db/db* マウス心筋における ATGL の mRNA・蛋白の発現は有意に低下していた。ATGL の補助因子である CGI-58 の mRNA は変化を認めなかったが、蛋白発現は有意に低下していた。ホルモン感受性リパーゼの発現には変化を認めなかった。トリグリセリド合成酵素である MGAT1・DGAT1 の発現は亢進しており、脂質合成転写因子の SREBP-1c の発現も有意に亢進していた。*db/db* マウス心筋における蛋白キナーゼ C (PKC) のリン酸化は増加しており、酸化ストレスマーカー 8-OHdG は増加を認めた。アポトーシス誘導因子である BAX に変化を認めなかったが、抗アポトーシス因子 Bcl-2 は有意に低下していた。

## D. 考察

長い罹患歴をもつ糖尿病患者においては糖尿病心筋症とよばれる中性脂肪蓄積をともなう心筋運動障害を認め、生命予後不良に関与していると考えられている。今回のわれわれの検討で糖尿病状態における心筋が中性脂肪蓄積心筋血管症と類似した遺伝子・蛋白発現パターンを示していることが示された。TG 合成系の酵素の発現は上昇している一方で分解系の酵素の発現に変化がなかったことが、TG・DAG の蓄積に関与していると考えられる。また DAG 増加による PKC 活性化が NAD(P)H オキシダーゼ活性化をもたらし、酸化ストレスの亢進による心筋のア

ポトーシスを惹起している機序が考えられた。以上のことは糖尿病心筋症が「二次性」中性脂肪蓄積心筋血管症である可能性を支持する結果と考えられた。

## E. 結論

糖尿病状態における心筋障害（糖尿病心筋症）の発症・進展に ATGL の発現低下が関与している可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

該当せず

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Downregulation of adipose triglyceride lipase in the heart aggravates diabetic cardiomyopathy in *db/db* mice.

Inoue T, Kobayashi K, Inoguchi T, Sonoda N, Maeda Y, Hirata E, Fujimura Y, Miura D, Hirano K, Takayanagi R.

Biochem Biophys Res Commun. 438(1): 224-229, 2013

### 2. 学会発表

Adipose triglyceride lipase is downregulated in *db/db* mouse heart - an aggravating mechanism of diabetic cardiomyopathy

Inoue T, Kobayashi K, Inoguchi T, Takayanagi R

The Second International Symposium on Neutral Lipid Storage Disease (Osaka: 2013.4.19-20)

H. 知的財産権の出願・登録状況

( 予定を含む )

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし