



2015年9月9日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部  
科学技術振興機構 (JST)

## 血中乳酸値の制御メカニズムを解明

### - 敗血症などの重篤な病態に対する新しい治療法の開発へ -

心不全、敗血症などの重篤なショック状態により血中乳酸値が上昇することで引き起こされる乳酸アシドーシス（注1）は、致死率が約50%と高く、早急な対応が求められる病態です。

この度、慶應義塾大学医学部の南嶋洋司特任講師、壽原（すはら）朋宏医師（大学院医学研究科博士課程）、菱木貴子専任講師、笠原正貴東京歯科大学教授らのグループは、乳酸アシドーシスにつながる血中乳酸値の上昇に対して、酸素濃度センサー分子であるプロリン水酸化酵素 PHD2（注2）を不活性化させることによって、肝細胞がより多くの乳酸を血中から取り込むことで血中乳酸値を低下させるメカニズムを解明しました。

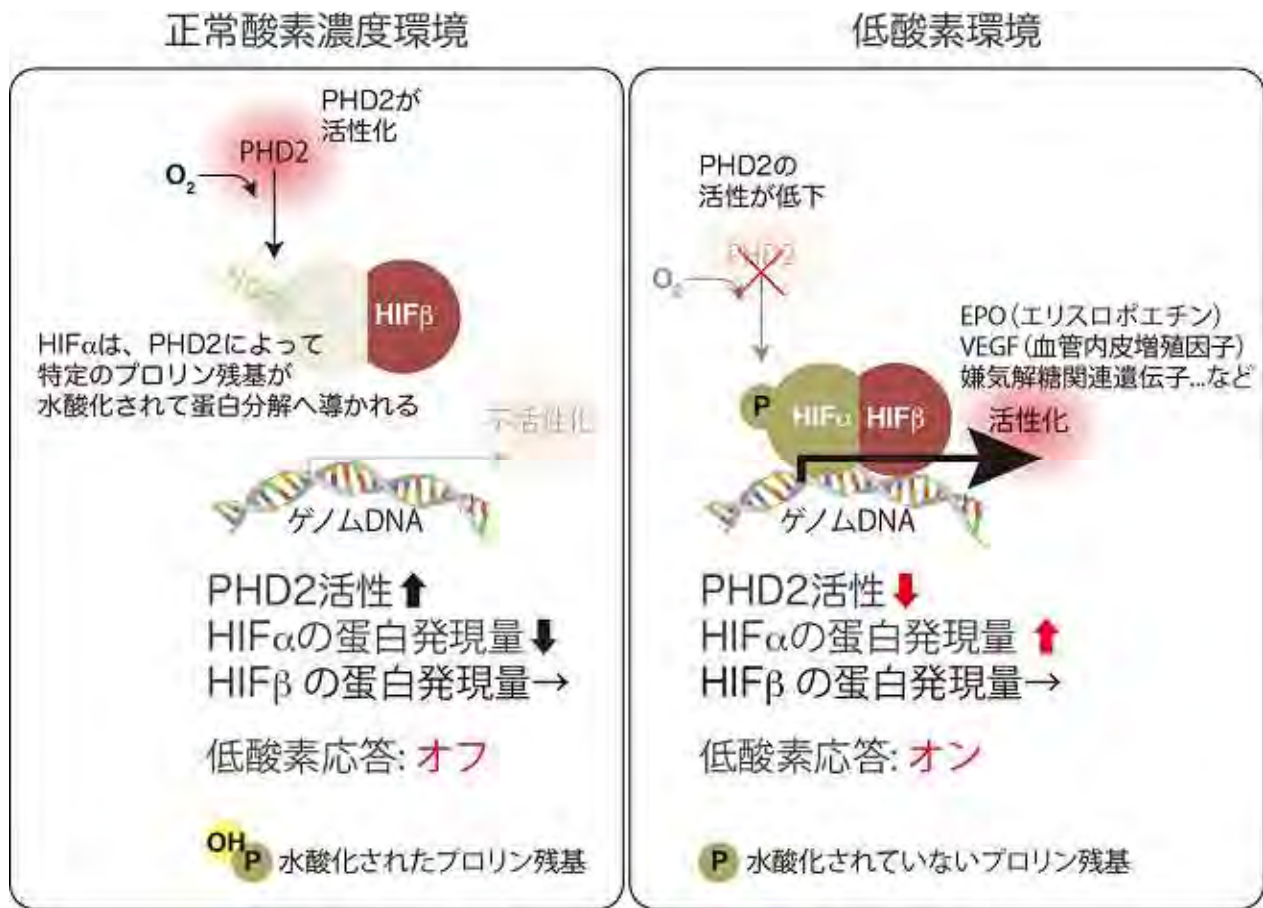
従来、細胞の酸素濃度センサーである PHD2 が不活性化すると、低酸素応答（利用できる酸素が少なくなった時に細胞が見せる応答反応）が活性化して、大量の乳酸が細胞から血中に放出されるとされていました。しかし、今回の研究によって、「肝細胞における低酸素応答は、乳酸の放出を亢進させるのではなく逆に乳酸の取り込みを活性化させる」という、従来の認識を覆す新たな事実を証明しました。

本研究は、JST 戦略的創造研究推進事業の一環として、慶應義塾大学医学部と米国のハワード・ヒューズ医学研究所およびハーバード大学医学部ダナ・ファーバー癌研究所との共同研究で行われました。

本研究成果は、2015年8月31日（米国東部時間）に米国科学雑誌「米国科学アカデミー紀要 (PNAS)」オンライン速報版で公開されました。

#### 1. 研究の背景

我々の身体には、利用できる酸素が限られた低酸素環境においても生き延びることができるように低酸素応答と呼ばれる低酸素に対する防御システムが備わっています。通常、低酸素応答は、HIF（注3）と呼ばれる低酸素応答を制御する主要な転写因子（遺伝子の発現を制御する蛋白質）によって制御されています。この HIF は PHD2 によって機能が抑制されているため、PHD2 の機能を抑えることで、酸素の有無に関係なく HIF が活性化して低酸素応答を引き起こすことが可能となります（図1）。



(図1) PHD2 と HIF による低酸素応答の制御メカニズム

正常酸素濃度環境では、活性化した PHD2 によって特定のプロリン残基が水酸化された HIFαは蛋白分解へと導かれるため、低酸素応答はオフとなる(左)。

一方で低酸素環境においては、酵素反応に酸素 ( $O_2$ )を必要とする PHD2 の酵素活性は低下し、プロリン水酸化による蛋白分解を免れた HIFαは蛋白発現量が上昇して HIFβと二量体を形成し、様々な低酸素関連遺伝子の転写を活性化する(右)。

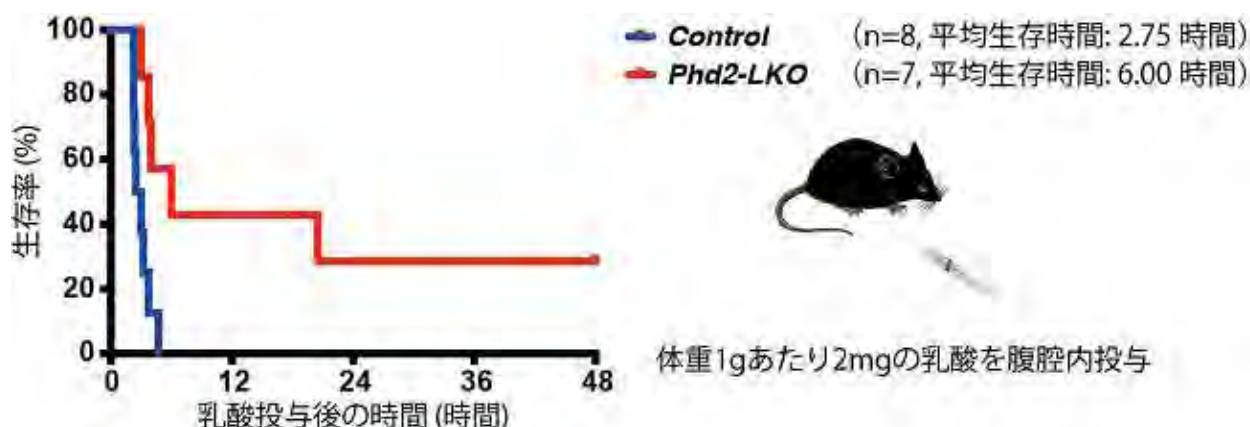
細胞内で PHD2 が抑制され低酸素応答が活性化すると、細胞は酸素を利用しない糖代謝(嫌気解糖)によって細胞のエネルギーであるアデノシン 3 リン酸 (ATP) (注4)を産生し、大量の乳酸が細胞から血中に放出されます。もし全身の細胞で PHD2 の機能が低下して低酸素応答が活性化すると、血中に放出される乳酸が激増し、乳酸アシドーシスという致命的な状態に陥ってしまいます。ところが、マウスにおいて全身の細胞で PHD2 を破壊して低酸素応答を活性化させると、予想に反して血中乳酸値は上昇するどころか野性型マウスと比べて逆に低値であることが分かりました。そこで、体内で血中の乳酸を分解する反応が活発な肝臓に着目しました。

## 2. 研究の概要と成果

細胞のエネルギー代謝が、酸素を使わずにブドウ糖からエネルギーを産生する嫌気解糖に切り替わった結果として筋肉などから血中に放出された乳酸は、血液の流れに乗って肝臓に運ばれ、肝細胞においてブドウ糖に変換(糖新生)され、再び血液の流れに乗って筋肉などに戻され嫌気解糖に利用されて、そこでまた乳酸が産生される、というリサイクル回路(コリ回路)によって制御されていることが古くから知られています。本研究グループは、酸素濃度センサーである PHD2 遺伝子を肝臓でのみ破壊することによって肝臓においてのみ低酸素応答を活性化したマウスを作製し、肝臓における低酸素応答が全身の乳酸の代謝に与える影響を観察しました。

その結果、PHD2 遺伝子を肝臓でのみ破壊したマウスにおいては、1時間ほどベルトコンベアの上を走らせることで運動負荷を加えて高乳酸血症を誘導しても、野生型マウスと比較して血中乳

酸値は有意に低値であり、また野生型マウスよりも長時間走ることができることを確認しました。さらに、PHD2 を肝臓でのみ破壊したマウスでは、致死量の乳酸を腹腔内に投与しても、野生型マウスと比較して血中乳酸値は有意に低値でした。また、血液は酸性（アシドーシス）には傾かず、中性を維持しており、マウスの生存率も劇的に改善することを明らかにしました（図2）。



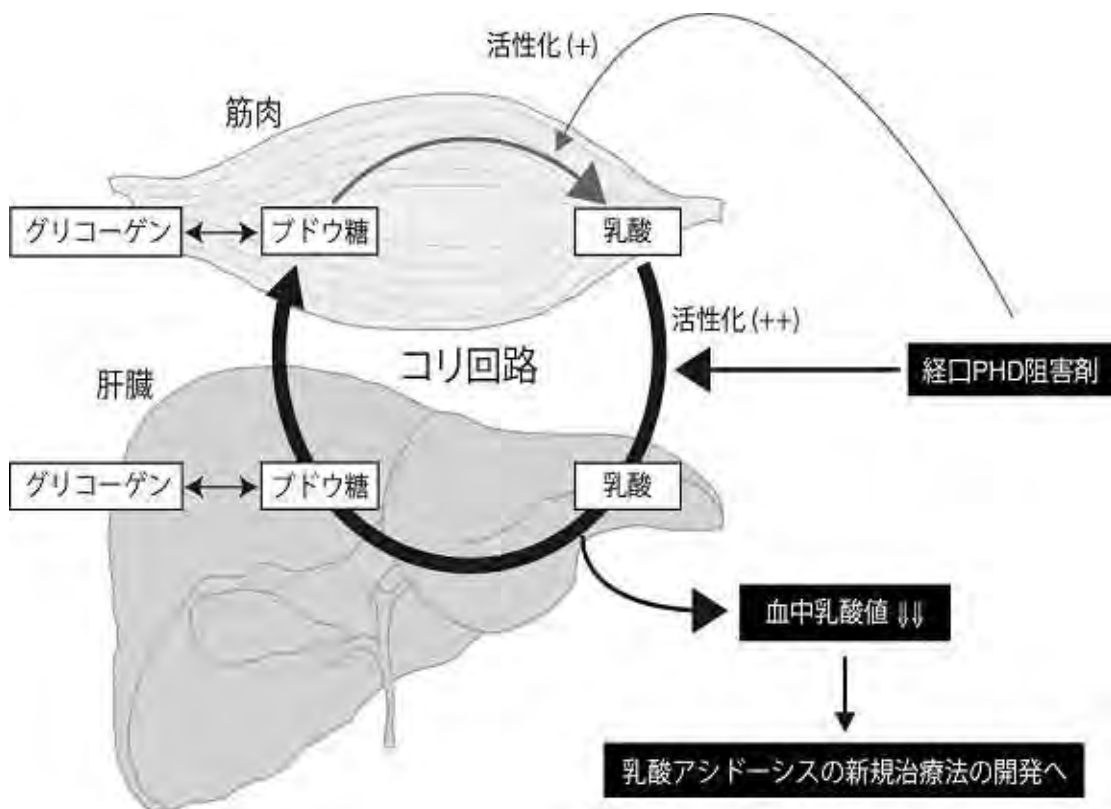
（図2）肝臓での PHD2 不活性化による致死量の乳酸投与後の生存率の劇的な改善

肝臓特異的に PHD2 遺伝子を破壊したマウス (Phd2-LKO) においては、野生型マウス (Control) と比較して致死量の乳酸 (2 mg/g・BW) を腹腔内に投与した後の生存率が有意に高いことが分かる (Log-rank test,  $p = 0.0055$ )。

乳酸アシドーシスは、敗血症などの重篤な疾患などに頻繁に合併し、生命予後を悪化させる大変危険な病態です。そこで本研究グループは、致死量の腸菌毒素 (LPS: リポポリサッカライド) を投与して作製した敗血症モデルマウスに、PHD2 の阻害剤を経口投与しました。その結果、PHD2 阻害剤を経口投与したマウス群においては、野生型マウスと比較して血中乳酸値の上昇が認められず、かつマウスの生存率の著明な改善が確認できました。経口投与された薬剤は、消化管から吸収されて門脈を経由してまず肝臓に作用するため、この研究結果は肝臓における低酸素応答を PHD2 阻害剤などで活性化すると、血中乳酸値を低下させることができることを意味しています。

### 3. 研究の意義・今後の展開

敗血症などの重篤な感染症の治療成績は、血中乳酸値と逆相関するため、重症感染症の治療には乳酸アシドーシスを軽減させることが必須となります。本研究成果は、肝臓における PHD2 を介した低酸素応答を標的とする全く新しい乳酸アシドーシスの治療法の開発、ひいては重症感染症などの治療成績改善へとつながるものと期待されます（図3）。



### (図3) 低酸素応答による肝臓内でのコリ回路の活性化

肝臓で低酸素応答を活性化させると、血中の乳酸を肝細胞に取り込み、そこからブドウ糖を合成（糖新生）し、新たに合成されたブドウ糖を血中へと戻すという「コリ回路」の肝臓側の機能が活性化することが証明された。

#### 4. 特記事項

本研究成果は主に以下の事業・研究領域・研究課題によって遂行されました。

MEXT/JSPS 科学研究費助成事業 20593966, 24659154, 26111006

JST 戦略的創造研究推進事業

#### 5. 論文について

タイトル（和訳）：“ Inhibition of the Oxygen Sensor PHD2 in the Liver Improves Survival in Lactic Acidosis by Activating the Cori Cycle ”

（肝臓における低酸素応答はコリ回路の活性化を介して乳酸アシドーシスの生存率を改善する～低酸素センサーPHD2を標的とした新たな乳酸アシドーシス治療法の開発へ～）

著者名：壽原朋宏、菱木貴子、笠原正貴、早川典代、小柳津智子、中西豪、久保亜紀子、森崎浩、William G. Kaelin Jr.、末松誠、南嶋洋司

本論文は平成26年度の研究成果を報告したものです。

掲載誌：「米国科学アカデミー紀要（PNAS: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America）」オンライン速報版

## 【用語解説】

### (注1) 乳酸アシドーシス

血中乳酸値が 5 mM 以上に上昇し、動脈血の pH が 7.35 未満にまで低下した危険な状態。血液が酸性に傾き、様々な臓器障害を引き起こす致死的な病態である。敗血症などの重症感染症にしばしば合併し、患者の生存率を低下させる重要な予後規定因子である。

### (注2) PHD: prolyl hydroxylase domain-containing protein.

低酸素環境に順応するために必要な遺伝子の発現制御を司る転写因子 HIF の、ある特定のアミノ酸プロリン残基を水酸化する酵素。酵素活性に酸素や鉄を必要とする。通常酸素濃度環境では、HIF の $\alpha$  サブユニット(HIF $\alpha$ )の特定のプロリン残基を水酸化して蛋白分解へ導くことによって低酸素応答を抑制しているが、酸素濃度が低下すると酵素活性を失うため、HIF $\alpha$ は蛋白分解を免れて蛋白発現量が急激に増加し、HIF $\beta$ と結合して低酸素環境下に必要な遺伝子群の転写を活性化する。すなわち、PHD は HIF を介した低酸素応答のオン・オフを決定するスイッチ役として機能する「細胞内酸素濃度センサー」である。3つある PHD 遺伝子のうち、生体内では PHD2 が主要な HIF $\alpha$ のプロリン水酸化酵素である。

### (注3) HIF: hypoxia-inducible factor.

低酸素環境で必要な遺伝子を発現させる転写因子。 $\alpha$ と $\beta$ の 2 つのサブユニットから形成されるが、この $\alpha$  サブユニット (HIF $\alpha$ )は、正常酸素濃度環境ではプロリン水酸化酵素 PHD1 ~ PHD3 (主に PHD2) によって特定のプロリン残基が水酸化され、それを指標に HIF $\alpha$ は蛋白分解へと導かれるため、正常酸素濃度環境下では転写因子としては機能しない。しかし、酸素濃度が低下すると、酵素活性に酸素を必要とする PHD2 は酵素活性を失うため、分解を免れた HIF $\alpha$ は $\beta$  サブユニット (HIF $\beta$ )と結合して二量体を形成し、造血因子エリスロポエチン (EPO)や血管内皮増殖因子 (VEGF)などの低酸素関連遺伝子を転写する。HIF $\beta$ は 1 つの遺伝子しか同定されていないが、HIF $\alpha$ は哺乳動物では HIF1 $\alpha$ 、HIF2 $\alpha$ 、HIF3 $\alpha$ の 3 つの遺伝子が同定されており、発現している臓器・転写ターゲット・転写活性がそれぞれ異なる。

### (注4) アデノシン 3 リン酸 (ATP: adenosine triphosphate)

我々の身体の細胞が行う生命活動に必須なエネルギー源であり、しばしば「エネルギー通貨」とも呼ばれる。ATP に含まれる高エネルギーリン酸結合が加水分解される際にエネルギーを放出し、筋肉の収縮などの様々な反応に利用される。

ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

## 【本発表資料のお問い合わせ先】

<研究に関すること>

慶應義塾大学医学部 医化学教室

南嶋 洋司 (ミナミシマ ヨウジ) 特任講師

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 3 5 番地

Tel : 03-5363-3753 / Fax : 03-5363-3466

E-mail: yoji\_andrew\_minamishima@keio.jp

<http://www.jst.go.jp/erato/suematsu/>

<JST の事業に関すること>

大山 健志 (オオヤマ タケシ)

科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部

〒102-0076

東京都千代田区五番町7 K s 五番町

Tel : 03-3512-3528 / Fax : 03-3222-2068

E-mail : eratowww@jst.go.jp

<報道担当>

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課:吉岡、三船

〒160-8582 東京都新宿区信濃町3 5

Tel : 03-5363-3611 / Fax : 03-5363-3612

E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp

<http://www.med.keio.ac.jp/>

科学技術振興機構 広報課

〒102-0076

東京都千代田区四番町5番地3

Tel : 03-5214-8404 Fax : 03-5214-8432

E-mail : jstkoho@jst.go.jp