

研究報告書

研究課題名：
代謝産物の変化情報に基づく心筋機能制御法の確立

(研究領域:「代謝と機能制御」)

研究者氏名: 佐野 元昭

(研究期間: 2006年10月1日～2010年3月31日)

研究報告書

1. 研究課題名

代謝産物の変化動態に基づく心筋ストレス応答機構の解明

2. 氏名

佐野 元昭

3. 研究のねらい

心不全(心機能低下)は心筋梗塞をはじめとするすべての心臓病の終末像でありその生命予後は不良である。心不全の発症頻度は加齢とともに増加する。高齢者では加齢に伴う高血圧、糖・脂質代謝異常などのリスクの集積によって心筋梗塞や心不全を煩う頻度も増加してくる。高齢者では様々な「ストレス応答の低下」から若年者と比して心不全に陥りやすくまた一度心不全を発症するとその生命予後も不良である。最近の薬物療法や非薬物療法の進歩によって心筋梗塞、心不全の患者の生命予後は改善されてきてはいるもののまだまだ社会的要望を満たしているとは言えず(unmet need) 治療法のさらなる改善の余地が残されている。私たちは心筋細胞内代謝や新規の心臓生理活性物質の探索を介して、心筋保護による新規心臓病治療法の開発をめざして研究を続けている。

4. 研究成果

4. 1 ミトコンドリア酸化ストレスに対する心筋細胞代謝リモデリング

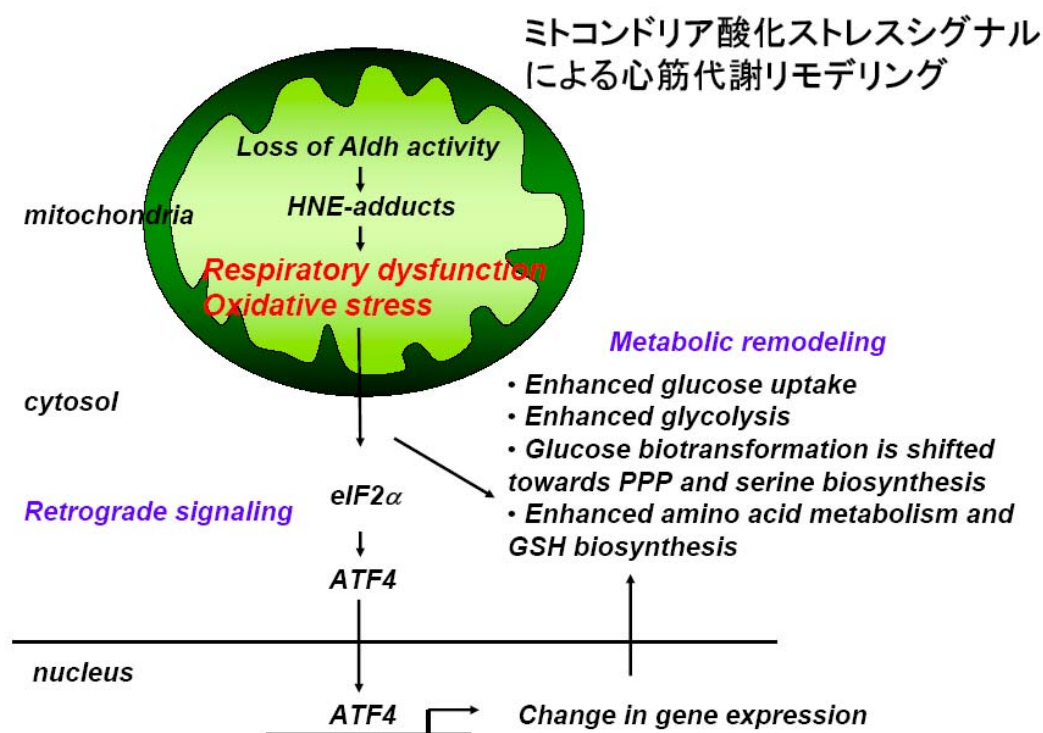
心筋細胞は終末分化した細胞である細胞周期から逸脱している。グルコースや脂肪酸をミトコンドリアでの酸化的リン酸化によって CO₂ まで完全に燃焼させ効率よくエネルギーを(ATP)産生している。一方で心臓に血行力学的負荷(高血圧による圧負荷、心筋梗塞による作業心筋の喪失など)が加わると脂肪酸の酸化とミトコンドリアでの酸化的リン酸化が抑制され、かわりにグルコースの心筋細胞内への取り込みが亢進する。このメタボリックリモデリングは心不全への進行を予防するための適応現象なのか、反対に心不全への進行を加速させる有害な反応なのか、これまで議論的であった。心不全を発症した心筋細胞内はエネルギー飢餓状態にある。ミトコンドリアでの酸化的リン酸化の低下は ATP 産生効率の低下をもたらす。一方で、特に障害をうけたミトコンドリアでの酸化的リン酸化の亢進は過剰な活性酸素の産生を招き、脂質過酸化、酸化的 DNA 障害を介してミトコンドリアのさらなる障害や細胞死を誘導して心不全の発症を招く。

脂質過酸化反応の終末代謝産物であるアルデヒドは酸化ストレス性障害の実行分子と考えられる。心不全患者の心筋細胞ミトコンドリア内にはアルデヒドが蓄積している。ミトコンドリア内でアルデヒドを無毒化する主要な代謝酵素であるアルデヒド脱水素酵素 ALDH2 を不活性化した遺伝子操作マウスでは、ミトコンドリア内にアルデヒドが蓄積して、ミトコンドリア内における酸化ストレス状態が亢進している。この遺伝子操作モデルマウスにおける心筋細胞内代謝応答を網羅的に検討したところ、ミトコンドリアでの酸化的リン酸化の低下し、グルコースの取り込みは亢進していた。しかし、この酸化ストレスモデルマウスの心筋細胞内エネルギー貯蔵レベルの指標であるクレアチンリン酸や ATP の低下はなく心筋収縮力も正常に維持されていた。さらに驚いたことに冠動脈結紮(虚血)・再灌流障害による急性の酸化ストレスによる心筋障害に対しても正常野生型マウスよりむしろ抵抗性を示した。

キャピラリー電気泳動質量分析装置を用いたメタボローム解析の結果、解糖系の亢進に伴ってペントースリン酸経路やアミノ酸合成経路が活性化され、結果的に細胞内還元型グルタチオン濃度が高いレベルに維持されていることが分かった。還元型グルタチオンは抗酸化ストレス応答を担う鍵分子であり、転写因子 ATF4 をノックダウンして還元型グルタチオン濃度を低下させると冠動脈結紮(虚血)・再灌流障害による急性の酸化ストレスに対する抵抗性が抑制された〔図〕。

以上の結果から、ストレスをかけられた心筋細胞における代謝リモデリングはミトコンドリアでの酸化的リン酸化を抑えて、活性酸素の発生を抑えるという意味においては生体にとって有利に働

く適応現象である可能性が示唆された。また、心筋収縮機能維持に必要なエネルギー産生は解糖系の亢進によってミトコンドリアでの酸化的リン酸化の低下を補える可能性が示唆された。



4. 2 グルコルチコイドによる心筋保護効果とプロスタグランジン D₂

グルコルチコイドは臨床の場で抗炎症・抗免疫作用を期待して汎用されている。例外的に心筋梗塞、心筋炎には臨床経験上、グルコルチコイドの使用は推奨されていない。むしろ禁忌と考えられている。しかし、グルコルチコイドが心筋細胞にどのような影響を与え、また病的状態下でのグルコルチコイド投与は心筋細胞に対して保護的に働くのか、障害促進性に働くのかはこれまで全く明らかにされてこなかった。

我々はグルコルチコイドがマウス心筋虚血再灌流障害やウイルス性心筋炎による心筋細胞死に対して心筋保護的に働くことを確認した。DNA gene chip 解析を行い心筋細胞におけるグルコルチコイドの標的遺伝子を網羅的にスクリーニングした結果、グルコルチコイドは心筋細胞において例外的に phospholipase A2 (PLA2), cyclooxygenase-2 (COX-2) の発現を誘導してアラキドン酸代謝を活性化させることが明らかになった。このグルコルチコイドの作用はグルコルチコイド受容体 GR を介していた。グルコルチコイドによる心筋保護効果は COX-2 阻害剤で消失することからアラキドン酸代謝の活性化が心筋保護効果に直接関与していると考えられた。液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法を用いた酸化脂質の半定量解析の結果、グルコルチコイドで刺激された心臓からは PGD₂ が優位に産生させることを見出した。PGD₂ 合成酵素の中では、グルコルチコイドによってリポカリン型 PGD₂ 合成酵素 (L-PGDS) が誘導されていた。

以上の結果は、心筋細胞に対してグルコルチコイド治療は細胞保護的に作用するがその効果は COX-2 依存性であることを示している。臨床の現場でしばしば解熱鎮痛剤として投与される COX-2 阻害剤との併用によってグルコルチコイドの心筋細胞保護効果がマスクされている可能性が示唆された。

5. 今後の展開

さきがけ研究で得られた実験結果を臨床の現場へトランスレーションするためには、酸化ストレスに対する心筋ストレス応答を誘導するような治療や metabolic modulator による心不全治療の可能性に関してさらなる基礎的検討が必要である。我々の基礎的研究の結果から新たな視点でグルココルチコイドは臨床的有効性を見直す必要があると考えている。また、PGD2の心血管腎臓病治療への応用の可能性に関してはその作用機序を含めて今後さらなる基礎的検討が必要である。

6. 研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Sano M, Tokudome S, Shimizu N, Yoshikawa N, Ogawa C, Shirakawa K, Endo J, Katayama T, Yuasa S, Ieda M, Makino S, Hattori F, Tanaka H, Fukuda K, Intramolecular Control of Protein Stability, Subnuclear Compartmentalization, and Coactivator Function of Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ Coactivator 1 α , *J Biol Chem.*, vol. 282, 25970-25980 (2007)
2. Noritada Yoshikawa, Masao Nagasaki, Motoaki Sano, Satori Tokudome, Kazuko Ueno, Noriaki Shimizu, Seiya Imoto, Satoru Miyano, Makoto Suematsu, Keiichi Fukuda, Chikao Morimoto, Hirotohi Tanaka, Ligand-based gene expression profiling reveals novel roles of glucocorticoid receptor in cardiac metabolism, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, vol. 296, E1363-1373 (2009)
3. Motoaki Sano, Keiichi Fukuda, The selective VEGFR inhibitor PTK787/ZK 222584 represses the activities of VEGFR-negative bone marrow-derived mesenchymal stem cells, *Cancer Biol. Ther.*, vol. 8, 1249-1251 (2009)
4. Satori Tokudome, Motoaki Sano, Ken Shinmura, Tomohiro Matsuhashi, Shintaro Morizane, Hidenori Moriyama, Kayoko Tamaki, Kentaro Hayashida, Hiroki Nakanishi, Noritada Yoshikawa, Noriaki Shimizu, Jin Endo, Takaharu Katayama, Mitsushige Murata, Shinsuke Yuasa, Ruri Kaneda, Kengo Tomita, Naomi Eguchi, Yoshihiro Urade, Koichiro Asano, Yasunori Utsunomiya, Takeshi Suzuki, Ryo Taguchi, Hirotohi Tanaka, Keiichi Fukuda, Glucocorticoid protects rodent hearts from ischemia/reperfusion injury by activating lipocalin-type prostaglandin D synthase-derived PGD2 biosynthesis, *J. Clin. Invest.*, vol. 119, 1477-1488 (2009)
5. Yoshihiko Suzuki, Motoaki Sano, Kentaro Hayashida, Ikuroh Ohsawa, Shigeo Ohta, Keiichi Fukuda, Are the effects of alpha-glucosidase inhibitors on cardiovascular events related to elevated levels of hydrogen gas in the gastrointestinal tract? *FEBS Lett.*, vol. 583, 2157-2159 (2009)
6. Motoaki Sano, Mitochondrial protection and the reversal of left ventricular remodeling, *Circ. J.*, vol. 73, 2017-2018 (2009)
7. Jin Endo, Motoaki Sano, Takaharu Katayama, Takako Hishiki, Ken Shinmura, Shintaro Morizane, Tomohiro Matsuhashi, Yoshinori Katsumata, Yan Zhang, Hideyuki Ito, Yoshiko Nagahata, Satori Marchitti, Kiyomi Nishimaki, Alexander Martin Wolf, Hiroki Nakanishi, Fumiyuki Hattori, Vasilis Vasiliou, Takeshi Adachi, Ikuroh Ohsawa, Ryo Taguchi, Yoshio Hirabayashi, Shigeo Ohta, Makoto Suematsu, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda, Metabolic remodeling induced by mitochondrial aldehyde stress stimulates tolerance to oxidative stress in the heart, *Circulation Research*, vol. 105, 1118-1127 (2010)

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 1 件

(3) その他の成果

(A) 学会発表

1. 佐野元昭、転写コアクチベーター PGC-1 による心筋エネルギー代謝調節機構、京都大学医学部附属病院循環器内科セミナー(京都)(2006年11月24日)
2. Motoaki Sano, Méage-à-trois 1 is indispensable for the transcriptional function of PPAR γ coactivator-1, 23rd Annual Meeting of the International Society of Heart Research Japanese Section, Makuhari, Chiba, Japan (2006/12/1)
3. 佐野元昭、Intramolecular control of protein stability, subnuclear compartmentalization, and coactivator function of PGC-1 α 、宮崎サイエンスキャンプ(宮崎)(2007年2月17日)

(B)受賞

1. 慶應義塾大学医学部三四会賞(北里賞)(2008年6月12日)
2. 慶應義塾大学医学部三四会奨励賞(2010年1月5日)

(C)著作物

1. 佐野元昭, PGC-1 と心機能、心筋代謝, Annual Review 循環器 2008年版, 第1章「循環器の生物学」, 16-22 (中外医学社)
2. 佐野元昭, ミトコンドリアエネルギー代謝, Heart Review(Medical Review 社), vol. 12, 776-781 (2008)
3. 佐野元昭, 菱木貴子, 末松誠, 中西広樹, 田口良, メタボローム, Annual Review 循環器 2009年版, 第1章「循環器の生物学」, 25-28 (中外医学社)
4. 佐野元昭, 徳留さと, 「メタボロミクスと最新分子バイオマーカー研究」ステロイドホルモンの心筋障害抑制作用とプロスタグランジン D2, 遺伝子医学 MOOK16 メタボロミクスその解析〜 (メディカルドゥ)(2010)
5. 佐野元昭, 心筋ミトコンドリアの酸化的障害に対する代謝応答, 医学のあゆみ, vol. 232, 359-364 (2010)