

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15306

研究課題名(和文) 実験老化モデルを基盤とした加齢関連因子の臨床的検証

研究課題名(英文) Estimation of the role of age-associated factors by using experimental aging models

研究代表者

南野 徹 (MINAMINO, TOHRU)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：90328063

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：様々な刺激によって誘導された血管内皮細胞老化のアレイデータから共通に誘導される分泌因子や細胞表面分子を抽出することによって、血管老化に伴って特異的に発現が亢進する11種類の候補分子を同定した。そのなかで、SAGPの発現はApoE欠失マウスや高齢マウスの動脈硬化組織においてその発現が亢進すること、動脈硬化患者の末梢白血球においても発現の亢進が認められた。興味深いことに、sh-SAGPレンチウイルスによるSAGPの欠失は、分裂寿命を短縮させていたことから、SAGPは細胞老化の進展とともに発現が亢進し、血管や脂肪組織に蓄積する老化細胞の生存に対して保護的に働いている可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：Accumulation of senescent vascular endothelial cells impairs the vessel homeostasis and promotes atherosclerotic diseases, however, underlying mechanisms are largely unknown. We identified a novel protein, senescence-associated glycoprotein (SAGP), as a biomarker of endothelial cell senescence. We found that SAGP expression was significantly increased in HUVECs undergoing replicative senescence. SAGP expression was significantly higher in patients with atherosclerotic diseases compared to patients without atherosclerotic diseases. Deletion of SAGP in HUVECs resulted in high mitochondrial ROS level and promoted premature senescence in these cells. The fragmented mitochondria were increased and mitophagy was decreased in SAGP knockdown HUVECs. Our studies suggest that SAGP is critically involved in the maintenance of vascular homeostasis by the suppression of mitochondrial ROS.

研究分野：老化

キーワード：細胞老化 生活習慣病

1. 研究開始当初の背景

現在日本は、これまで世界に類を見ない高齢化社会を迎えている。その結果、医療を必要とする人口が増大し、さらには医療水準の向上や先進医療の発展とも相まって、医療費の増加が著しい。特に高齢者においては、糖尿病や動脈硬化、高血圧などの生活習慣病の罹患率が増加し、その結果、虚血性心疾患や脳卒中の発症に繋がっている。特に「ヒトは血管から老いる」と言われているように、血管老化・動脈硬化を基盤とした脳心血管死は、高齢者の死亡原因の大半を占めている。加齢に伴って様々な組織に慢性的な炎症が惹起されることが、これらの生活習慣病の発症・進展の原因の一つとなっていると示唆されているが、その機序は不明であり、病態の評価方法も不十分である。

2. 研究の目的

様々な医薬品の開発等による治療法の発展にも関わらず、血管老化・動脈硬化を基盤とした脳心血管死は高齢者の死亡原因の大半を占めており、平均寿命と健康寿命の乖離に大きく関与している。健康長寿の実現のためには、病的老化の進展した集団をいち早く抽出し、老化を標的とした先制医療を実践する必要がある。しかしながら、これまで病的老化の進展を評価・予測する方法の開発はなされていない。我々は以前より、様々な加齢促進ストレスによって組織における老化細胞の蓄積が加速され、臓器・組織機能不全(老化)を促進することで加齢関連疾患発症・進展に関与していることを示してきた。そこで本研究では、ヒト血管内皮細胞老化モデルや長寿・老化マウスモデルを用いて加齢関連因子を抽出し、さらに臨床的検証を加えることで、新たな老化マーカー・治療標的を同定することを目指す。

3. 研究の方法

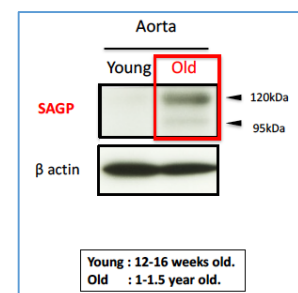
これまでの我々の研究から、老化した細胞が様々な炎症惹起分子を分泌し、生活習慣病をはじめとした加齢関連疾患の病態基盤となっている慢性炎症に関与していることが示されている。近年このような現象は、Senescence-associated Secretory Phenotype (SASP)として報告されるようになっており、生活習慣病のほか、がん発症にも関わっていることが示唆されている。一方、血管内皮細胞は、最大の内分泌組織であることも知られており、血管から分泌される分子が生活習慣病に対する血中マーカーとなること、

さらに、様々な加齢関連疾患の病態生理にも影響することが示唆されている。前述したようにこれまでの我々の研究から、血管老化には、細胞分裂に伴うテロメアの短縮のほか、生活習慣病に伴うメタボリックストレスが関与していることがわかっている。そこでこれらの老化シグナルによるストレスを総合的に評価するため、分裂に伴う老化のほか、DNA 損傷反応を直接活性化するストレスや遺伝子導入による老化を誘導した血管内皮細胞の遺伝子発現データをバイオインフォマティクス的手法を用いて解析する。パブリックデータベースに登録されている老化を誘導した血管内皮細胞の遺伝子発現データについてもメタ解析を行う。様々な老化誘導の系で共通して変化する遺伝子のうち、特に分泌因子や細胞表面分子を抽出し、佐渡研究においてヒト血中で測定する老化関連候補因子を決定する。

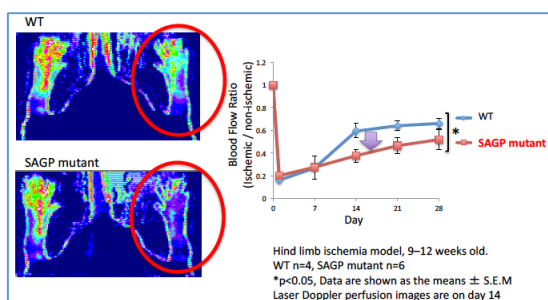
細胞老化と関連がある因子について、疾患の発症や寿命との関連性の因果関係を調べるため、候補因子の遺伝子改変マウスを確立する。それらのマウスの加齢性変化を観察することによって老化への直接作用を検証する。また、それらの遺伝子改変マウスに、加齢関連疾患モデル(糖尿病、動脈硬化、心不全など)の作製、あるいは早老症モデルとの交配を行い、その形質を観察することによって、候補因子の加齢関連疾患の病態生理に対する関与と、候補因子による老化を標的とした先制医療の可能性について検証する。

4. 研究成果

分裂老化や Oncogenic Ras による細胞老化、Akt 過剰発現による細胞老化など、様々な刺激によって誘導された血管内皮細胞老化のアレイデータから共通に誘導される分泌因子や細胞表面分子を抽出することによって、血管老化に伴って特異的に発現が亢進する 11 種類の候補分子を同定した。そのなかで、ヒトの加齢と関連が示唆されている SAGP について、まず検討を進めた。SAGP の発現は実際分裂老化に伴って増加しており、ApoE 欠失マウスや高齢マウスの動脈硬化組織においてその発現が亢進すること、動脈硬化患者の末梢白血球に



においても発現の亢進が認められた。興味深いことに、sh-SAGP レンチウイルスによる SAGP の欠失は、Mitophagy の減弱を誘導することで Mito-ROS の蓄積をもたらし、分裂寿命を短縮させていた。一方 Katayama らは、SAGP の発現が肥満マウスの内臓脂肪で増加することを報告し、生活習慣病の発症に関与することを示唆している。さらに、SAGP の役割を調べるため、SAGP 欠失マウスを確立して検証した。その結果、本マウスでは、虚血組織における血管新生能の低下など、さまざまな血管機能異常を示していた。以上のことから、SAGP は細胞老化の進



展とともに発現が亢進し、血管や脂肪組織に蓄積する老化細胞の生存に対して保護的に働いている可能性が示唆される。また SAGP は、老化マーカーや治療標的となる可能性があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 28 件全て査読あり)

- ① Kinoshita D, Nagasawa A, Shimizu I, Ito T, Yohko Y, Tsuchida M, Iwama A, Hayano T and Minamino T. Progerin impairs vascular smooth muscle cell growth via the DNA damage response pathway. *Oncotarget* 2017 (in press).
- ② Aoyama N, Nishinari M, Ohtani S, Kanai A, Noda C, Hirata M, Miyamoto A, Watanabe M, Minamino T, Izumi T, Ako J. Clinical features and predictors of patients with critical limb ischemia who responded to autologous mononuclear cell transplantation for therapeutic angiogenesis. *Heart Vessels*. 2017 Mar 29. doi: 10.1007/s00380-017-0968-5. [Epub ahead of print]
- ③ Iijima K, Ishida N, Izumi D, Minamino T. Inappropriate inhibition of biventricular pacing due to diaphragmatic myopotentials amplified by the selectable sensing filter. *Europace*. 2017 Mar 13. doi: 10.1093/europace/euw372. [Epub ahead of print]
- ④ Otuki S, Hasegawa K, Watanabe H, Katsuomi G, Yagihara N, Iijima K, Sato A, Izumi D, Furushima H, Chinushi M, Aizawa Y, and

Minamino T. The effects of pure potassium channel blocker nifekalant and sodium channel blocker mexiletine on malignant ventricular tachyarrhythmias. *Journal of Electrocardiology*, 2016 Sep 8. pii: S0022-0736(16)30178-9.

⑤ Ozaki K, Okubo T, Tanaka K, Hosaka Y, Tsuchida K, Takahashi K, Oda H, Minamino T. Manifestation of Latent Left Ventricular Outflow Tract Obstruction in the Acute Phase of Takotsubo Cardiomyopathy. *Intern Med*. 2016;55:3413-3420.

⑥ Hasegawa K, Watanabe H, Hisamatsu T, Ohno S, Itoh H, Ashihara T, Hayashi H, Makiyama T, Minamino T, Horie M. Early repolarization and risk of arrhythmia events in long QT syndrome. *Int J Cardiol*. 2016;223:540-542.

⑦ Watanabe T, *Kashimura T, Kodama M, Tanaka K, Fujiki S, Hayashi Y, Obata H, Hanawa H, Minamino T. Failing Left Ventricles Have an Enhanced Post-Stimulation Potentiation Despite Their Impaired Force Frequency Relationship. *Int Heart J*. 2016;57:317-22.

⑧ *Sato A, Hasegawa Y, Minamino T. The first reported case of a transvenous left ventricular pacing lead of cardiac resynchronization therapy causing aggravation of coronary atherosclerosis. *Europace*. 2016;18:1734

⑨ Tahara N, Dobashi H, Fukuda K, Funachi M, Hatano M, Ikeda S, Joho S, Kihara Y, Kimura T, Kondo T, Matsushita M, Minamino T, Nakanishi N, Ozaki Y, Saji T, Sakai S, Tanabe N, Watanabe H, Yamada H, Yoshioka K, Sasayama S. Efficacy and Safety of a Novel Endothelin Receptor Antagonist, Macitentan, in Japanese Patients With Pulmonary Arterial Hypertension. *Circ J*. 2016; 80: 1478-83.

⑩ Sonoda K, Ohno S, Otuki S, Kato K, Yagihara N, Watanabe H, Makiyama T, Minamino T, Horie M. Quantitative analysis of PKP2 and neighbouring genes in a patient with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy caused by heterozygous PKP2 deletion. *Europace*. 2016 ;19:644-650

⑪ Yagihara N, Watanabe H, Barnett P, Duboscq-Bidot L, Thomas AC, Yang P, Ohno S, Hasegawa K, Kuwano R, Chatel S, Redon R, Schott JJ, Probst V, Koopmann TT, Bezzina CR, Wilde AA, Nakano Y, Aiba T, Miyamoto Y, Kamakura S, Darbar D, Donahue BS, Shigemizu

- D, Tanaka T, Tsunoda T, Suda M, Sato A, Minamino T, Endo N, Shimizu W, Horie M, Roden DM, Makita N. Variants in the SCN5A Promoter Associated With Various Arrhythmia Phenotypes. **J Am Heart Assoc.** 2016 Sep 13;5(9). pii: e003644. doi: 10.1161/JAHA.116.003644.
- ⑫ Sonoda K, Watanabe H, Hisamatsu T, Ashihara T, Ohno S, Hayashi H, Horie M, Minamino T. High Frequency of Early Repolarization and Brugada-Type Electrocardiograms in Hypercalcemia. **Ann Noninvasive Electrocardiol** 2016;21:30-40. doi: 10.1111/anec.12303.
- ⑬ Watanabe H, Minamino T. Rare Variants in ANK2 Associated With Various Inherited Arrhythmia Syndromes.. **Circ J.** 2016;80:2423-2424
- ⑭ Shimizu I, Minamino T. Physiological and pathological cardiac hypertrophy. **J Mol Cell Cardiol.** 2016; 97: 245-262.
- ⑮ Watanabe H, Minamino T. Genetics of Brugada syndrome. **J Hum Genet** 2016; 61: 57-60.
- ⑯ Shimizu I, Yoshida Y, Minamino T. A role for circadian clock in metabolic disease. **Hypertens Res** 2016; 39: 483-91.
- ⑰ Tagawa M, Nanba H, Suzuki H, Nakamura Y, Uchiyama H, Ochiai S, Terunuma M, Yahata K, Minamino T. Ventricular Rhythm and Hypotension in a Patient with Pheochromocytoma-induced Myocardial Damage and Reverse Takotsubo Cardiomyopathy. **Intern Med** 2015; 54: 2343-9.
- ⑱ Higashi Y, Azuma N, Takeishi Y, Minamino T, Kihara Y, Node K, Sata M, Fukumoto Y, Origasa H, Matsuo H, Naritomi H, Fujita M, Shimizu W. Effect of a Low-Intensity Pulsed Ultrasound Device, SX-1001, on Clinical Symptoms in Buerger Disease With Limb Ischemia. **Int Heart J** 2015; 56: 632-8.
- ⑲ Hayashi Y, Hanawa H, Jiao S, Hasegawa G, Ohno Y, Yoshida K, Suzuki T, Kashimura T, Obata H, Tanaka K, Watanabe T, Minamino T. Elevated Endomyocardial Biopsy Macrophage-Related Markers in Intractable Myocardial Diseases. **Inflammation** 2015;38:2288-2299,
- ⑳ Yoshida Y, Shimizu I, Katsuomi G, Jiao S, Suda M, Hayashi Y, Minamino T. p53-Induced inflammation exacerbates cardiac dysfunction during pressure overload. **J Mol Cell Cardiol** 2015; 85: 183-98.
- ㉑ Iijima K, Chinushi M, Saitoh O, Hasegawa K, Sonoda K, Yagihara N, Sato A, Izumi D, Watanabe H, Furushima H, Aizawa Y, Minamino T. Frequency characteristics and associations with the defibrillation threshold of ventricular fibrillation in patients with implantable cardioverter defibrillators. **Intern Med** 2015; 54: 1175-82.
- ㉒ Takayama T, Okura Y, Okada Y, Honma K, Nashimoto A, Sato N, Yokoyama A, Minamino T. Characteristics of neoplastic cardiac tamponade and prognosis after pericardiocentesis: a single-center study of 113 consecutive cancer patients. **Int J Clin Oncol** 2015;20:872-877.
- ㉓ Ohno Y, Hanawa H, Jiao S, Hayashi Y, Yoshida K, Suzuki T, Kashimura T, Obata H, Tanaka K, Watanabe T, Minamino T. Liver congestion in heart failure contributes to inappropriately increased serum hepcidin despite anemia. **Tohoku J Exp Med** 2015; 235: 69-79.
- ㉔ Nagao S, Watanabe H, Sobue Y, Kodama M, Tanaka J, Tanabe N, Suzuki E, Narita I, Watanabe E, Aizawa Y, Minamino T. Electrocardiographic abnormalities and risk of developing cardiac events in extracardiac sarcoidosis. **Int J Cardiol** 2015; 189: 1-5.
- ㉕ Sumida T, Naito AT, Nomura S, Nakagawa A, Higo T, Hashimoto A, Okada K, Sakai T, Ito M, Yamaguchi T, Oka T, Akazawa H, Lee JK, Minamino T, Offermanns S, Noda T, Botto M, Kobayashi Y, Morita H, Manabe I, Nagai T, Shiojima I, Komuro I. Complement C1q-induced activation of β -catenin signalling causes hypertensive arterial remodelling. **Nat Commun** 2015; 6: 6241.
- ㉖ Suzuki H, Kayama Y, Sakamoto M, Iuchi H, Shimizu I, Yoshino T, Katoh D, Nagoshi T, Tojo K, Minamino T, Yoshimura M, Utsunomiya K. Arachidonate 12/15-lipoxygenase-induced inflammation and oxidative stress are involved in the development of Diabetic Cardiomyopathy. **Diabetes** 2015; 64: 618-30.
- ㉗ Shimizu I, Yoshida Y, Minamino T. Maintenance of Subcutaneous Fat Homeostasis Improves Systemic Metabolic Dysfunction in Obesity. **Diabetes** 2015; 64: 3984-6.
- ㉘ Shimizu I, Yoshida Y, Minamino T. Pathological Role of Adipose Tissue Dysfunction in Cardio-Metabolic Disorders. **Int Heart J** 2015; 56: 255-9.

〔学会発表〕(国内学会発表 15 件、国際学会発表 17 件、すべて招聘講演)

①Minamino T. 老化シグナルと心血管代謝ネットワーク 第 17 回日本抗加齢医学会総会(東京国際フォーラム 東京都千代田区) 2017.6.2

②Minamino T. Cellular Senescence and Age-Associated Disease. Keystone (パシフィコ横浜 神奈川県横浜市) 2017.5.18

③Minamino T. 老化から糖尿病治療方策を考える 第 81 回日本循環器学会学術集会(ホテル金沢 石川県金沢市) 2017.3.19

④Minamino T. Future Perspectives of Basic Research for Cardiovascular and Metabolic Disease 第 81 回日本循環器学会学術集会(ホテル金沢 石川県金沢市) 2017.3.18

⑤Minamino T. 老化からみた生活習慣病の治療方策 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会(鹿児島県民交流センター 鹿児島県鹿児島市) 2016.11.24

⑥Minamino T. 血管の老化を防ぐには? 日本抗加齢協会アンチエイジングセミナー(フジテレビ本社屋 東京都江東区) 2016.09.23

⑦Minamino T. 老化シグナルによって制御される心血管代謝ネットワーク 第 7 回日本脳血管・認知症学会学術大会(金沢都ホテル 石川県金沢市) 2016.08.06

⑧Minamino T. 老化からみた新しい脂質異常症の治療戦略～抗 PCSK9 交代レパーサへの期待～ 第 22 回日本心臓リハビリテーション学会学術集会 2016/7/17 (東京国際フォーラム 東京都千代田区)

⑨Minamino T. 老化シグナルによって制御される心血管代謝ネットワーク 循環制御医学会シンポジウム 2016/7/9 (東京ステーションカンファレンス 東京都千代田区)

⑩Minamino T. 糖尿病血管障害の病態・生理 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 2016/5/21(国立京都国際会館 京都府京都市)

⑪Minamino T. 老化シグナルによって制御される加齢関連疾患の発症メカニズムの解明 第 23 回日本血管生物医学会学術集会 2015/12/10(神戸国際会議場)

⑫Minamino T. 分子生物学の新技術から捉えた「生老病死」の最前線 第 38 回日本分子生物学会年会ワークショップ 2015/12/4 (神戸ポートピアホテル 神戸市中央区)

⑬Minamino T. 心血管代謝老化制御による生活習慣病の治療方策 第 38 回日本高血圧学会総会 2015/10/12 (愛知県県民文化会館 名古屋市東区)

⑭Minamino T. 血圧変動からみた高血圧治療 第 56 回日本神経学会学術集会ランチョンセミナー 2015/5/23 (朱鷺メッセ 新潟市中央区)

⑮ Minamino T. Molecular mechanisms of cardiovascular aging. 第 79 回日本循環器学会 Asian Session 2015/4/24 (大阪国際会議場 大阪府大阪市)

⑯Minamino T. Pathophysiological mechanisms of heart failure in diabetes. Joint with the Japanese Circulation Society. European Society of Cardiology 2017 2017/8/29 Barcelona, (Spain)

⑰ Minamino T. Cellular senescence in cardiovascular disease - The future. Symposium, European Society of Cardiology 2017 2017/8/28 Barcelona, (Spain)

⑱ Minamino T. A Critical Role of Cellular Senescence in Metabolic and Cardiovascular Disease. Pulse of Asia Annual Meeting 2017/5/6 Taipei International Convention Center, Taipei, (Taiwan)

⑲ Minamino T. Hypertension, diabetes, and vascular aging. The 47th Annual Convention & Scientific Session of the Taiwan Society of Cardiology, 2017 2017/5/6 Taipei International Convention Center, Taipei, (Taiwan)

⑳Minamino T. Role of cellular senescence in cardio-metabolic disease. Inha University Seminar 2017 2017/4/28 National Research Center for Sexual Medicine Dept. of Urology, Inha University School of Medicine, Incheon, (Korea)

㉑ Minamino T. Role of senescence-induced inflammation in lifestyle-related disease. The 14th Korea Japan Joint Symposium on Vascular Biology 12/9/2016 (長崎ブリック 長崎県長崎市)

㉒Minamino T. Cellular senescence and cardio-metabolic disease. Joint with the Japanese Circulation Society. European Society of Cardiology 2016 8/28/2016 Rome, (Italy)

㉓Minamino T. Future direction for research in metabolism, adipose tissue and cardiovascular disease. Metabolism, adipose tissue and cardiovascular disease. European Society of Cardiology 2016 8/27/2016 Rome, (Italy)

②④ Minamino T. A critical role of cellular senescence in metabolic and cardiovascular disease. International Symposium of the Center for Animal Disease Models 2016-Metabolic disease and Aging-July 16 (Sat.), 2016 TOKYO GARDEN(東京コンベンションホール 東京都中央区)

②⑤ Minamino T. A critical role of cellular senescence in metabolic and cardiovascular disease. The 1st International Symposium on Stem Cell Aging and Disease 6/28/2016 University of Tokyo, (Tokyo)

②⑥ Minamino T. A critical role of cellular senescence in metabolic and cardiovascular disease. The 26th International Conference the Korean Society for Gerontology 6/16/2016 Hotel Laonzena, Daegu, (Korea)

②⑦ Minamino T. A role of senescence-induced inflammation in metabolic and cardiovascular disease. Joint Japan-Korea Young Investigator Conference on Autophagy 2/18/2016 (新潟大学新潟市中央区)

②⑧ Minamino T. Roles of cellular aging signaling in lifestyle-related disease. Is anti-senescence therapy feasible? Robert and Arlene Kogod Center-Successful Aging Monday Seminar 2/8/2016 Rochester, (MN)

②⑨ Minamino T. The functional implication of DNA damage in cardiometabolic disease. The 59th Annual Scientific Meeting of The Korean Society of Cardiology 10/15-17/2015 Seoul, (Korea)

③⑩ Minamino T. Therapeutic angiogenesis in Japan. The 59th Annual Scientific Meeting of The Korean Society of Cardiology 10/15-17/2015 Seoul, (Korea)

③⑪ Minamino T. Role of cellular aging in cardiovascular and metabolic disease. The 59th Annual Scientific Meeting of The Korean Society of Cardiology 10/15-17/2015 Seoul, (Korea)

③⑫ Minamino T. Role of senescence-associated inflammation in lifestyle-related disease. 2015 International Cell Senescence Association 7/19-22/2015 Santiago de Compostela, (Spain)

〔図書〕(下記も含め計 53 件)

①古内 亮、清水逸平、南野 徹 冠動脈疾患と機能性食品 機能性食品と薬理栄養 2016;10:113-117

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2 件)

名称：老化細胞除去薬及び医薬組成物

発明者：南野 徹

権利者：同上

種類：特許

番号：2016-167679

出願年月日：2016 年 8 月 30 日

国内外の別：国内

名称：心不全患者に対する内科的治療が有効であるか否かを予測するためのデータを収集する方法

発明者：南野 徹、清水逸平

権利者：南野 徹

種類：特許

番号：2016-160569

出願年月日：2016 年 8 月 18 日

国内外の別：国内

○取得状況 (計 1 件)

名称：糖尿病の治療剤(発明届名称：糖尿病の治療薬)

発明者：南野 徹

権利者：同上

種類：特許

番号：特許第 5721211 号

出願年月日：2010 年 10 月 15 日

取得年月日：2015 年 4 月 3 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

新潟大学大学院医歯学研究院循環器内科

<http://www.med.niigata-u.ac.jp/car/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

南野 徹 (MINAMINO, Tohru)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：90328063

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()