

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2007～2008
課題番号：19590814
研究課題名（和文） 心筋細胞の機能維持における NRSF-NRSE 系と PPAR 系との
クロストークの解明
研究課題名（英文） Crosstalk between NRSF-NRSE system and PPAR system
contributing to the homeostasis of cardiac myocyte function
研究代表者
原田 昌樹（HARADA MASAKI）
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：30342695

研究成果の概要：

本研究では糖尿病などに合併する心筋症の分子メカニズムについて、NRSF-NRSE 系と PPAR 系に注目して検討した。我々が開発した二つの心不全モデル動物においてその心筋組織所見の解析でミトコンドリアの形態異常が認められたが、このモデル動物の心筋において PPAR γ coactivator-1 α mRNA 発現が減少していた。

交付額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野:医歯薬学

科研費の分科・細目:内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード:心臓病態学

1. 研究開始当初の背景

心不全を引き起こす原因は虚血性心疾患に限らず、糖尿病や高血圧症では虚血で説明できない左室壁運動異常を合併することがしばしば見られる。そして後に顕性の心不全を

発症し、患者の QOL を制限するのみならず致死性の不整脈を合併することも多い。このようないわゆる心筋症の発症のメカニズムに心筋局所におけるアンジオテンシン II やエンドセリン-1 といった液性因子が重要な役割を演じている可能

性が示唆され、実際にレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系のブロッカーが心不全の診療に広く用いられるようになってきている。糖尿病に合併する左室機能不全に関してはそのような液性因子の局所での活性化と同時に心筋細胞におけるエネルギー代謝の変化が起こっているはずだが、その分子機構の詳細は未だほとんど不明である。一方、生体の細胞における糖、脂質の代謝には一群の核内受容体による調節が関与することが明らかにされてきた。その中で peroxisome proliferators-activated receptors (PPARs) は脂質の代謝・蓄積、リポタンパクの代謝、脂肪細胞の分化、インスリンの作用に関わる分子の遺伝子発現を調節しており、糖尿病や高脂血症などの生活習慣病の治療標的としてその意義が大きく注目されている。糖尿病患者の心筋では ATP 産生のエネルギー源として脂肪酸酸化の占める割合が増加することが知られている (Stanley WC et al. *Cardiovasc. Res.* 1997;34:25-33, Rodrigues B et al. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:169)。この病態では脂肪酸の取り込みの亢進 (Lopaschuk GD et al. *Circ. Res.* 1989;65:378-387) が見られ、脂肪酸の細胞内への蓄積が心筋細胞傷害、心機能低下につながる可能性も示唆されている (Zhou YT et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2000;97:1784-1789, Chiu et al. *J. Clin. Invest.* 2001;107:813-822)。心筋における脂肪酸代謝に関わる多くの遺伝子とその発現調節に PPAR α による転写調節を受けることも報告されており (Barger PM et al. *Trends Cardiovasc. Med.* 2000;10:238-245)、これは PPAR α が、全身的に見てもエネルギー源として脂質を使用する率の高い肝、心臓、筋肉に多く発現していることと矛盾無く受け入れられる所見である。この PPAR α の心筋細胞エネルギー代謝あるいは心機能調節における意義は心筋特

異的 PPAR α 過剰発現トランスジェニックマウスの解析で検討されており、この動物では心肥大に加えて糖尿病で見られる心筋傷害に類似した変化 (収縮機能障害、心胎児型遺伝子の発現亢進) が見られたという報告がある (Finck, et al. *J Clin Invest* 2002;109:121-130, *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:1226-1231)。この動物の心筋ではまた脂肪酸酸化の亢進以外に、糖の取り込みの減少、Gq 依存性シグナルの亢進も明らかにされており、ここにアンジオテンシン II やエンドセリン-1 といった心不全に関与する局所液性因子とのクロストークが存在することも容易に想像できる。

2. 研究の目的

上記のような背景の元、本研究では糖尿病の心筋におけるエネルギー代謝機構に注目して、近年本病態への関与が示唆されている PPAR 系と、やはり心不全発症のメカニズムとして最近その意義が注目される NRSF-NRSE 系とのクロストークを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

我々が開発した心不全モデル動物である心筋特異的優性抑制型 NRSF 過剰発現トランスジェニックマウス (dnNRSF)、心筋特異的優性抑制型 p300 過剰発現トランスジェニックマウス (dnp300) においてエネルギー代謝機構に関わる種々の分子の遺伝子発現検討を試みた。

4. 研究成果

dnNRSF は生後心不全を発症し、不整脈で突然死していく拡張型心筋症モデルマウスとなった。この動物の心筋細胞ではミトコンドリアの著明な変性が認められた。ここにエンドセリン-1 等の液性因子刺激による心筋細胞の反応に関与する NRSF と、PPAR に依存した脂肪酸代謝において中心的役割を果たすミトコンドリアとのリンクが

判明した。今回の研究では、さらに心筋細胞の増殖や分化に重要な働きをすることが示唆されている p300 について、dnp300 を用いて検討した。この動物も拡張型心筋症、心不全の病態を示し、ミトコンドリアの形態に特徴的な変化が認められたが、dnNRSF とは異なる形態を示していた。この dnp300 トランスジェニックマウスの心臓では PPAR γ coactivator-1 α mRNA の発現の減少が認められた。この発見は心不全に関係する心筋細胞のエネルギー代謝障害のメカニズムを解明するための端緒となる可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

1. Nakanishi M, Harada M, Tadamura E, Kotani H, Kawakami R, Kuwahara K, Nakagawa Y, Usami S, Kinoshita H, Fujiwara M, Hosoda K, Ueshima K, Nakao K
Mitochondrial cardiomyopathy evaluated with cardiac magnetic resonance
Circulation 2007;116: e25-e26 (査読有)
2. Nakanishi M, Harada M, Kishimoto I, Kuwahara K, Kawakami R, Nakagawa Y, Yasuno S, Usami S, Kinoshita H, Adachi Y, Fukamizu A, Saito Y, Nakao K.
Genetic disruption of angiotensin II type 1a receptor improves long-term survival of mice with chronic severe aortic regurgitation.
Circ J. 2007;71:1310-6 (査読有)

[学会発表] (計 6 件)

1. Yasuaki Nakagawa, Koichiro Kuwahara,

Masaki Harada, Genzo Takemura, Masaharu Akao, Masashi Kato, Yuji Arai, Masao Murakami, Michio Nakanishi, Satoru Usami, Hideyuki Kinoshita, Masataka Fujiwara, Kenji Ueshima, Kazuwa Nakao

Functional inhibition of p300 leads to mitochondrial dysfunction and autophagic myocardial cell death in the adult heart.

American Heart Association Scientific Sessions 2007 (Orlando, Nov. 6, 2007)

2. 中川靖章、赤尾昌治、竹村元三、鷹野誠、原田昌樹、中西道郎、宇佐美覚、木下秀之、藤原正隆、上嶋健治、中尾一和
心臓ミトコンドリア機能維持における p300 の重要性
第 80 回日本内分泌学会学術総会 2007.6.14-16 (東京)
3. 木下秀之、桑原宏一郎、原田昌樹、村上政男、中川靖章、中西道郎、保野慎治、宇佐美覚、藤原正隆、上嶋健治、中尾一和
ANP・BNP 遺伝子発現抑制因子 NRSF の機能阻害による心筋症モデルマウスにおける心室頻拍・突然死発症への T 型カルシウムチャンネルの関与
第 80 回日本内分泌学会学術総会 2007.6.14-16 (東京)
4. Nakagawa Y, Kuwahara K, Takemura G, Akao M, Harada M, Nakanishi M, Usami S, Kinoshita H, Fujiwara M, Ueshima K, Nakao K
P300 Plays a Critical Role in Post-natal Cardiac Mitochondrial Gene Expression and Myocardial Cell Survival
第 11 回日本心不全学会学術集会 2007. 9. 9 - 10 (浦安市)
5. Nakagawa Y, Kuwahara K, Akao M, Katoh M, Takemura G, Takano M, Harada M, Murakami M, Nakanishi M, Usami S, Yasuno S, Kinoshita H, Fujiwara M, Kuwahara Y, Kenji Ueshima K,

Nakao K

Functional inhibition of p300 in the post-natal heart leads to mitochondrial dysfunction and cell death in mice

The 72nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society March 28-30, 2008, FUKUOKA

6. 中川 靖章、桑原宏一郎

心臓ミトコンドリア機能維持における転写共役因子 p300 の役割

第 12 回日本心血管内分泌代謝学会 学術総会 2008.11.28-29(熊本)

[図書](計 1 件)

1. 桑原宏一郎

心血管リモデリングにおける転写抑制因子 NRSF の役割 2008.10.18

医学のあゆみ

6. 研究組織

(1)研究代表者

原田 昌樹 (HARADA MASAKI)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号:30342695

(2)研究分担者

桑原 宏一郎 (KUWAHARA KOICHIRO)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号:30402887