

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 4 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21590883

研究課題名（和文）熱ショック蛋白と酸化的 DNA 塩基損傷修復による心血管リモデリング抑制の研究

研究課題名（英文）Modification of Cardiovascular Remodeling via Heat Shock Protein and Repair of Oxidative DNA damage

研究代表者

長谷部 直幸 (HASEBE NAOYUKI)

旭川医科大学・医学部・教授

研究者番号：30192272

研究成果の概要（和文）：

動脈硬化性心血管障害の主要な機序として酸化ストレスによる DNA 塩基損傷がある。この修復に関わる塩基除去修復(base excision repair: BER)機構の主要酵素である Ape1 に着目し、Ape1 の障害心血管局所での発現亢進を検出し、遺伝子導入による心血管リモデリングの抑制効果を明らかにした。また、温熱刺激(41℃)が熱ショック蛋白(HSP)72 の発現亢進を介して酸化ストレス軽減効果をもたらすことを明らかにし、両者の相加的な抗動脈硬化作用が、心血管リモデリング抑制の新たな戦略となる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）： DNA damage is one of the major cause of atherosclerotic cardiovascular diseases. We focused on Ape 1, the major enzyme of base excision repair system. Ape 1 was highly expressed in a damaged cardiovascular lesion, and the transfection of Ape 1 gene effectively prevented cardiovascular remodeling. Thermal treatment at 41 degree Celsius induced heat shock protein (HSP) 72 expression, and reduced oxidative stress. Ape1 and HSP 72 additively show an antiatherosclerotic action and are a potential new strategy for suppression of cardiovascular remodeling.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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：血管リモデリング、塩基除去修復、AP endonuclease、血管傷害モデル、酸化ストレス、HSP72、温熱刺激、血管炎症

1. 研究開始当初の背景

分子シャペロン的一种である HSP、中でも HSP72 が心血管保護的に作用することを示唆する報告があり、我々も HSP72 の心血管保護的作用を明らかにしてきた (Circulation 109: 1763-1768, 2004)。一方、動脈硬化性心血管障害の主要な機序として酸化ストレスによる DNA 塩基損傷があり、この修復に関わる塩基除去修復 (base excision repair: BER) 機構の主要酵素である Ape1 の役割が注目されている (Circulation 106; 927-932, 2002, Am J Physiol Heart Circ Physiol 290: H577-583, 2006)。しかしながら、心血管リモデリングの過程において HSP 系と BER 機構が時間的・空間的にどのような相互作用を示すのか、また各々の修飾によっていかなる効果がもたらされるのかは全く知られていない

2. 研究の目的

動脈硬化性心血管病変に対する新たな治療戦略として、熱ショック蛋白 (Heat Shock Protein: HSP) の活性増幅と酸化的 DNA 塩基損傷修復 (base excision repair: BER) 機構の活性修飾を利用し、心血管リモデリングを制御する新規手法の確立をめざす。

3. 研究の方法

ラット・マウスの培養血管平滑筋細胞、内皮前駆細胞を用い、細胞レベルでの加齢による変化や動脈硬化性刺激・酸化ストレスに対する、DNA 塩基損傷修復 (base excision repair: BER) 機構、HSP 系の関与とその変化を検討し、心血管リモデリングの動物モデル (ワイヤー障害による血管新生モデルおよび心筋虚血モデル) において、BER 機構および HSP 系の変化を検討する。さらに、BER 機構の代表的酵素である Ape1 の遺伝子導入方法を確立し、同手法を用いて細胞レベルおよび in vivo リモデリング局所レベルでの Ape1 導入の効果を明らかにする。さらに温熱刺激 (41°C) による熱ショック蛋白 (HSP) 72 の発現動態とその酸化ストレスにおよぼす効果を検討し、BER 機構と HSP 系の相互連関について検討する。

4. 研究成果

マウスのワイヤー血管障害モデルの傷害血管局所において Ape1/ref1 の著明な発現亢進を明らかにすることができた。血管内皮前駆細胞 (EPC) の導入により上記障害の血管リモデリングは抑制されるが、加齢に伴い EPC

中の Ape1/ref1 発現量は低下し、EPC 導入による血管リモデリング抑制効果は減弱することが明らかとなった。次に、pcDNA/Ape1、pcDNA/LacZ を adenovirus に効率良く組み込む手法を確立し、EPC に Ape1 を過剰発現させ障害血管局所に導入した。Ape1 過剰発現 EPC は、血管リモデリングを抑制した。発現細胞の細胞接着能を評価すると、酸化ストレス亢進状態 (H₂O₂ 添加) で低下する細胞接着能は、Ape1/ref1 依存性に回復することが明らかとなった。基準状態および酸化ストレス亢進状態 (H₂O₂ 添加) における酸化的 DNA 塩基損傷修復活性を、Ape1/ref1 の発現状態から検討すると、同機構の活性亢進が血管リモデリングの抑制に寄与することが明らかにされた。また同細胞において温熱刺激 (41°C) が熱ショック蛋白 (HSP) 72 の発現亢進をもたらす、活性酸素の除去作用を発揮することが明らかとなり、HSP 阻害薬の前投与により、保護効果は消去された。血管傷害・血管リモデリングの過程が、Ape1 によって軽減され、BER 機構の調節による抗酸化修復機序と HSP による抗酸化機序は相加的に作用し、新たな生体防御機構として抗動脈硬化作用・心血管リモデリング抑制作用を発揮しうる可能性が示された。

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] (査読あり英文のみ 計 29 件)

① Karim T, Hasebe N et al, Enhanced Transmural Dispersion of Repolarization in Patients with J Wave Syndromes. J Cardiovasc Electrophysiol. 2012 (Epub ahead of print)

② Nakagawa N, Hasebe N et al, The intrinsic prostaglandin E(2)-EP(4) system of the renal tubular epithelium limits the development of tubulointerstitial fibrosis in mice. Kidney Int, 2012 (Epub ahead of print)

③ Talib A, Hasebe N et al, The balance of fetuin-A and osteoprotegerin is independently associated with diastolic dysfunction in hemodialysis patients. Hypertens Res 35, 426-433, 2012

④ Takeuchi T, Hasebe N et al Ischemic preconditioning effect of prodromal angina is attenuated in acute myocardial

infarction patients with hypertensive left ventricular hypertrophy. *Circ J* 75: 1192-1199, 2011

⑤ Nakagawa N, **Hasebe N** et al, Potential impact of renin-angiotensin system inhibitors and calcium channel blockers on plasma high-molecular-weight adiponectin levels in hemodialysis patients. *Hypertens Res* 34, 592-598, 2011

⑥ Koyama S, **Hasebe N** et al, The induction of human CL-P1 expression in hypoxia/reoxygenation culture condition and rat CL-P1 after ischemic/reperfusion treatment *Biochim Biophys Acta* 1810, 836-842, 2011

⑦ Nakagawa N, **Hasebe N** et al, Clinical and genetic investigation of a Japanese family with cardiac fabry disease. Identification of a novel α -galactosidase A missense mutation (G195V). *Int Heart J*. 52: 308-11, 2011.

⑧ Aizawa H, **Hasebe N** et al, Cerebrovascular Disease and Intracranial Artery Stenosis in Patients with Symptomatic Peripheral Artery Disease. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2011 (Epub ahead of print)

⑨ Nakagawa N, **Hasebe N** et al, Angiotensin II receptor blocker and long-acting calcium channel blocker combination therapy decreases urinary albumin excretion while maintaining glomerular filtration rate. *Hypertens Res*. 34, 1121-1126, 2011.

⑩ Kawabe J, **Hasebe N** et al, Prostacyclin in vascular diseases. - Recent insights and future perspectives -. *Circ J*. 74, 836-43, 2010.

⑪ Aizawa H, **Hasebe N**, et al, TDP-43 pathology in sporadic ALS occurs in motor neurons lacking the RNA editing enzyme ADAR2. *Acta Neuropathol*. 120, 75-84, 2010

⑫ Yamaki M, **Hasebe N** et al, Possible contribution of ischemia of the conus branch to induction or augmentation of Brugada type electrocardiographic changes in patients with coronary artery disease. *Int Heart J*. 51, 68-71, 2010.

⑬ Kawabe J, **Hasebe N** et al, Prostaglandin I₂ promotes recruitment of endothelial progenitor cells and limits vascular remodeling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 30, 464-470, 2010

など査読あり英文のみ 計 29 件

[学会発表] (全国・国際学会のみ 計 66 件)

① **Hasebe N**, Late Breaking Clinical Trial: Antihypertensive Therapy and Cognitive Function – Combination of Antihypertensive Therapy in the Elderly, Multi-center Investigation (CAMUI) Trial. The 76th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (招待講演) 2012/3/17 Fukuoka, International Conference Hole

② **Hasebe N** Symposium : Gender Equality Lessens Medical Disparities in Cardiovascular Medicine. The 76th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (招待講演) 2012/3/17 Fukuoka, International Conference Hole

③ **Hasebe N** Symposium : Where have all the residents gone? - an endeavor for medical renovation – The 76th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (招待講演) 2012/3/17 Fukuoka, International Conference Hole

④ 長谷部直幸 シンポジウム : 高血圧治療 : ガイドラインから実臨床へ 第 59 回 日本心臓病学会総会 (招待講演) 2011/10/20 神戸国際会議場

⑤ **Hasebe N** The Mechanisms for the Progression of Hypertensive Heart Disease to Heart Failure. Japanese Heart Failure Society, 15th Annual Scientific Meeting (招待講演) 2011 10/13 Kagoshima

⑥ 長谷部直幸 シンポジウム : ARB と ACEI どちらが First Choice 第 33 回日本高血圧学会総会 2010/10/15 福岡

⑦ 長谷部直幸 シンポジウム : 配合薬時代の薬物療法の進め方 第 33 回日本高血圧学会総会 2010/10/15 福岡

[図書] (計 36 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

特許出願中 (1)

名称: Ape1 遺伝子導入による高機能化血管内皮前駆細胞

発明者: 長谷部直幸 他 3 名

権利者: 同上

種類: 特許出願

番号: 特願 2010-179605

出願年月日: 2010 年 8 月 10 日

国内外の別: 国際特許

特許出願中 (2)

名称: 末梢組織の毛細血管構成細胞の不死化細胞株

発明者: 長谷部直幸 他 3 名

権利者: 同上

種類: 特許出願

番号: 特願 2012-24854

出願年月日: 2012 年 2 月 8 日

国内外の別: 国際特許

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長谷部 直幸 (HASEBE NAOYUKI)

旭川医科大学・医学部・教授

研究者番号: 3 0 1 9 2 2 7 2

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし