

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月29日現在

機関番号：24303

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659423

研究課題名（和文）メタボリック症候群と心筋エネルギー代謝を横断する新メカニズムと治療応用

研究課題名（英文）A molecular link between metabolic syndrome and energy metabolism in the heart

研究代表者

松原 弘明 (Matsubara Hiroaki)

京都府立医科大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：10239072

研究成果の概要（和文）：

私達は血管内皮細胞に高い発現を示す新規遺伝子を世界に先駆けて発見し、ARIA と名付けて報告した。ARIA は PI3 キナーゼに拮抗する脱リン酸化酵素である PTEN と結合し、PTEN を細胞膜近辺に繋ぎ止めるアンカー蛋白として機能する。その結果、PTEN による細胞膜リン脂質の脱リン酸化が亢進し、PI3 キナーゼの作用が減弱する。本研究課題で、私達は ARIA が心筋細胞にも発現し、心筋細胞死を制御することを見出した。ARIA は心臓においても PI3 キナーゼ/Akt シグナルを調節しており、ARIA ノックアウトマウスでは、心筋細胞がアポトーシスに抵抗性となり、ストレス誘導生心筋障害を起こしにくいことを見出した。心臓特異的に PI3 キナーゼドミナントネガティブ体を過剰発現するトランスジェニックマウスでは ARIA 欠損による心保護作用が消失したことから ARIA は心臓における PI3 キナーゼ/Akt シグナルの調節を介して心筋細胞死を制御していることが明らかとなった。PI3 キナーゼ/Akt はインスリンの主要なシグナル伝達経路であり、また ARIA は脂肪血管新生の調節を介して肥満の進展に関わる可能性が高いことから ARIA はメタボリック症候群と心機能を繋ぐ新しいパスウェイを形成している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We have identified a novel gene, termed ARIA. ARIA is abundantly expressed in endothelial cells to regulate endothelial angiogenic functions. ARIA interacts with PTEN, a phosphatase that antagonizes PI3K signaling. Since ARIA is a membrane protein, interaction with ARIA leads to the increased membrane-association of PTEN. This increased membrane-association of PTEN causes enhanced inhibition of PI3K signaling that potently regulates cellular apoptosis. Here we found that ARIA is expressed in cardiomyocyte as well, and it regulates cardiac functions. ARIA regulates PI3K/Akt signaling in the heart, and loss of ARIA enhanced cardiac PI3K/Akt signals, leading to the resistance to cardiomyocyte apoptosis and to the stress-induced cardiomyopathy. As PI3K/Akt is a major signaling pathway for insulin, and ARIA potentially modulates the progression of obesity through a modification of adipose tissue angiogenesis, ARIA might

provide a novel link between metabolic syndrome and cardiac functions.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

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：分子心臓病態学

1. 研究開始当初の背景

私達は世界に先駆けて新規遺伝子 ARIA を発見した。ARIA は血管内皮細胞に高い発現を示し、PTEN と結合して PTEN の細胞膜局在を増強することで PI3K/Akt シグナルを調節し、その結果、血管新生を制御することを見出した。また私達は偶然、ARIA が脂肪組織に高い発現を示すことを見出した。さらに ARIA が脂肪血管新生を制御することで肥満の進展および肥満関連代謝異常の発症に関与している可能性を見出した。より最近、私達は ARIA が心臓に於いても多く発現していることを見出した。これら結果から ARIA はメタボリック症候群における心機能障害発症メカニズムに関わる新規分子である可能性が高いと考えられた。

2. 研究の目的

私達が世界に先駆けて発見した新規遺伝子 ARIA に注目して、メタボリック症候群と心機能障害を結ぶ分子メカニズムを解明し、治療応用へ繋げることが本研究課題の目的である。

3. 研究の方法

ARIA ノックアウトマウスおよび心筋細胞特

異的 ARIA トランスジェニックマウス、さらには心筋特異的 PI3 キナーゼドミナントネガティブトランスジェニックマウス/ARIA ノックアウトマウスを作成し、これらマウスの代謝能、心機能を検討した。通常条件下ではこれらマウスと野生型マウスの間に明らかな心機能の差を認めなかったため、ドキシソルビシンをマウスに負荷し、ストレス誘導性心筋症モデルを作成して心機能、心筋細胞死、心臓の線維化等を検討した。

4. 研究成果

まず私達は ARIA をほとんど発現していない H9c2 細胞を用いて、ARIA を恒常的に発現する安定細胞株を作成した。ARIA 発現により H9c2 細胞の PI3 キナーゼ/Akt シグナルは有意に減弱した。さらに H9c2 細胞にドキシソルビシンを負荷して心筋細胞死を誘導すると ARIA を発現する H9c2 細胞ではより多くの心筋アポトーシスが起ることがわかった。以上の結果から ARIA は心筋細胞において PI3 キナーゼ/Akt シグナルを負に制御し、心筋細胞死に対する感受性を高めていると考えられた。次に ARIA による心機能調節を解明するために野生型および全身型 ARIA ノックアウト (ARIA-KO) マウスにドキシソル

ビスシンを投与して心筋症モデルを作成した。野生型マウスでは DOX 投与により心筋細胞死・左室壁の菲薄化・心筋線維化が発症し、心収縮能は低下した。一方、ARIA-KO では心収縮能は有意に維持されており、心筋細胞死・左室壁の菲薄化・心筋線維化はいずれも軽減していた。心臓における PI3 キナーゼ/Akt シグナルを検討したところ、ARIA-KO マウスではドキシソルビスシン投与前から心臓での Akt 活性が亢進しており、ドキシソルビスシン負荷にて野生型マウス心臓における Akt 活性が低下するのに対して、ARIA-KO マウスでは Akt 活性が有意に維持されていた。これら ARIA-KO マウスで認められた表現型は PI3 キナーゼドミナントネガティブトランスジェニックマウス/ARIA ノックアウトマウスではほぼ完全に消失していたことから、やはり ARIA は心臓における PI3 キナーゼ/Akt シグナルの調節を介して心筋細胞死を制御していることが明らかとなった。

次に心臓特異的 ARIA 過剰発現マウス (aMHC-ARIA-Tg) にドキシソルビスシンを負荷したところノックアウトマウスと反対に、心臓の Akt 活性が低下し、ドキシソルビスシン負荷による心機能障害が野生型に比して増悪していた。これら結果から ARIA は心臓における PI3K/Akt シグナルを調節し、心機能を制御することが明らかとなった。

また ARIA 阻害剤の開発に関しては、まず ARIA の細胞内ドメインに存在する数塩基が PTEN との結合に必須であることを見出した。私達は PTEN のカルボキシル端は ARIA

との結合に必要なことを既に見出しており、これら情報から *in silico* で ARIA と PTEN の結合モデルを作成し、同モデルを利用して ARIA と PTEN の結合を阻害する低分子化合物の探索を行った。その結果、ARIA-PTEN 結合を阻害する可能性のある約 80 々のヒット化合物を得ることができた。今後はこれらヒット化合物が本当に ARIA と PTEN の結合を阻害するかを *in vitro* の系で検証し、得られた ARIA 阻害化合物を用いて、メタボリック症候群モデルや心不全モデルに対する薬効を評価していく予定である。

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松原 弘明 (Matsubara Hiroaki)

京都府立医科大学・医学研究科・教授

研究者番号：1 0 2 3 9 0 7 2

(2) 研究分担者

池田 宏二 (Ikeda Koji)

京都府立医科大学・医学研究科

研究者番号：9 0 4 2 3 8 7 1

(3) 連携研究者

()

研究者番号：