

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 29 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591031

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

研究課題名(英文) Suppression of Cardiovascular Remodeling by Base Excision Repair of Oxidative DNA Damage and Heat Shock Protein

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、酸化的DNA塩基損傷修復(base excision repair:BER)機構の活性修飾と熱ショック蛋白の相加的な心血管保護効果を利用して心血管リモデリングを制御する新規手法の確立をめざした。標的タンパクはApurinic/apyrimidinic Endonuclease 1(APE1)である。内皮前駆細胞(EPCs)の接着能はAPE1依存性に維持された。マウスのワイヤー血管障害モデルの新生内膜肥厚は、APE1過剰EPCsの導入により有意に抑制された。これらにより、APE1を介する血管リモデリング抑制が、動脈硬化性心血管病変の新たな治療法となる可能性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to establish a new strategy for control of cardiovascular remodeling through the base excision repair of oxidative DNA damage and heat shock protein. The main target protein was Apurinic/apyrimidinic Endonuclease 1 (APE1). The adhesion property of endothelial progenitor cells (EPCs) was maintained depending on APE1 activity. The neo-intimal formation in the wire-injured femoral arteries of mice, i.e. intima/media ratio was significantly suppressed by APE1. Heat shock protein 72 was expressed mainly in the media of APE1-applied wire-injured lesion, accompanied by suppression of chemokines and NADPH oxidase, suggesting the suppression of inflammation and oxidative stress. We proposed a potential new strategy of modifying APE1 mediated mechanism for the suppression of cardiovascular remodeling.

研究分野：循環器病学

キーワード：酸化ストレス 心血管リモデリング DNA塩基損傷 APE1 内皮前駆細胞

研究題目：酸化的DNA塩基損傷修復と熱ショック蛋白修飾による心血管リモデリング抑制の研究

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会で増加の一途を辿る動脈硬化性心血管疾患の制圧は喫緊の国民的課題であるが、現状の医療戦略には限界がある。動脈硬化性心血管疾患制圧に関わる新たな治療標的分子を見出し、新たな治療戦略を確立することが求められている。我々がこれまで検討を進めて来た酸化的 DNA 塩基損傷修復 (base excision repair :BER)機構の活性修飾と熱ショック蛋白 (Heat Shock Protein: HSP) の活性増幅を標的として、本研究を計画した。

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、酸化的 DNA 塩基損傷修復 (base excision repair :BER)機構の活性修飾と熱ショック蛋白 (Heat Shock Protein: HSP) の活性増幅を利用し、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。具体的には、BER 機構と HSP 系の活性化により相乗的な心血管保護効果を期待し得る可能性を想定し、新たな心血管リモデリング制御の手法として両者の適正な活性化法を確立することであり、そのために、培養血管平滑筋細胞 (in vitro)および心血管傷害モデルの障害局所 (in vivo)における細胞増殖と細胞死に対する酸化的 DNA 塩基損傷および BER 機構の変化と HSP 系活性化の効果を明らかにする。

3. 研究の方法

[1] 培養血管平滑筋細胞の増殖・細胞死抑制効果と酸化ストレスおよび DNA 損傷塩基除去修復 (BER) 機構と HSP の修飾効果の検討。

[2] 血管傷害モデルの血管病変に対する HSP の修飾効果とこれにおよぼす ROS 産生・BER 機構の活性変化の検討。マウス血管傷害モデルにおける、新生内膜形成、8-OHdG 産生、HSP 発現の経時的変化と酸化ストレス、BER 活性の効果を検討。傷害血管局所における HSP 発現・BER 機構の活性変化とアポトーシスの質的・量的関連性を検討。

[3] Apurinic/aprimidinic Endonuclease 1 (APE1) 導入アデノウイルスを内皮前駆細胞 (EPCs) に適用した APE1 過剰発現 EPCs の作成および APE1 特異的 SiRNA の作製により in vitro 環境での酸化ストレス亢進に対する APE1 の効果を検討。

[4] ワイヤー傷害血管に APE1 過剰発現 EPCs を適用することにより、傷害血管内膜肥厚に代表される血管リモデリングにおよぼす効果を検討。

4. 研究成果

酸化ストレス亢進 (過酸化水素添加) 下の培養血管平滑筋細胞の増殖は、BER 活性亢進によって抑制され、HSP72 の発現亢進はこれを相加的に抑制した。血管障害モデルの新生内膜肥厚は、酸化ストレス亢進状態で促進され

るが、HSP72 の発現亢進により NADPH oxidase 活性の抑制と炎症性単球マクロファージの浸潤抑制を介して抑制された。一方、酸化ストレス亢進状態 (H₂O₂; 100~1000M) で EPCs の viability は保たれるが接着能は濃度依存的に低下する現象が認められた。APE1 発現 EPCs では、この接着能が有意に維持されることから、血管リモデリングに対する有効性が示唆された。マウスのワイヤー傷害血管局所に、APE1 発現 EPCs を適用したところ、新生内膜肥厚は有意に抑制され、血管リモデリングは適正化された。以上より、APE1 および HSP 系を介する修飾が、血管リモデリング制御の新たな手段となる可能性を明らかにすることが出来た。

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]

2015年~2013年

Peer Review 論文のみ計 38 件 (以下新規順)

2015年分

- 1) Matsuki M, Hasebe N et al (10人中9番目), Ninjurin1 is a novel factor to regulate angiogenesis through the function of pericytes. *Circ J.* 2015;79:1363-71.
- 2) Sato N, Hasebe N et al (13人中13番目). The relationship between repolarization parameters and serum electrolyte levels in patients with J wave syndromes. *Magn Res.* 2015;28:1-13
- 3) Sakamoto N, Hasebe N et al (12人中12番目), Late Gadolinium Enhancement of Cardiac Magnetic Resonance Imaging Indicates Abnormalities of Time-Domain T-Wave Alternans in Hypertrophic Cardiomyopathy with Ventricular Tachycardia. *Heart Rhythm.* 2015, S1547-5271.
- 4) Ota H, Hasebe N et al (9人中9番目), Association between Microalbuminuria Predicting In-Stent Restenosis after Myocardial Infarction and Cellular Senescence of Endothelial Progenitor Cells. *PLoS One.* 2015;10:e0123733.
- 5) Sato N, Hasebe N et al (13人中13番目). Visit-to-visit variability and seasonal variation in blood pressure: Combination of Antihypertensive Therapy in the Elderly, Multicenter Investigation (CAMUI) Trial subanalysis. *Clin Exp Hypertens.* 2015 Apr;9:1-9.
- 6) Maruyama K, Hasebe N et al (10人中10

- 番目). Minimal change nephrotic syndrome associated with gefitinib and a successful switch to erlotinib. Intern Med. 2015;54:823-6.
- 7) Sakamoto N, Hasebe N et al (13 人中 13 番目), Late gadolinium enhancement on cardiac magnetic resonance represents the depolarizing and repolarizing electrically damaged foci causing malignant ventricular arrhythmia in hypertrophic cardiomyopathy. Heart Rhythm. 2015;12:1276-8411)
 - 8) Maruyama K, Hasebe N et al (6 中 6 番目), Hemocholecyst complicated in a hemodialysis patient with microscopic polyangiitis. Mod Rheumatol. 2015 Mar 12:1-4.
 - 9) MInami Y, Hasebe N et al (10 人中 9 番目), Prostaglandin I2 analog suppresses lung metastasis by recruiting pericytes in tumor angiogenesis. Int J Oncol. 2015;46:548-54
 - 10) Kiriya T. Hasebe N et al (7 人中 6 番目), Interpretative variability and its impact on the prognostic value of myocardial fatty acid imaging in asymptomatic hemodialysis patients in a multicenter trial in Japan. Circ J. 2015;79:153-60
- 2014 年分**
- 11) Noro T, Hasebe N et al (8 人中 8 番目), Initial reduction of oxidative stress by angiotensin receptor blocker contributes long term outcomes after percutaneous coronary intervention. Am J Cardiovasc Dis. 2014;4:159-67.
 - 12) Izawa K, Hasebe N et al (8 人中 8 番目), Impaired glutathione redox system paradoxically suppresses angiotensin II-induced vascular remodeling. PLoS One. 2014;9(10):e108115
 - 13) Kabara M, Hasebe N et al (12 中 12 番目), Immortalized multipotent pericytes derived from the vasa vasorum in the injured vasculature. A cellular tool for studies of vascular remodeling and regeneration. Lab Invest. 2014;94:1340-54.
 - 14) Talib AK, Sato N, Kawabata N, Hasebe N (12 人中 12 番目) Repolarization Characteristics In Early Repolarization And Brugada Syndromes: Insight Into An Overlapping Mechanism Of Lethal Arrhythmias. J Cardiovasc Electrophysiol. 2014 Oct 20. [Epub ahead of print]
 - 15) Kabara M, Kawabe JI, Matsuki M, Hasebe N (12 人中 12 番目) Immortalized multipotent pericytes derived from the vasa vasorum in the injured vasculature. A cellular tool for studies of vascular remodeling and regeneration. Lab Invest. 2014 Oct 20. [Epub ahead of print]
 - 16) Nakagawa N, Matsuki M, Yao N, Hasebe N. (7 人中 7 番目) Impact of Metabolic Disturbances and Malnutrition-Inflammation on 6-Year Mortality in Japanese Patients Undergoing Hemodialysis. Ther Apher Dial. 2014 Sep 4. [Epub ahead of print]
 - 17) Saito T, Katayama T, Sawada J, Hasebe N (8 人中 8 番目). Combination therapy for segmental craniocervical dystonia (Meige syndrome) with aripiprazole, trihexyphenidyl, and botulinum toxin: three cases reports. Neurol Sci. 2014 Aug 24. [Epub ahead of print]
 - 18) Sawada J, Orimoto R, Misu T, Hasebe N (14 人中 14 番目). A case of pathology-proven neuromyelitis optica spectrum disorder with Sjögren syndrome manifesting aphasia and apraxia due to a localized cerebral white matter lesion. Mult Scler. 2014; 20:1413-6.
 - 19) Kawabe J, Hasebe N. (2 人中 2 番目). Role of the vasa vasorum and vascular resident stem cells in atherosclerosis. Biomed Res Int. 2014. [Epub 2014 Mar 5]
 - 20) Shimamoto K, Ando K, Fujita T, Hasebe N (40 人中 4 番目) Japanese Society of Hypertension Committee for Guidelines for the Management of Hypertension. The Japanese Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension (JSH 2014). Hypertens Res. 2014; 37(4):253-387
 - 21) Saito T, Kawamura Y, Hasebe N et al . (10 人中 10 番目) Cerebral Microbleeds and Asymptomatic Cerebral Infarctions in Patients with Atrial Fibrillation. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2014 Mar 27 [Epub ahead of print]
 - 22) Maruyama K, Hasebe N et al . (7 人中 7 番目) Successful percutaneous transluminal angioplasty for the treatment of renovascular hypertension with an atrophic kidney. Heart Vessels. 2014 Jan 3. [Epub ahead of print]
 - 23) Asanome A, Hasebe N et al. (11 人中 11 番目) Nerve growth factor stimulates regeneration of perivascular nerve, and induces the maturation of microvessels around the injured artery. Biochem Biophys Res Commun. 2014; 443(1):150-5.
 - 24) Shimamoto K, Hasebe N, et al. (11 人

中 2 番目) Nifedipine controlled-release 40 mg b.i.d. in Japanese patients with essential hypertension who responded insufficiently to nifedipine controlled-release 40 mg q.d.: a phase III, randomized, double-blind and parallel-group study. *Hypertens Res.* 2014; 37: 69-75.

2013 年分

- 25) Sakamoto N, Hasebe N et al. (15 人中 15 番目) Three cases of corticosteroid therapy triggering ventricular fibrillation in J-wave syndromes. *Heart Vessels.* 2013 Nov 27. [Epub ahead of print]
- 26) Fujino T, Hasebe N et al. (4 人中 4 番目) Silencing of p53 RNA through transarterial delivery ameliorates renal tubular injury and downregulates GSK-3 β expression after ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2013; 305(11): F1617-27.
- 27) Muhib S, Hasebe N et al. (4 人中 4 番目) Epicardial adipose tissue is associated with prevalent atrial fibrillation in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Int Heart J.* 2013; 54(5): 297-303.
- 28) Kuroda H, Hasebe N et al. (6 人中 6 番目) Relationship between cytokine single nucleotide polymorphisms and sarcoidosis among Japanese subjects. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.* 2013; 30: 36-42.
- 29) Yamauchi A, Hasebe N et al. (10 人中 10 番目) Apurinic/aprimidinic endonuclease 1 maintains adhesion of endothelial progenitor cells and reduces neointima formation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013; 305(8): H1158-67.
- 30) Saito T, Hasebe N et al. (5 人中 5 番目) A case of diffuse large B-cell lymphoma with localized femoral nerve palsy. *Neurol Sci.* 2014; 35(1): 103-4.
- 31) Ota H, Hasebe N et al. (4 人中 4 番目) Dipstick proteinuria as a surrogate marker of long-term mortality after acute myocardial infarction. *J Cardiol.* 2013; 62(5): 277-82.
- 32) Sato N, Hasebe N et al (13 人中 13 番目); CAMUI investigators. Combination of antihypertensive therapy in the elderly, multicenter investigation (CAMUI) trial: results after 1 year. *J Hypertens.* 2013; 31(6): 1245-55.
- 33) Talib AK, Hasebe N et al. (13 人中 13 番目) Impaired ventricular

repolarization dynamics in patients with early repolarization syndrome. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2013; 24(5): 556-61.

- 34) Katayama T, Hasebe N. (2 人中 2 番目) Angiotensin-receptor blockers, hypertension and Alzheimer disease--the entangled relationship. *Circ J.* 2013; 77(2): 315-6.
- 35) 22) Aburakawa Y, Hasebe N et al. (15 人中 15 番目) Prostacyclin stimulated integrin-dependent angiogenic effects of endothelial progenitor cells and mediated potent circulation recovery in ischemic hind limb model. *Circ J.* 2013; 77(4): 1053-62.
- 36) Moroi M, Hasebe N et al. (17 人中 16 番目) Association between abnormal myocardial fatty acid metabolism and cardiac-derived death among patients undergoing hemodialysis: results from a cohort study in Japan. *Am J Kidney Dis.* 2013; 61(3): 466-75.
- 37) Saito T, Hasebe N et al. (5 人中 5 番目) A case of midbrain infarction causing ipsilateral mydriasis, contralateral superior rectus palsy, and bilateral ptosis. *Neurol Sci.* 2013; 34: 1683-4.
- 38) Kabara M, Hasebe N et al. (6 人中 6 番目) Mizoribine for crescentic glomerulonephritis with sarcoidosis: effectiveness not only for urinalysis abnormalities but also for hilar lymph node enlargement. *Mod Rheumatol.* 2013; 23(1): 146-50.

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: 30192272