

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24657127

研究課題名(和文)力刺激が心臓のエネルギー代謝基盤を支えるメカニズム

研究課題名(英文)Mechanical control of energy metabolism in cardiomyocytes

研究代表者

小椋 利彦(Ogura, Toshihiko)

東北大学・加齢医学研究所・教授

研究者番号：60273851

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：心臓は変動する脈拍、血圧に対応しながら循環の恒常性を維持している。血圧が上昇すれば、血流を維持するために必要なエネルギー量も増大するが、いかにして必要ATP量を賄うのか、その分子メカニズムは不明であった。今回の研究では、血圧上昇、頻脈によって心筋細胞への力刺激が増大すると、細胞質(細胞骨格)から核内に移行する因子を見いだした。この因子は、心筋の脂質代謝を制御する核内受容体を活性化し、脂質を燃焼させてATP産生を促すことがわかった。本研究結果から、心不全末期の心筋エネルギー代謝を改善する方法など、循環器病態改善のための糸口が見いだせた。

研究成果の概要(英文)：Beating heart maintains constant circulation by responding to hemodynamics changes, such as altering blood pressure and heart rate. To adapt to high blood pressure, for example, cardiomyocytes must produce more ATP to contract even under the high mechanical overload. To explore a functional link between mechanical stimuli and energetic compensation, we searched for factors that respond to mechanical forces, and found a transcriptional co-activator that shuttles from cytoplasm to nucleus in response to physical force. This co-activator robustly activates nuclear receptors that regulate lipid metabolism in beating cardiomyocytes. As a result, this co-activator increases ATP production by enhancing oxidative phosphorylation (OxPhos) in mitochondria. Our finding provides an essential and novel insight on the energetic adaptation mechanism, in which drug targets can be found for therapy of heart diseases, such as heart failure.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：細胞力覚 エネルギー代謝

1. 研究開始当初の背景

心臓は変動する脈拍、血圧に対応しながら循環の恒常性を維持している。このためには、心拍を維持するために十分な ATP が産生され続けなければならない。心拍に使われる ATP 量はきわめて多く、ATP 産生基盤のエネルギー代謝が破綻すれば、心不全、死を意味する。従って、心臓は循環動態に呼応してエネルギー代謝を制御しなければならない。しかし、このメカニズムは全く解明されていない。申請者は、心筋に対する力学負荷に反応してエネルギー代謝を制御する因子を発見したので、本研究でその分子メカニズムを解明する。このような因子は、心不全、心筋症などの治療薬の創薬ターゲットとなることも考えられることから、医学的な応用を視野に入れた研究を展開する。

2. 研究の目的

正常でも血圧は 1 日に 30~50mmHg 程度変動し、脈拍も大きく変化する。また、高血圧は心臓への慢性的圧負荷となる。すなわち、高い圧力に抗って血流を維持するためには、心拍に多大のエネルギー (ATP) を消費することになるが、心臓の ATP の枯渇は、生命にとって大きな危機である。だから、心臓への力学負荷に耐えて循環を維持するために、心筋細胞内で拍動維持のためのエネルギー産生 (ATP) を増加させることが必要となる。

正常血圧でも心臓は一拍で 0.738 ジュール/kg 体重のエネルギーを消費し、60kg の人は一拍あたり 1mmol 以上の ATP を使う。そして、このエネルギー代謝の破綻は心不全などの病態へと直結し、また、心不全末期には心筋内の ATP は枯渇寸前になる。しかし、循環の力学刺激からエネルギー代謝に結びつくシグナル経路は、ほとんど解明されていない。加えて、胎児心臓は糖から ATP を産生するが、成体の心臓は主に脂肪から ATP を作る。興味深いことに、心不全が進行するとエネルギー源を脂肪から糖に変わる。燃焼しきれない脂肪成分は心筋組織に沈着し、Fatty heart と呼ばれる状態を作るが、これは心不全の危機的所見と言われている。このエネルギー代謝のスイッチ機構も謎のままである。

このように、循環の恒常性は、エネルギー代謝の観点から考えることも重要であるが、ATP 産生制御のメカニズムは未踏の領域となっている。そして、このメカニズムを解明することは、例えば、不全心のエネルギー産生を糖から効率の良い脂肪に変換させることで、循環不全を改善させる治療法につながる事が期待できる。

本研究では、左室への圧負荷によって細胞質から核に移行する転写因子 MKL2 を見いだした。この因子と心筋のエネルギー代謝の

関係を詳細に解析し、新しいシグナル伝達の分子機構を明らかにする。加えて、心不全の治療に結びつくような創薬ターゲットの発展を目指す。

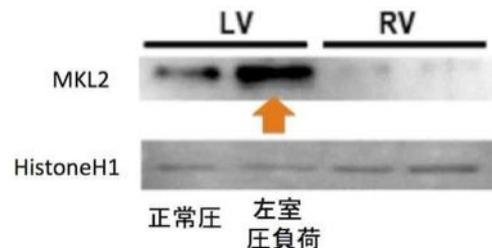
3. 研究の方法

申請者が見いだした力学刺激応答性の MKL2 経路を構成する分子を詳細に解析し、MKL2 KO マウスをモデルに、メタボライト解析 (とくに、糖代謝、脂肪代謝) 遺伝子発現解析、プロテオミクス解析 (MKL2 転写制御複合体を構成する分子の同定) を併用して研究を展開する。また、この解析を骨格筋にも拡大し、Exercise pill のための創薬ターゲット検索を進める。さらに、MKL2 と相互作用し得る新規遺伝子の同定、力学刺激反応因子の新たな発見を目指し、心拍、血圧、血流、運動に起因する力学刺激の受容系と反応系を代謝制御の観点から進める。

4. 研究成果

(1) MKL2-PPAR/ERR/PGC1a 経路の解析

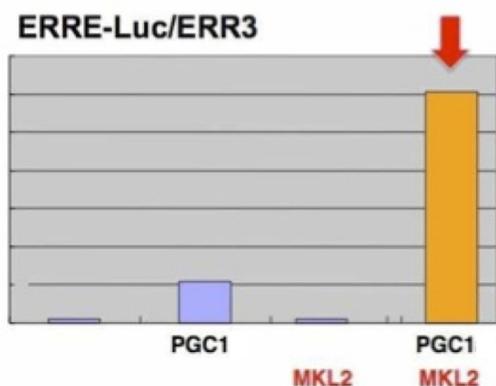
我々が見いだした転写活性化因子 MKL2 は、心筋細胞で機械的刺激 (とくに圧負荷による心筋細胞への伸展刺激) に反応して細胞質から核内にシャトルする (図)。例えば、



マウス大動脈を結紮して左心室に圧負荷をかけると核内の MKL2 が増加し、核内への移行が確認できる。このシャトル現象は、培養心筋細胞での伸展でも確認されている。従って、MKL2 は圧負荷と遺伝子発現を結びつける因子であると考えられる。この新しい性質に加え、MKL2 が T-box 転写因子 Tbx5 や ERR (Estrogen-related receptor)/PPAR (Peroxisome proliferator-activator receptor) を活性化することを見いだした。活性化された ERR/PPAR は、ミトコンドリアを増やし、酸化リン酸化を促進して脂肪酸を燃焼して ATP 産生を促すが、力学刺激で核内に移行して ERR/PPAR を活性化する MKL2 は、循環動態の変化にエネルギー代謝の側面で大きく寄与することが理解できる。この知見は、脂肪の代謝不全を伴う心不全末期の心臓のエネルギー代謝を改善する薬剤開発を行う糸口になる。また、MKL2 は骨格筋でも同様の動きがあるが、これは、MKL2 を標的として、運動が起こす生理反応を mimic する exercise pill を見いだす端緒ともなる。

(2) MKL2-PPAR/ERR 経路の解析

PPAR、ERR による転写活性化に関して、PGC1a が関与していることが報告されているが、MKL2 との synergistic な活性化作用が有るかどうか、検討した(図)。その結果、



興味深いことに、PGC1a は効果がなく、PGC1b が synergistic は転写活性化を起こすことがわかった。PGC1a、PGC1b の2つについて、これまで機能的な差は無いと考えられて来たが、今回の我々の知見は、全く異なる。むしろ、PGC1a、PGC1b の機能的な差異が、心筋の力学刺激刺激への応答と、通常のエネルギー代謝の調節機構の差を生み出していると考えられる。この発見は、本研究で新たに見いだされた新知見であり、重要な発見のひとつである。

(3) MKL2 の新たな相互作用転写因子の同定

MKL2 と相互作用する因子として、Arid1a、Arid2 を同定した。これらの因子は、ARID domain を持つクロマチンリモデリング因子で、Swi/Snf 複合体の構成因子である。残念ながら、この2つの因子が ERR/PPAR のシグナル経路に関与するかどうかは、解明できなかったが、Tbx5/MKL2 による転写調節を性に制御することがわかった。これら2つの因子のうち、MKL2 との相互作用が強い Arid2 遺伝子について、マウスでノックアウトを行うことを決定し、その作製に着手した。

(4) 新たな力刺激感受性因子の発見

新たな力刺激感受性因子として Filamin/CBFb を同定した。Filamin C 遺伝子について、ノックアウトマウスの作製を試みたが、ES細胞の品質に問題があるらしく、ヘテロマウスを得ることができなかった。Filamin C は心臓での発現が強いため、その表現型に興味を持たれることから、KO マウス作製を継続することとした。

また、microarray 解析を行って力刺激に誘導される遺伝子を網羅的に解析した結果、miR-21 を再同定した。幸いなことに、miR-21 KO マウスの作製が別プロジェクトで終了しており、このマウスについて、心臓に異常があるかどうか、特に力刺激との関連に視点を置いて解析した。しかし、残念ながら、

miR-21 KO マウスの心臓に異常は認められなかった。そのかわり、このマウスでは、皮膚の創傷治癒が速やかに、しかも瘢痕を形成せずに進行することがわかり、興味深い発見となった。

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 4 件)

Gain-of-Function Mutations in RIT1 Cause Noonan Syndrome, a RAS/MAPK Pathway Syndrome. Y. Aoki, T. Niihori, T. Banjo, N. Okamoto, S. Mizuno, K. Kurosawa, T. Ogata, F. Takada, M. Yano, T. Ando, T. Hoshika, C. Barnett, H. Ohashi, H. Kawame, T. Hasegawa, T. Okutani, T. Nagashima, S. Hasegawa, R. Funayama, T. Nagashima, K. Nakayama, S. Inoue, Y. Watanabe, T. Ogura, Y. Matsubara, *The American Journal of Human Genetics*, 93, 173-180, 2013. (査読有り)

Haemodynamically dependent valvulogenesis of zebrafish heart is mediated by flow-dependent expression of miR-21. T. Banjo, J. Grajcarek, D. Yoshino, H. Osada, K. Y. Miyasaka, Y. S. Kida, Y. Ueki, K. Nagayama, K. Kawakami, T. Matsumoto, M. Sato, T. Ogura. *Nature Communications*, 4, Article number 1978, 2013 (doi:10.1038/ncomms2978). (査読有り)

Fibroblast growth factor 10 gene regulation in the second heart field by Tbx1, Nkx2-5, and Islet1 reveals a genetic switch for down-regulation in the myocardium. Y. Watanabe, S. Zaffran, A. Kuroiwa, H. Higuchi, T. Ogura, R. P. Harvey, R. G. Kelly, M. Buckingham. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 109, 18273-18280, 2012 (査読有り)

Roles of planar cell polarity signaling in maturation of neuronal precursor cells in the postnatal mouse olfactory bulb. Y. Hirota, M. Sawada, Y. S. Kida, S. Huang, O. Yamada, M. Sakaguchi, T. Ogura, H. Okano, K. Sawamoto. *Stem Cells* 30, 1726-1733, 2012 (査読有り)

[学会発表](計 5 件)

東京工業大学生体システム専攻バイオサイエンスシンポジウム招待講演、2014年2月18日 東京 生命現象を力学的に再解釈する、そして、生命現象を再構築する。小椋利彦

生物物理学会東北支部 招待講演、2013年
12月13日 仙台 生命現象を力を視点に
再解釈するために 小椋利彦

研究者番号：

日本人類遺伝学会大第8回大会特別講演
(招待講演)2013年11月21日 仙台 細胞は力をどのように感知し、そのように反応するか 小椋利彦

第19回創発システムシンポジウム(創発
夏の学校2013)2012年8月31日~9月2
日 大阪 生命現象を力を視点に再解釈
する 小椋利彦

第8回研究所ネットワーク国際シンポジウム
2013年6月27日 京都 Physical
forces as a regulator of morphogenesis
and homeostasis. 小椋利彦

〔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

小椋 利彦 (TOSHIHIKO OGURA)
東北大学・加齢医学研究所・教授
研究者番号：60273851

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()