

自己評価報告書

平成23年4月2日現在

機関番号：10101
研究種目：新学術領域研究
研究期間：2008～2012
課題番号：20117004
研究課題名（和文）心血管ストレス応答におけるミトコンドリア活性酸素シグナル制御
研究課題名（英文）Regulation of mitochondrial ROS signaling in the cardiovascular stress response
研究代表者
筒井 裕之（TSUTSUI HIROYUKI）
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：70264017

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：ミトコンドリア、酸化ストレス、活性酸素、心血管病、ストレス応答

1. 研究計画の概要

ミトコンドリアの生体維持機能は、ミトコンドリア DNA (mtDNA) によって動的に制御されている。近年、mtDNA の酸化損傷およびそれに起因する活性酸素の過剰産生が、ガン、糖尿病、神経変性疾患など種々の疾病の発症に関与することがあきらかにされ、『疾病発症の共通基盤としてのミトコンドリア機能不全』が注目されている。mtDNA およびミトコンドリア機能を制御する「Key molecule」は、ミトコンドリア転写因子 (mitochondrial transcription factor; TFAM) やその上流に存在しミトコンドリア転写因子コアクチベーターである PPAR- γ coactivator -1 (PGC-1)を含む『ミトコンドリア転写因子ファミリー』である。

本研究は、心血管ストレス応答におけるミトコンドリア転写因子ファミリータンパクの発現を制御する分子基盤を解明するとともに、心血管病の形成・進展におけるミトコンドリア活性酸素シグナル制御の役割をあきらかにし、ミトコンドリア転写因子の機能制御という新たなパラダイムに基づく心血管病の治療法の開発を目指すものである。

2. 研究の進捗状況

現在まで以下のような研究成果が得られた。

(1) ミトコンドリア転写因子による mtDNA の制御機構

TFAM は mtDNA 合成には影響せず、タンパクと結合しヌクレオイドを形成して mtDNA を安定化させた。一方、ミトコンドリアヘリカーゼである Twinkle は mtDNA の複製を亢進させ TFAM 同様ヌクレオイドを形成することが明らかとなった。さらにこれらは相加的に mtDNA 複製を亢進させ、ヌクレオイドの形成

を増加することを見出した。したがって、ヌクレオイドの形成は、mtDNA の複製・転写・翻訳を制御することにより mtDNA の維持に重要な役割を果たしていると考えられた。

(2) ミトコンドリア転写因子制御による心血管細胞保護：培養細胞を用いた in vitro 実験

HeLa 細胞および培養心筋細胞にミトコンドリア電子伝達系複合体 I の阻害薬であるロテノンを用いてミトコンドリアのエレクトロンリークを増加させるとスーパーオキシドが産生された。さらに、TFAM を過剰発現させるとこのスーパーオキシド産生は有意に抑制された。さらに、TFAM によってストレスによる細胞障害が抑制された。

(3) ミトコンドリア転写因子活性化による心血管細胞保護：モデル動物を用いた in vivo 実験

TFAM 遺伝子過剰発現は、心筋梗塞後心不全モデルにおいて in vivo ESR で測定した心筋酸化ストレスを抑制するとともに、心筋リモデリング・心不全を改善した。

高脂肪食投与は、心筋のみならず骨格筋においても NAD(P)H oxidase の活性化を引き起こし、活性酸素はミトコンドリア電子伝達系複合体の酵素活性の低下、ミトコンドリア呼吸能の障害とともに運動能力の低下を引き起こした。さらに、磁気共鳴スペクトロスコピー (MRS) を用いて、このようなミトコンドリア機能障害がメタボリックシンドローム患者骨格筋においてもみとめられることを見出した。

3. 現在までの達成度

本研究課題の当初研究目的の達成度は、「② おおむね順調に進展している」と自己評価して

いる。現在まで研究は順調に進展しており、ミトコンドリア活性酸素が、心血管系に対するストレス応答として幅広い病態の形成・進展に関与していることをあきらかにしてきた。実際に、本研究の研究成果は、学会・論文等で既に多数公表しており高い評価を受けている。

4. 今後の研究の推進方策

当初の研究計画に基づいて以下のように研究を推進し、ミトコンドリア活性酸素シグナル制御の分子基盤の解明とそれに基づく新たな治療法の開発を目指して研究をさらに発展させていく。

(1)ミトコンドリア転写因子制御による心血管細胞保護

培養平滑筋および心筋細胞にミトコンドリア転写因子を導入し、ストレスによる細胞障害に対しミトコンドリア転写因子の発現や活性化が保護的に作用するかどうか検討する。

さらに遺伝子改変マウスを用いてミトコンドリア転写因子によるミトコンドリア DNA およびミトコンドリア機能制御の分子機序を *in vivo* でも明らかにする。

(2)SIRT1/PGC-1 経路を介するミトコンドリア転写因子活性化の機能的役割

ミトコンドリア転写因子ネットワーク経路を活性化することによってミトコンドリア機能を維持し、心筋保護作用を発揮することが可能かどうか検討する。

(3)ミトコンドリア転写因子活性化による新たな心血管病治療法の開発

ミトコンドリア活性酸素シグナル制御の分子基盤の解明という基礎的研究の推進はもちろんであるが、それに基づく新たな心血管病の治療法の開発を目指した研究へとさらに発展させることを目指していく。特に、動脈硬化などの血管障害から心筋梗塞・心不全などの心筋障害を含む幅広い心血管疾患をターゲットとして研究を展開する。また、本領域内の主として基礎領域の研究者グループとも有機的に連携して共同研究に取り組んでいく。

5. 代表的な研究成果

(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 32 件)

1. Ohta Y, Kinugawa S, Tsutsui H, et al (9 人中 2 番目と 9 番目): Oxidative stress impairs insulin signal in skeletal muscle and causes insulin resistance in post-infarct heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* (in press) 査読有
2. Ylikallio E, Tsutsui H, et al (5 人中 4 番目): High mitochondrial DNA copy number has

detrimental effects in mice. *Hum Mol Genet* 19(13): 2695-2705, 2010 査読有

3. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S: Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in myocardial remodeling. *Cardiovasc Res* 81(3): 449-456, 2009 査読有
4. Ohmura K, Tsutsui H et al (11 人中 11 番目): Natural killer T cells are involved in adipose tissues inflammation and glucose intolerance in diet-Induced obese mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 30(2): 193-199, 2010 査読有
5. Yokota T, Kinugawa S, Tsutsui H et al (15 人中 2 番目と 5 番目): Oxidative stress in skeletal muscle impairs mitochondrial respiration and limits exercise capacity in type 2 diabetic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297(3): 1069-1077, 2009 査読有

[学会発表] (計 70 件)

1. Tsutsui H: The medical treatment of myocardial dysfunction: ESC2010, 2010 年 8 月 29 日, Stockholm
2. Tsutsui H: Mitochondrial oxidative stress in cardiac remodeling and failure: CSDS, 2010 年 9 月 24 日, 福岡
3. Tsutsui H: Insulin resistance in heart failure: A new therapeutic target. AHA Scientific Sessions 2009, 2009 年 11 月 17 日, Orlando
4. 筒井裕之: 心血管病におけるミトコンドリア酸化ストレスの役割 第 82 回日本薬理学会年会, 2009 年 3 月 16 日, 横浜
5. 筒井裕之: 心血管病におけるミトコンドリア酸化ストレスの役割 第 61 回日本酸化ストレス学会学術集会, 2008 年 6 月 19 日, 京都

[図書] (計 8 件)

1. 絹川真太郎, 筒井裕之: 心不全とストレス応答 井上信孝編: 循環器ストレス学, p265-272, 南山堂, 東京, 2010 年
2. 横田卓, 筒井裕之: ミトコンドリア(エネルギーの産生) 北風政史編: 診療に活かす心機能評価, p26-29, 羊土社, 東京, 2010 年
3. 井手友美, 筒井裕之: ミトコンドリア活性酸素生成とシグナル制御 赤池孝章, 鈴木敬一郎, 内田浩二編: 活性酸素シグナルと酸化ストレス, p38-42, 羊土社, 東京, 2009 年
4. 絹川真太郎, 筒井裕之: 酸化ストレス 熊谷裕生, 小室一成, 堀内正嗣, 森下竜一編: 高血圧ナビゲーター(第 2 版), p146-147, メディカルレビュー社, 東京, 2008 年
5. 絹川真太郎, 筒井裕之: 心疾患と酸化ストレス 内藤裕二, 豊國伸哉編: 酸化ストレスの医学, p230-239, 診断と治療社, 東京, 2008 年