

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15852

研究課題名(和文)新規サーチュイン、Sirt7の動脈硬化進展に果たす役割と分子機序の解明

研究課題名(英文)The Role of Sirt7 in Atherosclerosis Development and Molecular Mechanisms

研究代表者

木村 優一(KIMURA, YUICHI)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特定研究員

研究者番号：70802073

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):我々はこれまで、長寿遺伝子サーチュインのひとつ、Sirt7の心血管疾患における役割に着目して研究を行ってきた。

本研究では、血管障害後の新生内膜形成におけるSirt7の役割について検討した。まず、野生型マウスと比較してSirt7ノックアウトマウスでは、ワイヤー障害後の内膜増生が抑制されていた。血管平滑筋細胞を用いたin vitroでの検討から、Sirt7がマイクロRNAを介して細胞周期関連蛋白の発現を制御し、細胞機能を制御している可能性を見出した。

以上の結果から、Sirt7が血管新生内膜の形成に大きく関与していること、今後血管疾患に対する新たな治療選択肢となりうることを示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「ヒトは血管とともに老いる」という言葉の通り、加齢に伴う心血管病の進展は社会問題となっている。長寿遺伝子サーチュインは重要な治療ターゲットとなっているが、その中でもSirt7の機能解析はこの10年で飛躍的な進歩を遂げている。

本研究において、Sirt7ノックアウトマウスでは、血管障害後の内膜増生が抑制されること、その分子機序として血管平滑筋細胞内のSirt7がマイクロRNAの発現制御を介して細胞増殖を制御している可能性を見出した。

今後、Sirt7が加齢に伴う血管疾患に対する新たな治療選択肢となりうることを期待される。

研究成果の概要(英文):Our previous studies have focused on the role of Sirt7, a longevity-related gene, in cardiovascular disease. In this study, we examined the role of Sirt7 in neointimal formation after vascular wire injury. Sirt7 deficient mice showed significant reduction in neointimal area compared to WT mice. From our examination using vascular smooth muscle cells (VSMCs), Sirt7-deficient VSMCs showed lower levels of cell proliferation capacity, which was possibly due to micro RNA-dependent reduced cell cycle-related protein expression.

These results suggest that Sirt7 is involved in the development of neointimal formation after vascular injury and be a potentially suitable target for treatment of vascular diseases.

研究分野：循環器内科学

キーワード：Sirtuin 7 血管病 新生内膜 血管平滑筋細胞 細胞周期

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦において、過去に類を見ない速度で高齢化が進行している。加齢に伴う血管病の進展は、脳卒中や虚血性心疾患の発症基盤となり、高齢者の QOL を著しく低下させる。生活習慣の改善やスタチンを始めとした現行の薬物療法のみでは不十分であり、残余リスクへの更なる介入が必要である。

Sirt2 遺伝子は酵母や線虫の寿命を延ばす遺伝子として発見され、いわゆる「長寿遺伝子」として知られる。哺乳類では、7 種類のホモログ (Sirt1-7) が報告されており、サーチュインファミリーと呼ばれる。サーチュインは寿命延長効果のみならず炎症や代謝、発癌など多面的に作用するが、最も新しく同定された Sirt7 においては、生体内での役割が長らく不明であった。2008 年に我々の共同研究者である Bober らにより、世界初の Sirt7 ノックアウトマウスが作成され、Sirt7 ノックアウトマウスでは野生型マウスと比較してライフスパンが短縮すること、その一因として p53 のアセチル化による筋細胞のアポトーシス増加が関与することが報告された (Circulation Research 2008)。

我々はこれまで、Sirt7 が心筋梗塞後の創傷治癒において必須の分子であること (Araki et al. Circulation. 2015) さらに Sirt7 が GATA4 の脱アセチル化を介して圧負荷による心肥大を抑制すること (Yamamura et al. Hypertension. 2019) を報告した。しかし、血管病の進展における Sirt7 の役割はこれまで明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

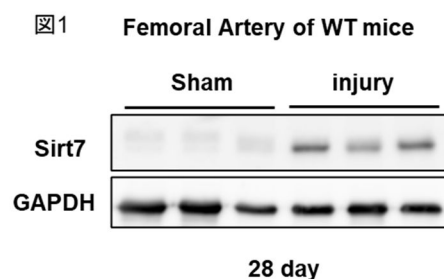
本研究では Sirt7 の血管病の進展における役割を明らかにするため、Sirt7 ノックアウトマウスを用いてワイヤー血管障害モデルを作成し、野生型マウスと組織学的に比較検討を行う。また、Sirt7 ノックアウトマウス由来の初代培養血管平滑筋細胞を用いた in vitro での検討を行い、Sirt7 による細胞機能の制御機構を明らかにする。

3. 研究の方法

1) ワイヤー血管障害モデルでの検討

野生型マウスを用いた予備検討にて我々は、ワイヤー血管障害を行った血管では Sirt7 の発現が著しく増加する知見を得ており (図 1) Sirt7 が血管障害後の新生内膜の増生に関与する可能性を見出していた。

今回、我々は野生型マウスおよび Sirt7 ノックアウトマウスの大腿動脈に対してワイヤー血管障害を行い、増生する新生内膜の volume、組織学的特徴を比較検討する。



2) 初代培養血管平滑筋培養細胞を用いた検討

新生内膜の増生に中心的な役割を果たす血管平滑筋細胞を用いて Sirt7 の役割、分子メカニズムを明らかにする。

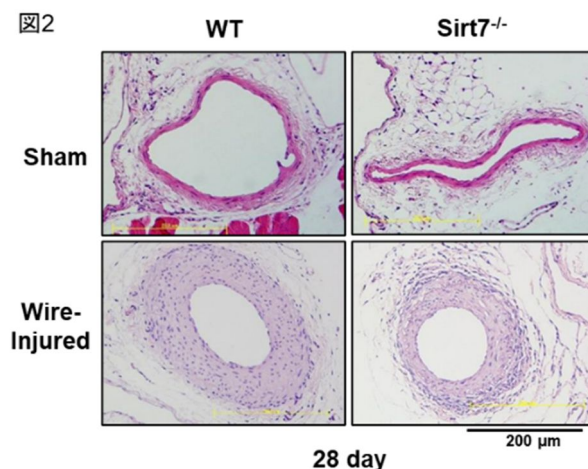
3) 平滑筋細胞特異的 Sirt7 ノックアウトマウスを用いた血管障害モデルでの検討

In vivo での血管平滑筋細胞での Sirt7 の役割を検討するため、平滑筋細胞特異的 Sirt7 ノックアウトマウス (SM22-Cre x Sirt7^{fllox/fllox} mice) を作成する。平滑筋細胞特異的 Sirt7 ノックアウトマウスおよび control マウスに対してワイヤー血管障害を行い、組織学的な比較検討を行う。

4. 研究成果

1) 血管障害モデルでの検討

障害血管において増加する Sirt7 の役割を解明するため、Sirt7 ノックアウトマウスを用いてワイヤー血管障害モデルを作成した。ワイヤー血管障害 28 日後に HE 染色で組織学的に検討を行った結果、Sirt7 ノックアウトマウスでは野生型マウスと比較して新生内膜の増生が有意に抑制されていた (図 2)。次に、新生内膜の形成に中心的役割を果たす血管平滑筋細胞に着目し、障害血管で -SMA 染色を行った。その結果、Sirt7 ノックアウトマウスの新生内膜では野生型マウスと比較して -SMA 陽性領域が有意に減少していた。さらに、ワイヤー血管障害 14 日後に BrdU 染色を行うと、Sirt7 ノックアウトマウスでは野生型マウスと比較して新生内膜での



BrdU 陽性率が有意に低下しており、Sirt7 が血管平滑筋細胞の細胞増殖を制御し、血管障害後の新生内膜の増生に参与している可能性が考えられた。

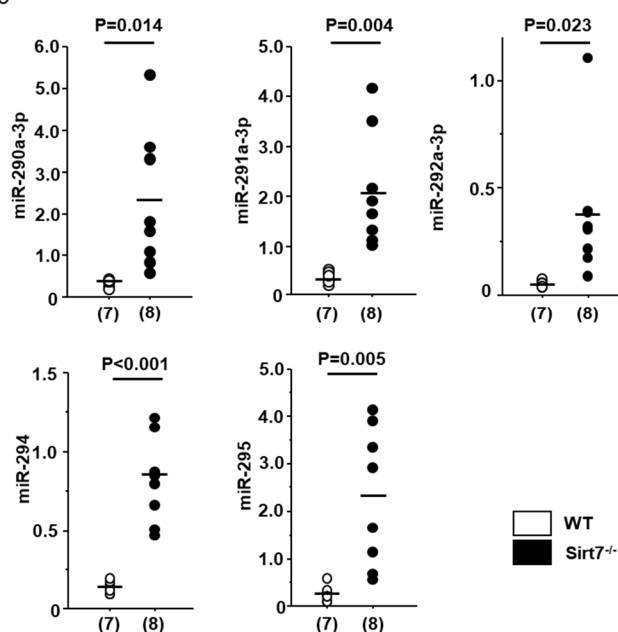
2) 血管平滑筋細胞を用いた Sirt7 の役割の検討

Sirt7 ノックアウトマウスでの実験結果から、Sirt7 ノックアウトマウス由来の初代培養血管平滑筋細胞 (VSMCs) を用いた In vitro での検討を行った。まず Sirt7 ノックアウトマウス由来の VSMCs では、野生型マウス由来の VSMCs と比較して血清刺激による細胞増殖が抑制され、種々の Cyclin や CDK (cyclin-dependent-kinase) から細胞周期関連蛋白の発現が有意に低下していることがわかった。

CDK2 は細胞周期制御の中心因子であるが、Sirt7 ノックアウトマウス由来 VSMCs では、CDK2 蛋白の発現が著しく低下していた一方、CDK2 の発現を負に制御する miRNA (マイクロ RNA) 290-295 の遺伝子発現量が有意に増加していた (図 3)。

以上の結果から、Sirt7 がマイクロ RNA を介して CDK2 から細胞周期関連蛋白の発現を制御し、血管平滑筋細胞の細胞機能を調節している可能性が示唆された。

図3

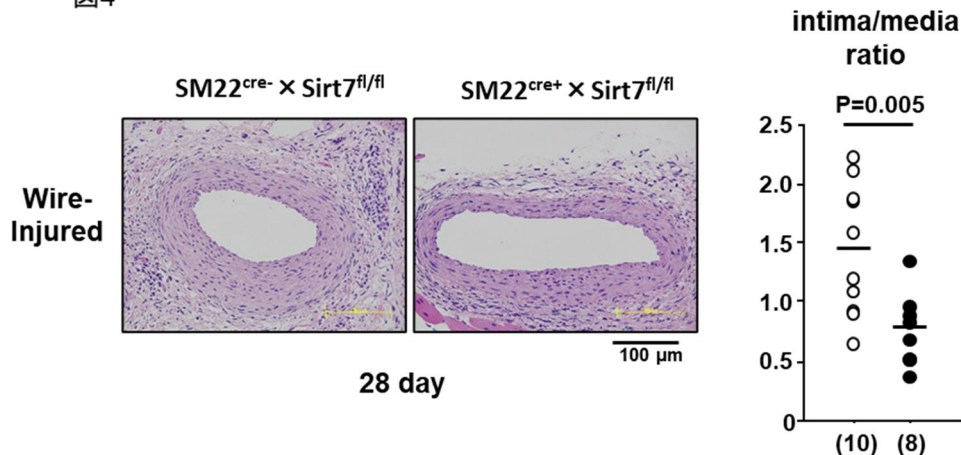


3) 平滑筋細胞特異的 Sirt7 ノックアウトマウスを用いた血管障害モデルでの検討

血管平滑筋細胞での Sirt7 の役割を In vivo で検討するため、平滑筋細胞特異的 Sirt7 ノックアウトマウスを作成した。平滑筋細胞特異的 Sirt7 ノックアウトマウスでは、control マウスと比較してワイヤー血管障害 28 日後の新生内膜の増生が有意に抑制されており、血管平滑筋細胞での Sirt7 の発現が血管障害後の新生内膜の増生に参与していることが明らかになった。

以上の結果から、Sirt7 が血管新生内膜の形成に大きく参与していること、今後血管疾患に対する新たな治療選択肢となりうることが示唆された。

図4



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yuichi Kimura	4. 巻 85
2. 論文標題 Sirt7 Deficiency Attenuates Neointimal Formation Following Vascular Injury by Modulating Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 2232-2240
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 木村 優一
2. 発表標題 Sirt7 Deficiency Attenuates Neointimal Formation Following Vascular Injury by Modulating Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation
3. 学会等名 第4回 日本循環器学会基礎研究フォーラム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村 優一
2. 発表標題 Sirt7 Deficiency Attenuates Neointimal Formation Following Vascular Injury by Modulating Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation.
3. 学会等名 第86回 日本循環器学会学術総会（国際学会）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------