

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K17601

研究課題名(和文)急性心筋虚血における、ミトコンドリアのオートファジーの分子機構解明

研究課題名(英文)Molecular mechanisms of mitochondrial autophagy in the ischemic heart

研究代表者

齊藤 寿郎(Toshiro, Saito)

和歌山県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：60648484

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)：<背景> 絶え間なく収縮弛緩を繰り返す心臓において、ATPを産生するミトコンドリアの品質管理は重要である。障害されたミトコンドリアを除去するmitophagyは主要な品質管理機構だが、心臓の病態下での生物学的意義や分子機構の詳細は不明だった。
<目的> 心筋虚血の急性期においてmitophagyが心筋保護に働くか否かを明らかにし、分子機構を解明する。
<方法・結果> 遺伝子改変動物の虚血心筋において、レポーターを利用してmitophagyを定量し、主要な分子機構を同定した。虚血時はUlk1依存性alternative autophagyが主にmitophagyを制御することを解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢社会の本邦で慢性心不全は主要な死因である。原疾患として虚血性心疾患の割合が増加している。迅速な血行再建により救命される急性冠症候群の症例は増加したが、心筋障害が大きく、慢性心不全への移行も増加した。従って、血行再建に加えて心筋を保護する新たな治療標的が望まれる。本研究は心臓のミトファジーがその治療標的に成り得る可能性を示した。今後は如何にしてミトファジーを制御するかを検討していく。

研究成果の概要(英文)：Despite the great advance in recent medical science, numerous patients are still suffering from highly morbid and disabling conditions. Heart failure, a final common state for cardiovascular disease, manifests multiple disorders that exacerbate others (e.g. mitochondrial abnormality, alteration in metabolism, etc.). Accordingly, it appears difficult to identify the ideal target therein to therapeutically intervene. Mitochondrial quality control may be a good candidate for the target.

This study shows that autophagy characterized by Ulk1-dependent and Rab9-positive autophagosomes, distinct from that characterized by LC3-positive autophagosomes, predominantly mediates mitophagy and is responsible for the mitochondrial quality in the heart. Energy stress induces a multi-protein complex consisting of Ulk1, Rab9, Rip1, and Drp1, which recruits late endosome associated with Rab9 to damaged mitochondria through the coordinated actions of Rab9 and Drp1.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心筋虚血 ミトコンドリア ミトファジー オートファジー

1. 研究開始当初の背景

様々な治療手段の進歩に関わらず心血管疾患は主要な死因であり続けている。急性冠症候群の急性期死亡率は減少したが、慢性心不全へ移行する症例は増加した。慢性心不全への移行を抑制する上で急性期の心筋障害を減少させることは重要だが、血行再建以外の有効な治療法は限られている。急性期の心筋虚血・虚血再灌流において病態の分子機構を明らかにすることは、新規治療法の開発に発展する可能性がある。

ミトコンドリアは心筋細胞に豊富に存在する、主要なオルガネラである。平時はATP産生に関わるが、虚血などの病態下では障害を受けて細胞死を誘導する為、その品質管理は重要である(図1)。虚血など栄養欠乏下においてautophagyは活性化するが、障害を受けたミトコンドリアの除去を行うmitophagyは、最重要な品質管理機構とされる。分子機構としてParkin-Pink1経路が注目されたが(図2)、Parkinを過剰発現させた培養細胞や脱共役剤を使用した研究が多く、この経路の重要性は実際の生体内において不明であった。mitophagyを評価するにあたり、定量性を欠く場合が多いことも課題とされた。

2. 研究の目的

急性期の心筋虚血におけるmitophagyの活性・分子機構を明らかにし、心筋保護作用の有無についても確認する。

3. 研究の方法

mitophagyのレポーターである

Mito-keimaを使用して定量性を改善し、培養細胞や心臓におけるmitophagyを検討した。培養したラット初代心筋細胞に糖飢餓や低酸素などのストレスを加え、生体内の虚血と類似した環境を設定し、詳細な分子機構を解析した。遺伝子改変マウスの心臓で左冠動脈を結紮し、急性心筋虚血の下でmitophagyを定量して分子機構を解析した。

4. 研究成果

- ・本研究の一部を学術論文として発表した(Saito et al. *J Clin Invest.* 2019、文献1)。
- ・従来提唱されていたParkin-Pink1経路でなく、Ulk1依存性のalternative autophagyが、虚血・虚血再灌流においてmitophagyを制御することを見出した。
- ・虚血などの刺激に応じてUlk1がRab9をリン酸化すると、Ulk1/Rab9/Rip1(kinase X)がタンパク複合体を形成し、Drp1のリン酸化、ミトコンドリア分裂・断片化、mitophagyを誘導した(図3)。
- ・リン酸化抵抗性のRab9変異体を発現するknock-inマウスを使用し、生体内でも再現される現象として、上記を確認した。
mitophagyと通常のautophagyは異なるメカニズムで制御され、Ulk1によるRab9のリン酸化はmitophagyに特異的かつ重要な機構であることを示した。
- ・以前から、Parkin欠損マウスではミトコンドリア機能が保たれており、哺乳類のmitophagyにおいても酵母と同様にDrp1によるミトコンドリアの分裂・断片化が重要だとする報告があった。哺乳類のmitophagyの分子機構は不明な点が多いと議論されていた。

図1: 障害を受けたミトコンドリアは細胞死を誘導する。これを除去するmitophagyは、細胞の生存にとって重要な分子機構である。

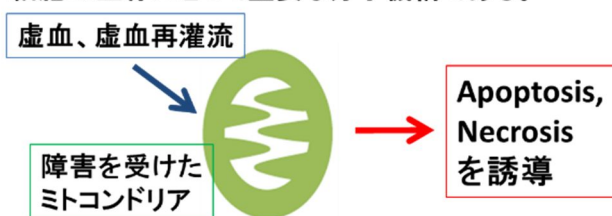
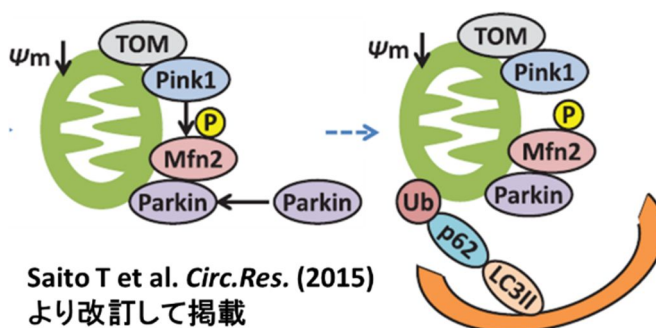


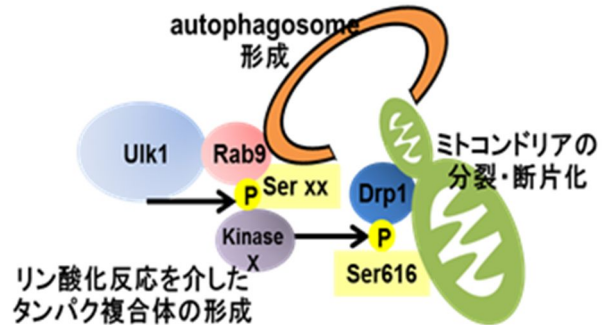
図2: Pink1がParkinをrecruitし、Parkinによるユビキチン化を起点に、ミトコンドリアがautophagosomeに取り込まれるモデルが提唱されていた。ただし、Parkinを過剰発現させた培養細胞や、脱共役剤を使用した研究が多く、実際の生体内において、このモデルの重要性は不明だった。



Saito T et al. *Circ.Res.* (2015) より改訂して掲載

- ・本研究は虚血などによる mitophagy において、内因性の Parkin が必須でないことを示し、ミトコンドリアの分裂が mitophagy に関わる機構を明らかにした。前述の疑問点に対して、明確に回答した点において独自性が高い。

図3: Rab9は alternative autophagy の autophagosome 形成に関わるが、Ulk1 はこれをリン酸化する。すると、Ulk1/Rab9/Kinase X が複合体を形成し、Drp1 のリン酸化、ミトコンドリアの分裂・断片化、mitophagy を誘導する。



<引用文献>

文献 1: Saito T, Nah J, Oka SI, Mukai R, Monden Y, Maejima Y, Ikeda Y, Sciarretta S, Liu T, Li H, Baljinnyam E, Fraidenraich D, Fritzky L, Zhai P, Ichinose S, Isobe M, Hsu CP, Kundu M, Sadoshima J.

An alternative mitophagy pathway mediated by Rab9 protects the heart against ischemia.

J Clin Invest. 129, 802-819. 2019 (IF 15.9) [Citation 168]

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 7件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Matsuno Yutarō, Yanagihara Masashi, Ueno Koji, Saito Toshiro, Kurazumi Hiroshi, Suzuki Ryo, Katsura Shunsaku, Oga Atsunori, Hamano Kimikazu	4. 巻 12
2. 論文標題 Dry preserved multilayered fibroblast cell sheets are a new manageable tool for regenerative medicine to promote wound healing	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12519
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-16345-6	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 -
1. 著者名 Saito Toshiro, Kurazumi Hiroshi, Suzuki Ryo, Matsunaga Kazumasa, Tsubone Sari, Lv Bochao, Kobayashi Sei, Nagase Takashi, Mizoguchi Takahiro, Samura Makoto, Suehiro Kotaro, Harada Takasuke, Morikage Noriyasu, Mikamo Akihito, Hamano Kimikazu	4. 巻 11
2. 論文標題 Perivascular Adipose Tissue Is a Major Source of Nitric Oxide in Saphenous Vein Grafts Harvested via the No Touch Technique	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e020637
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/JAHA.120.020637	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nah Jihoon, Shirakabe Akihiro, Mukai Risa, Zhai Peiyong, Sung Eun Ah, Ivessa Andreas, Mizushima Wataru, Nakada Yasuki, Saito Toshiro, Hu Chengchen, Jung Yong Keun, Sadoshima Junichi	4. 巻 118
2. 論文標題 ULK1-dependent alternative mitophagy plays a protective role during pressure overload in the heart	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cardiovascular Research	6. 最初と最後の頁 2638 ~ 2651
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/cvr/cvac003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Tong Mingming, Saito Toshiro, Zhai Peiyong, Oka Shin-ichi, Mizushima Wataru, Nakamura Michinari, Ikeda Shohei, Shirakabe Akihiro, Sadoshima Junichi	4. 巻 129
2. 論文標題 Alternative Mitophagy Protects the Heart Against Obesity-Associated Cardiomyopathy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Circulation Research	6. 最初と最後の頁 1105 ~ 1121
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/CIRCRESAHA.121.319377	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 該当する

1. 著者名 Iwamoto K, Saito T, Takemoto Y, Ueno K, Yanagihara M, Furuya-Kondo T, Kurazumi H, Tanaka Y, Taura Y, Harada E, Hamano K	4. 巻 13
2. 論文標題 Autologous transplantation of multilayered fibroblast sheets prevents postoperative pancreatic fistula by regulating fibrosis and angiogenesis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Am J Transl Res	6. 最初と最後の頁 1257-1268
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 -

1. 著者名 Saito Toshiro, Hamano Kimikazu, Sadoshima Junichi	4. 巻 117
2. 論文標題 Molecular mechanisms and clinical implications of multiple forms of mitophagy in the heart	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cardiovascular Research	6. 最初と最後の頁 2730 ~ 2741
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cvr/cvaa340	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 該当する

1. 著者名 Kaludercic Nina, Maiuri Maria Chiara, Kaushik Susmita, Fernandez Alvaro F, de Bruijn Jenny, Castoldi Francesca, Chen Yun, Ito Jumpei, Mukai Risa, Murakawa Tomokazu, Nah Jihoon, Pietrocola Federico, Saito Toshiro, Sebt Salwa, Semenzato Martina, Tsansizi Lorenza, Sciarretta Sebastiano, Madrigal-Matute Julio	4. 巻 116
2. 論文標題 Comprehensive autophagy evaluation in cardiac disease models	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cardiovascular Research	6. 最初と最後の頁 483 ~ 504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cvr/cvz233	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishimoto Arata, Takemoto Yoshihiro, Saito Toshiro, Kurazumi Hiroshi, Tanaka Toshiki, Harada Eijiro, Shirasawa Bungo, Hamano Kimikazu	4. 巻 533
2. 論文標題 Nuclear β -catenin expression is positively regulated by JAB1 in human colorectal cancer cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 548 ~ 552
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.09.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito Toshiro, Kurazumi Hiroshi, Suzuki Ryo, Matsuno Yutaro, Mikamo Akihito, Hamano Kimikazu	4. 巻 15
2. 論文標題 Preserving the endothelium in saphenous vein graft with both conventional and no-touch preparation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cardiothoracic Surgery	6. 最初と最後の頁 317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13019-020-01352-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito T, Nah J, Oka SI, Mukai R, Monden Y, Maejima Y, Ikeda Y, Sciarretta S, Liu T, Li H, Baljinnyam E, Fraidenraich D, Fritzky L, Zhai P, Ichinose S, Isobe M, Hsu CP, Kundu M, Sadoshima J	4. 巻 129(2)
2. 論文標題 An alternative mitophagy pathway mediated by Rab9 protects the heart against ischemia.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Clin Invest	6. 最初と最後の頁 802-819
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/JCI122035	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 該当する

1. 著者名 Tong M, Saito T, Zhai P, Oka SI, Mizushima W, Nakamura M, Ikeda S, Shirakabe A, Sadoshima J.	4. 巻 124(9)
2. 論文標題 Mitophagy Is Essential for Maintaining Cardiac Function During High Fat Diet-Induced Diabetic Cardiomyopathy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circ Res	6. 最初と最後の頁 1360-1371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCRESAHA.118.314607	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 該当する

1. 著者名 Venkatesh S, Li M, Saito T, Tong M, Rashed E, Mareedu S, Zhai P, Barcena C, Lopez-Otin C, Yehia G, Sadoshima J, Suzuki CK.	4. 巻 128
2. 論文標題 Mitochondrial LonP1 protects cardiomyocytes from ischemia/reperfusion injury in vivo.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Mol Cell Cardiol	6. 最初と最後の頁 38-50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yjmcc.2018.12.017	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 該当する

1. 著者名 Fujita A, Ueno K, Saito T, Yanagihara M, Kurazumi H, Suzuki R, Mikamo A, Hamano K.	4. 巻 56(6)
2. 論文標題 Hypoxic-conditioned cardiosphere-derived cell sheet transplantation for chronic myocardial infarction.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Eur J Cardiothorac Surg	6. 最初と最後の頁 1062-1074
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ejcts/ezz122	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 該当する

[学会発表] 計3件(うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Toshiro Saito, Junichi Sadoshima
2. 発表標題 The central role of Ulk1-dependent autophagy in mediating mitophagy in the heart during ischemia and reperfusion
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齊藤寿郎、藏澄宏之、鈴木亮、美甘章仁、濱野公一
2. 発表標題 冠動脈バイパス術の大伏在静脈グラフト採取において、No-touch法がグラフト血管の長期開存をもたらす機序に関する研究
3. 学会等名 第62回日本平滑筋学会総会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Risa Mukai, Toshiro Saito, Peiyong Zhai, Junichi Sadoshima
2. 発表標題 PRMT5-induced Arginine Methylation Mediates Energy Stress-induced Autophagy in the Heart
3. 学会等名 Basic cardiovascular Science Scientific Sessions(国際学会)
4. 発表年 2019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
---------	---------