

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390220

研究課題名(和文) 心血管代謝疾患病態基盤としての小胞体ストレス・転写因子翻訳後修飾シグナル分子機構

研究課題名(英文) ER stress and posttranslational modification pathways in cardiometabolic syndrome

研究代表者

眞鍋 一郎 (MANABBE ICHIRO)

東京大学・医学部附属病院・特任准教授

研究者番号：70359628

研究成果の概要(和文)：過剰なカロリー摂取と運動不足による肥満の急増とともに、肥満を基盤として高血圧、耐糖能異常や脂質代謝異常を併発するメタボリックシンドロームが心血管疾患の最重要なリスクファクターとして注目されている。ところが、メタボリックシンドロームが易動脈硬化状態となるメカニズムはまだよく分かっていない。本研究計画では肥満を背景とする心血管疾患と代謝疾患の分子機構について、特に血管への遊離脂肪酸を中心とする代謝的なストレスへの応答機構に着目し、その情報を伝達する小胞体(ER)ストレス応答機構、ストレス応答の遺伝子発現を制御する転写ネットワークの翻訳後修飾を解析し、メタボリックシンドローム下での動脈硬化発症分子機構を明らかにする。また血管系の知見に基づいて代謝組織の病態形成ストレス応答機構の解析を行い、肥満を背景として進展する心血管代謝疾患に共通な分子基盤を明確にすることを目的とする。さらに、これらシグナル分子機構を標的とする新規診断治療戦略へのトランスレーションを進めることを目的として研究を行った。その結果、遊離脂肪酸が、血管及び膵ラ氏島で小胞体ストレスを惹起し、両者の機能障害を引き起こすことを見いだした。そのシグナリング機構の解析を進め、遊離脂肪酸によるTLR4シグナル活性化の詳細を明らかとした。遊離脂肪酸はTLR4/MD2複合体に直接作用し、NF- κ Bパスウェイを活性化すると考えられる。また、心臓及び腎臓に対する遊離脂肪酸の作用を解析し、両者においても炎症プロセスへ寄与することを見いだした。

研究成果の概要(英文)：Metabolic syndrome is an clinically important risk factor for cardiovascular disease. However, it is insufficiently understood how atherosclerosis is induced in metabolic syndrome. In the present study, we analyzed molecular pathogenic mechanisms of cardiovascular and metabolic diseases in obesity. A particular focus was on the signaling and transcriptional regulatory mechanisms of vascular responses to metabolic stress, such as free fatty acids (FFAs). We found that free saturated fatty acids induce endoplasmic reticulum (ER) stress in smooth muscle cells and pancreatic β cells, resulting in dysfunction of those cell types. The response is mediated by TLR4. We also found that FFAs activated inflammatory processes in the heart and kidney. These results suggest that FFAs are the common factors that induce inflammatory processes in the cardiovascular, metabolic and renal systems.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2009年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2010年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
年度			
年度			
総計	14,200,000	4,260,000	18,460,000

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：メタボリックシンドローム、動脈硬化、転写因子、小胞体ストレス、翻訳後修飾

1. 研究開始当初の背景

過剰なカロリー摂取と運動不足による肥満の急増とともに、肥満を基盤として高血圧、耐糖能異常や脂質代謝異常を併発するメタボリックシンドロームが心血管疾患の最重要なリスクファクターとして注目されている。ところが、メタボリックシンドロームが易動脈硬化状態となるメカニズムはまだよく分かっていない。我々は生きている脂肪組織をそのまま観察できる新しい手法を開発し、脂肪組織の肥満では脂肪細胞の分化・増殖とアポトーシス、血管新生、血管内皮・白血球相互作用によるマクロファージの浸潤、組織構築の改変という、動脈硬化病変形成過程とよく似た慢性炎症と捉えられる変化が生じていることを初めて見いだした。つまり、肥満を背景として進行するメタボリックシンドロームと動脈硬化は共に慢性炎症性疾患と捉えることができ、心血管系と代謝系の病態形成の分子機構に多くの共通点があると考えられる。また、肥満に伴い遊離脂肪酸が増加することが代謝臓器のインスリン抵抗性を惹起する（脂肪毒性）ことが提唱されている。血管においても、JELIS 試験で EPA が心血管イベントを低減させることが報告されているように、血中脂質の変化が病態に影響する可能性が高く、遊離脂肪酸は肥満の際に代謝系と心血管系の両者に対するストレスとなると推測されるが、その詳細は全く不明である。

我々は、心血管系疾患においてストレスに応じて組織リモデリングを進める転写因子 KLF5 が、代謝系のストレス応答にも重要であることを見いだした。また、KLF5 が代謝的なストレスや、AMPK 等のエネルギーセンサーによって制御されること、シグナルに応じた KLF5 の機能調整に SUMO 化をはじめとする翻訳後修飾が重要であることを明らかとした。

2. 研究の目的

本研究計画では肥満を背景とする心血管疾患と代謝疾患の分子機構について、特に血管への遊離脂肪酸を中心とする代謝的なストレスへの応答機構に着目し、その情報を伝達する小胞体(ER)ストレス応答機構、ストレス応答の遺伝子発現を制御する転写ネットワークの翻訳後修飾を解析し、メタボリックシンドローム下での動脈硬化発症分子機構を明らかにする。また血管系の知見に基づいて代謝組織の病態形成ストレス応答機構の

解析を行い、肥満を背景として進展する心血管代謝疾患に共通な分子基盤を明確にすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究計画では、遊離脂肪酸が血管に与える影響とその情報伝達、転写因子の翻訳後修飾によるシグナルに応じた転写調節機構に着目して細胞レベルの検討を行うとともに、遺伝子改変動物や病態モデルを用いた個体レベルと *in vivo* イメージングによる細胞間相互作用解析を進め、肥満による代謝変化が、心血管系と代謝系の両者で引き起こす慢性炎症変化の分子機構を明らかにすることを目的とする。具体的には、①血管・代謝組織における遊離脂肪酸ストレス情報伝達機構の解析とアディポカイン・炎症性シグナルとの統合、②シグナルに応じた転写因子翻訳後修飾による遺伝子発現制御機構、③血管および脂肪組織における慢性炎症の細胞間相互作用の解析を並行して進める。

4. 研究成果

(1) 遊離脂肪酸の血管・代謝系への影響を解析し、新生内膜形成と膝 β 細胞機能障害を惹起することを見いだした。各々の詳細な分子機序の解析を進め、何れの組織においても、TLR4 シグナルを介して炎症プロセスを活性化することを明らかとした。さらに、心臓への作用解析も行い、心臓においても炎症シグナルを制御する結果を得た。
(2) KLF5 が PPAR・アゴニストの刺激によって脱 SUMO 化されることを明らかとした。また、KLF5 の機能について、腎臓、膝 β 細胞、視床下部で解析を進め、各々で細胞機能や炎症の制御に重要であることを見いだした。
(3) 脂肪組織において、CD8⁺ T細胞が炎症の惹起と拡大に重要であることを見いだした。CD8⁺ T細胞はマクロファージや脂肪細胞と相互作用して炎症プロセスを進展させる。また、同様に脾臓においては膝 β 細胞とマクロファージ、腎臓においては集合管上皮細胞とマクロファージの相互作用が炎症の推進に重要であることを明らかとした。

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 8 件) すべて査読あり

- ① Iwata H, Manabe I, Fujiu K, Yamamoto T, Takeda N, Eguchi K, Furuya A, Kuro-o M, Sata M, Nagai R. Bone marrow-derived cells contribute to vascular inflammation but do not differentiate into smooth muscle cell lineages. *Circulation* 122:2048-2057, 2010.
- ② Takeda N, Manabe I, Uchino Y, Eguchi K, Matsumoto S, Nishimura S, Shindo T, Sano M, Otsu K, Snider P, Conway SJ, Nagai R. Cardiac fibroblasts are essential for the adaptive response of the murine heart to pressure overload. *J Clin Invest* 120:254-265, 2010.
- ③ Oishi Y, Manabe I, Imai Y, Hara K, Horikoshi M, Fujiu K, Tanaka T, Aizawa T, Kadowaki T, Nagai R. Regulatory polymorphism in transcription factor KLF5 at the MEF2 element alters the response to angiotensin II and is associated with human hypertension. *FASEB J* 24:1780-1788, 2010.
- ④ Takizawa H, Nishimura S, Takayama N, Oda A, Nishikii H, Morita Y, Kakinuma S, Yamazaki S, Okamura S, Tamura N, Goto S, Sawaguchi A, Manabe I, Takatsu K, Nakauchi H, Takaki S, Eto K. Lnk regulates integrin α IIb β 3 outside-in signaling in mouse platelets, leading to stabilization of thrombus development in vivo. *J Clin Invest* 120:179-190, 2010.
- ⑤ Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, Otsu M, Hara K, Ueki K, Sugiura S, Yoshimura K, Kadowaki T, Nagai R. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med* 8:914-920, 2009.
- ⑥ Yagi N, Manabe I, Tottori T, Ishihara A, Ogata F, Kim JH, Nishimura S, Fujiu K, Oishi Y, Itaka K, Kato Y, Yamauchi M, Nagai R. A nanoparticle system specifically designed to deliver siRNA inhibits tumor growth in vivo. *Cancer Res* 69:6531-6538, 2009.
- ⑦ Suga H, Eto H, Shigeura T, Inoue K, Aoi N, Kato H, Nishimura S, Manabe I, Gonda K, Yoshimura K. FGF-2-induced HGF secretion by adipose-derived stromal cells inhibits post-injury fibrogenesis through a JNK-dependent mechanism. *Stem Cells*, 27: 238-249, 2009.
- ⑧ Oishi Y, Manabe I, Tobe K, Ohsugi M, Kubota T, Fujiu K, Maemura K, Kubota N, Kadowaki T, Nagai R. SUMOylation of Krüppel-like transcription factor 5 acts as a molecular switch in transcriptional programs of lipid metabolism involving PPAR- γ . *Nat Med* 14:656-666, 2008.
- [学会発表] (計2件)
- ① Manabe I, Chronic inflammatory processes in metabolic syndrome and type 2 diabetes, University of Michigan Metabolism, Endocrinology and Diabetes Research Conference, 2010年11月12日, Ann Arbor, 米国
- ② Manabe I, Inflammation in visceral fat obesity and metabolic syndrome, International Symposium on Cardiovascular Endocrinology and Metabolism, 2010年3月31日, 奈良
- [図書] (計1件)
- Manabe I, The Biology of Krüppel-like Factors, 2009, 245-252

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

<http://plaza.umin.ac.jp/manabe>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

眞鍋 一郎 (MANABE ICHIRO)

東京大学・医学部附属病院・特任准教授

研究者番号：70359628

(2) 研究分担者

藤生 克仁 (FUJIIU KATSUHITO)

東京大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：30422306

(3) 連携研究者

西村 剛 (NISHIMURA GO)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20422305