

## 科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金)研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659411

研究課題名(和文) ハッチンソンギルフォード早老症候群の病態解明に関する基盤研究

研究課題名(英文) Analysis of the pathophysiology of HGPS

研究代表者

南野 徹 (MINAMINO TOHRU)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：90328063

研究成果の概要(和文)：本研究において我々は、プロテオミクス手法を用いて、野生型ラミン・プロジェリンと会合する分子についての検討を行った。その結果、DNK-PK との結合がプロジェリンにおいて弱まっており、p53 経路の活性化がおこっていた。その下流分子として、MMP などの炎症性分子の発現亢進も認められた。以上より、HGPS における動脈硬化の発症機構に DNA 損傷経路の活性化とそれに伴う炎症分子の発現亢進が重要であることが明らかとなった。

研究成果の概要

(英文)：The present study has clarified that the DNA damage signal pathway plays a crucial role in the onset of atherosclerosis in HGPS.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

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：早老症、p53、動脈硬化

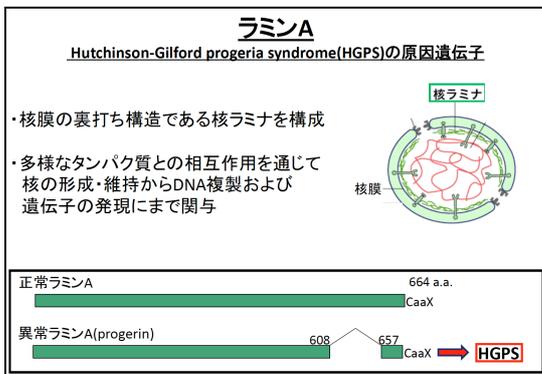
## 1. 研究開始当初の背景

ほとんどの体細胞は分裂寿命を有し、一定の分裂後、細胞老化と呼ばれる分裂停止状態となる。これまで我々は、このような細胞レベルの老化が、動脈硬化をふくめた加齢関連疾患の病態に関与するという仮説に基づいて、研究を進めてきた。実際、ヒト動脈硬化巣には多数の老化した血管細胞が存在すること、それらの細胞では、動脈硬化を促進する形質変化を示していることなどを明らかにした(Circulation 2002)。また、我々はこのアプローチによって、これまでテロメアシグナル(Circ Res 2001, Mol Cell Biol 2001)や Angioten II/Ras/ERK シグナル(Circulation 2003, Circulation 2006)、インスリン・Akt シグナル(EMBO J 2004, Circ Res 2008)が細胞レベルの老化に重要であることを報告し、さらにこれらのシグナルが血管老化・動脈硬化の病態生理に関与すること

を示唆してきた(Nat Rev Cardiol 2008)。さらに、これらの老化シグナルが、心筋細胞や脂肪細胞においても重要な役割を担っており、それぞれ心不全や糖尿病の病態生理とそれに伴う血管障害に深く関与していることを明らかにした(Nature 2007, Nat Med 2009, JCI 2010)。



Huchinson-Gilford 早老症候群 (HGPS) 若年性の早老症として知られており、成人発症の早老症である Werner 症候群と区別されている。当初は、全く心血管系の形質を示さないが、8歳頃から症状が出現し、13歳前後には急性心筋梗塞などの動脈硬化性疾患により死亡する。病理学的には、平滑筋細胞数の減少による中膜の菲薄化がその特徴とされる。HGPSの主要な原因は、核膜を構成するAラミンをコードする遺伝子の変異であることが明らかとなった。最も頻度の高いタイプの変異では、スプライシングの過程が障害される結果、タンパクのプロセッシングが正常に行われなため、変異型のAラミンであるプロジェリンというタンパクが蓄積する(図)。その結果、細胞の核の形態異常やヘテロクロマチン構造の変化とそれに伴う遺伝子発現の異常などが認められるようになる。興味深いことに、これらの患者から得られた細胞の寿命は短縮していることが報告



されており、病態に対するその重要性も示唆されている。しかしながら、プロジェリンの蓄積が、なぜ特異的に動脈硬化性疾患の発症に繋がるのかについては、全くわかっていない。

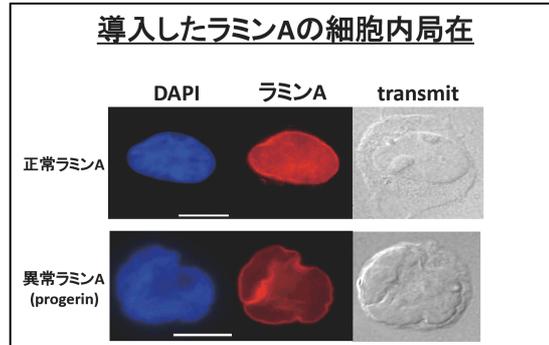
## 2. 研究の目的

加齢は、心血管疾患のリスクファクターとして良く知られているが、「なぜ、加齢に伴ってそれらの疾患の有病率が増加するのか?」については、よくわかっていない。一方、早老症候群は、若年期に老化の形質を示す遺伝性の疾患として知られており、その病態生理の解明は、高齢者における心血管疾患の発症予防・治療に有用である。そこで本研究では、早老症候群のひとつである、Huchinson-Gilford 早老症候群 (HGPS) の病態生理を解明することによって、循環器疾患(特に動脈硬化性疾患)の新たな治療のストラテジーを開発することを目的とする。

## 3. 研究の方法

これまでの我々の予備実験から、プロジェリンの導入は、血管内皮細胞の老化は誘導しないのに対して、血管平滑筋細胞の老化・細

胞死を誘導することがわかっている。そこで、プロジェリン導入血管内皮細胞をコントロールとして、血管平滑筋細胞へのプロジェリン導入による遺伝子発現変化や、タンパク発現変化、リン酸化状態の変動などについて、マイクロアレイや iTRAQ によるプロテオミクス解析を行う。鍵分子が明らかとなった場合は、その分子のノックダウンなどによって培養系で検証するとともに、遺伝子改変マウス

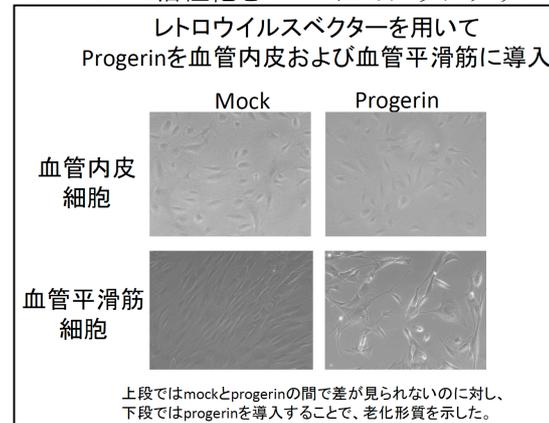


を確立して HGPS マウス・動脈硬化モデルマウスと交配することにより、その治療への有用性を確認する。

## 4. 研究成果

血管内皮細胞にプロジェリンをレトロウイルスベクターによって導入したところ、核膜の変化が認められるのにも関わらず、増殖能などについては変化がなかった。これに対して、血管平滑筋細胞にプロジェリンを導入すると、直ちに細胞の増殖は停止し、老化・細胞死の形質を示すようになることがわかった。これらの形質は、細胞老化分子である p53 を欠失させておくと、抑制されることから、p53 依存性の細胞老化シグナルの重要性を示唆していると考えられた。

iTRAQ の解析により、DNA 損傷に関わる分子群が、有意な変化を示していた。その中でも、通常ラミン A と結合している DNA-PK がプロジェリン導入によりその結合が低下し、その活性の亢進がおこなっていることが明らかとなった。実際、プロジェリンによる DNA-PK の活性化を RNAi にてノックダウン



しておく、細胞の増殖が回復していた。さらに、マイクロアレイの解析から、これらのDNA損傷の下流にMMPなどの炎症性分子が関与していることが明らかとなった。

今後は、これらの分子の制御によってHGPSマウス・動脈硬化モデルマウスの病態の改善が得られるかを検証することで、その治療への有用性を確認する。

#### 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)

1. Shimizu I, Yoshida Y, Katsuno T, Minamino T. Adipose tissue inflammation in diabetes and heart failure. *Microbes and Infection* 2013; 15: 11-17. 査読あり  
doi:10.1016/j.micinf.2012.10.012
2. Okada S, Yokoyama M, Toko H, Tateno K, Moriya J, Shimizu I, Nojima A, Ito T, Yoshida Y, Kobayashi Y, Katagiri H, Minamino T, Komuro I. Brain-derived neurotrophic factor protects against cardiac dysfunction after myocardial infarction via a central nervous system-mediated pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32: 1902-1909. 査読あり  
doi:10.1161/ATVBAHA.112.248930
3. Naito AT, Sumida T, Nomura S, Liu ML, Higo T, Nakagawa A, Okada K, Sakai T, Hashimoto A, Hara Y, Shimizu I, Zhu W, Toko H, Katada A, Akazawa H, Oka T, Lee JK, Minamino T, Nagai T, Walsh K, Kikuchi A, Matsumoto M, Botto M, Shiojima I, Komuro I. Complement C1q activates canonical wnt signaling and promotes age-related phenotypes. *Cell* 2012; 149: 1298-1313.  
doi:10.1016/j.cell.2012.03.047. 査読あり
4. Yasuda N, Akazawa H, Ito K, Shimizu I, Kudo-Sakamoto Y, Yabumoto C, Yano M, Yamamoto R, Ozasa Y, Minamino T, Naito AT, Oka T, Shiojima I, Tamura K, Umemura S, Nemer M, Komuro I. Agonist-independent constitutive activity of angiotensin II receptor promotes cardiac remodeling in mice. *Hypertension* 2012; 59: 627-633. 査読あり  
doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.175208.
5. Shimizu I, Yoshida Y, Katsuno T, Tateno K, Okada S, Moriya J, Yokoyama

M, Nojima A, Ito T, Zechner R, Komuro I, Kobayashi Y, Minamino T. p53-induced adipose tissue inflammation is critically involved in the development of insulin resistance in heart failure. *Cell Metab* 2012; 15: 51-64. 査読あり  
doi:10.1016/j.cell.2012.03.047.

6. Nakano D, Lei B, Kitada K, Hitomi H, Kobori H, Mori H, Deguchi K, Masaki T, Minamino T, Nishiyama A. Aldosterone does not contribute to renal p21 expression during the development of angiotensin II-induced hypertension in mice. *Am J Hypertens* 2012; 25: 354-358. 査読あり  
doi:10.1038/ajh.2011.224
7. Odaka K, Aoki I, Moriya J, Tateno K, Tadokoro H, Kershaw J, Minamino T, Irie T, Fukumura T, Komuro I, and Saga T. *In vivo* tracking of transplanted mononuclear cells using manganese-enhanced magnetic resonance imaging. *PLoS One* 2011; 6: e25487. 査読あり  
doi:10.1371/journal.pone.0025487
8. Wu X, Zou Y, Zhou Q, Huang L, Gong H, Sun A, Tateno K, Katsube K, Radtke F, Ge J, Minamino T, Komuro I. Role of JAGGED1 in arterial lesions after vascular injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 2000-2006. 査読あり  
doi:10.1161/ATVBAHA.111.225144

[学会発表] (計27件)

1. Minamino T. 次世代の血管新生治療の開発 第12回日本再生医療学会総会シンポジウム 2013/3/21-23 横浜
2. Minamino T. Cellular aging signal network and lifestyle-related disease 第77回日本循環器学会・学術集会 ミートザエキスパートセッション 2013/3/15-17 横浜
3. Minamino T. Cardiac-adipose vicious cycle is critically involved in the development of heart failure 第77回日本循環器学会・学術集会 シンポジウム 2013/3/15-17 横浜
4. Minamino T. 老化シグナルネットワークによる循環代謝制御 第35回日本分子生物学会シンポジウム 2012/12/11-14 福岡
5. Minamino T. 高血圧と血管老化のメカニズム 第20回日本血管生物医学会シンポジウム 2012/12/5-7 徳島

6. Minamino T. 臓器間老化シグナル制御と生活習慣病 第16回日本心血管内分泌代謝学会シンポジウム 2012/11/23-24 東京
  7. Minamino T. Aging and cardiovascular disease. 2012 Scientific Session. American Heart Association International Forum 2012/11/3-7 Los Angeles, USA
  8. Minamino T. 老化シグナルネットワークによる循環代謝制御 第33回日本肥満学会シンポジウム 2012/10/11-12 京都
  9. Minamino T. Regulation of Cardiovascular Metabolism by the Aging Signal Network. 第35回日本高血圧学会シンポジウム 2012/9/20-22 名古屋
  10. Minamino T. 老化、細胞死と循環代謝性疾患 第21回日本Cell Death学会シンポジウム 2012/7/28 名古屋
  11. Minamino T. 脂肪老化制御と生活習慣病 第12回日本抗加齢医学会総会 研究助成記念講演 2012/6/22-24 横浜
  12. Minamino T. Akt1による寿命調節機構 第12回日本抗加齢医学会総会シンポジウム 2012/6/22-24 横浜
  13. Minamino T. 次世代の血管新生治療の開発 第60回日本輸血・細胞治療学会総会シンポジウム 2012/5/25-27 郡山
  14. Minamino T. 臓器間ネットワークによる循環代謝制御 第85回日本内分泌学会総会シンポジウム 2012/4/19-21 名古屋
  15. Minamino T. Lifespan regulatory system as a potential therapeutic target for cardiovascular disease 第76回日本循環器学会・学術集会 Topics 2012/3/16-18 福岡
  16. Minamino T. Lifespan regulatory system and cardiovascular disease 第76回日本循環器学会・学術集会 Topics 2012/3/16-18 福岡
  17. Minamino T. Cardiovascular aging and circadian clock 第76回日本循環器学会・学術集会 シンポジウム 2012/3/16-18 福岡
  18. Minamino T. 次世代血管新生治療開発の展望 第52回日本脈管学会 シンポジウム 2011/10/20-22 岐阜
  19. Minamino T. 寿命制御と細胞老化シグナル、加齢関連疾患の発症メカニズム 第33回日本基礎老化学会 シンポジウム 2011/10/8-9 東京
  20. Minamino T. Novel strategy for therapeutic angiogenesis 第17回日本遺伝子治療学会 シンポジウム 2011/7/17 福岡
  21. Minamino T. Role of adipose senescence in lifestyle-related disease 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会 シンポジウム 2011/7/15 札幌
  22. Minamino T. Lifestyle-related disease and cellular aging signal network 第63回日本細胞生物学会 シンポジウム 2011/6/29 札幌
  23. Minamino T. 老化からみた生活習慣病 第15回日本適応医学会 シンポジウム 2011/6/24 浜松
  24. Minamino T. 老化からみた生活習慣病 第14回日本抗加齢医学会総会 シンポジウム 2011/5/28 京都
  25. Minamino T. 細胞老化シグナルと生活習慣病 第100回日本病理学会 ワークショップ 2011/4/28 横浜
  26. Minamino T. 細胞老化シグナルによる寿命制御と加齢関連疾患 第84回日本内分泌学会 教育講演 2011/4/22 神戸
  27. Minamino T. 末梢血単核球を用いた血管新生治療の効果と分子機序 第59回日本日本輸血・細胞治療学会総会シンポジウム 2011/4/15 東京
- 〔図書〕(計11件)
1. 岡田将、南野 徹 第II部 循環器疾患と慢性炎症 7. 心不全と慢性炎症 「慢性炎症と生活習慣病」小川佳宏、真鍋一郎編 南山堂 東京, 2013: 58-67.
  2. 南野 徹 III 各種疾患と時間治療 10. 体内時計の分子機構と老化 時間薬理学による最新の治療戦略 大戸茂弘編 医薬ジャーナル社 大阪, 2013: 335-343.
  3. 清水逸平、南野 徹 I. 糖尿病, A. 基礎分野での進歩, 6. インスリン抵抗性と心不全, Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌 2013, 寺内康夫編, 中外医学社, 東京, 2013: 46-51.
  4. 南野 徹 第1章 高齢者の身体的特徴の変化 1 加齢と循環系の変化 高齢者用食品の開発と展望 渡辺昌編 シーエムシー出版 東京 2012: 1-6.
  5. 南野 徹 第2章 病態, 50. 糖尿病では、血管の老化が進みますか? そのメカニズムについて教えてください、循環器医から寄せられる「糖尿病と血管合併症」に関する100の質問, 山岸昌一編, メディカルレビュー社, 東京, 2012: 116-117.
  6. 勝野太郎、南野 徹 第4章 炎症・血栓・老化関連, 5. テロメア, 動脈硬化

- 症の新しい診断・治療標的, 倉林正彦編, メディカルレビュー社, 東京, 2012: 187-194.
7. 森谷純治, 南野 徹 フォークヘッド転写因子, 血管生物学事典, 日本血管生物医学会編, 朝倉書店, 東京, 2011: 357-358.
  8. 舘野馨, 南野 徹 V. 末梢血管の疾患の手術適応と至適時期, 2. 末梢血管疾患における再生医療, 今日の心臓手術適応と至適時期, 吉川純一監修, 文光堂, 東京, 2011: 325-329.
  9. 舘野馨, 森谷純治, 南野 徹 Chapter 4 血管・心筋再生療法の臨床, 3. 末梢血単核球細胞移植による血管再生治療, 循環器再生医学の現状と展望, 室原豊明編, メディカルレビュー社, 東京, 2011: 143-150.
  10. 横山真隆, 南野 徹 I. 糖尿病, A. 基礎分野での進歩, 4. 細胞老化と糖尿病, Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌 2011, 寺内康夫編, 中外医学社, 東京, 2011: 25-33.
  11. 森谷純治, 南野 徹 II. 疾患の病因と病態, 1. p53 と生活習慣病, Annual Review 循環器 2011, 山口徹編, 中外医学社, 東京, 2011: 60-65.

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.niigata-u.ac.jp/car/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

南野 徹 (MINAMINO TOHRU)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号: 90328063