

平成 27 年 6 月 26 日現在

機関番号：84404

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670602

研究課題名(和文)オートファジー細胞死の制御による新規心血管治療法の開発

研究課題名(英文) Modulation of autophagic cell death to develop a new therapy for cardiovascular diseases

研究代表者

山原 研一 (YAMAHARA, KENICHI)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号：50450888

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：心血管領域を含む多くの疾患において、オートファジーはその病態生理に関与している。本研究ではオートファジー制御による心血管保護を目的に、循環器疾患モデルを用いた新規治療法の確立を目指した。安定・再現性あるラット大動脈瘤モデルを確立し、免疫組織化学・電子顕微鏡による解析から、動脈瘤におけるオートファジー亢進が認められた。オートファジー促進効果のあるrapamycinの同モデル投与にて、動脈瘤形成抑制が認められた。SM22-CreマウスとAtg5flox/floxマウスをかけあわせ、平滑筋特異的Atg5欠損マウスを作成し、ポリエチレンカフ障害モデルでの血管リモデリングに与える影響を検証中である。

研究成果の概要(英文)：Autophagy has largely implicated in the pathophysiology of various diseases, including the cardiovascular field. In this study, using several models of cardiovascular disease, we aimed to establish a new method to protect cardiovascular system by the modification of autophagy. We established a reliable and reproducible rat model of aortic aneurysm, and immunohistochemical and electron microscopic analysis revealed that autophagy was activated in the aneurysm. Administration of rapamycin, an with autophagy enhancer, induced the inhibition of aneurysm in this rat model. We also generated smooth muscle-specific Atg5-deficient mice by crossing SM22-Cre mice with floxed Atg5 mouse. Now we are investigating its effect on vascular remodeling using cuff-induced vascular injury model.

研究分野：再生医療、循環器学

キーワード：循環器・高血圧 オートファジー 血管平滑筋

1. 研究開始当初の背景

オートファジー (Autophagy) は真核生物に見られる細胞内タンパク質の分解機構であり、細胞内における各種タンパク質の恒常性維持の他、細胞質内に侵入した病原微生物の排除、アポトーシスやネクローシスとは異なるプログラム細胞死などに関与している。

近年、オートファジー研究は、形態学的・生化学的解析から、酵母を用いた関連遺伝子の同定、更に高等生物における多面的な機能解析へと、急速な展開をみせている。心筋ではオートファジーが虚血や圧負荷などに対してストレス応答として誘導されるが、過度な誘導は心筋の変性や細胞死につながる。一方、オートファジーによる心保護効果として、心機能維持や心不全発症予防につながる、心筋のホメオスタシス維持が指摘されている。また、血管では、オートファジーは酸化ストレスによる細胞障害を抑制することで、動脈硬化に対する保護効果が示されている。

これらの事実から、我々は、オートファジーが持つ心血管保護作用を心血管領域における新たな治療戦略として応用できると考えた。本研究では、オートファジーがどのようなメカニズムで、どの程度心血管保護効果を発揮するのかを証明し、さらにオートファジーの制御を新しい治療法として臨床応用に展開していくための下記のような基礎的研究を目指した。

大動脈瘤モデルによる瘤形成・進展抑

制効果の検証

平滑筋特異的にオートファジーを欠損させたマウスを用いて大動脈瘤モデルを作成。動脈瘤形成におけるオートファジーのメカニズムを検証

2. 研究の目的

オートファジー (Autophagy) は細胞内タンパク質の分解機構であり、タンパク質発現の恒常性維持、更にはプログラム細胞死誘導に関与することから、心血管領域を含む多くの疾患において、オートファジーはその病態生理に関与していることが示されている。オートファジー過剰は細胞に対し攻撃的に作用するため、適度に調節することが組織保護的になると考えられ、オートファジーは心血管を含む各種疾患に対する新しい治療ターゲット候補といえる。そこで本研究は、オートファジー制御による心血管保護を目指し、虚血性心疾患、大動脈疾患、心筋症などの動物モデルを用いてその有効性を証明し、新しい治療法として臨床応用を目指すことをその目的とする。

3. 研究の方法

(1) ラット大動脈瘤モデルにおけるオートファジー制御による動脈瘤形成・拡大抑制効果の検討

腹部大動脈瘤実験モデルの作成のため、ラットの腎動脈下腹部大動脈内腔に Porcine pancreatic elastase を注入し、5 分間 100mmHg の圧をかける。 対照

群と rapamycin(オートファジーを促進)投与群にわけ、これらの薬剤投与のため mini-osmotic pump を皮下に植え込む。大動脈径をエコーにてフォローアップし、14 日後に犠牲死させる。大動脈を摘出し、組織学的検討を行う。

(2) 特異的オートファジー欠損マウスを用いた血管リモデリングへの影響検討

平滑筋特異的にオートファジーを欠損させたノックアウトマウスを用いて、大腿動脈にポリエチレンカフを置いたカフ障害モデルを作成し、血管リモデリングに与える影響を検証する。大動脈径をエコーにてフォローアップし、14 日後に犠牲死させる。大動脈を摘出し、組織学的検討を行う。

4. 研究成果

(1) 安定・再現性あるラット大動脈瘤モデルを確立し、免疫組織化学・電子顕微鏡による解析から、動脈瘤部位におけるオートファジー亢進が認められる事を確認した。オートファジー促進効果のある rapamycin を同モデルに投与したところ、動脈瘤形成抑制効果が認められた。

(2) 平滑筋特異的に Cre を発現する SM22-Cre マウスと Atg5^{flx/flx} マウスをかけあわせ、平滑筋特異的に Atg5 を欠損させたマウスを作成した。この血管特異的オートファジー不能マウスに、ポリエチレンカフ障害モデルでの血管リモデリングに与える影響を検証し、現在、血

管リモデリングにおけるオートファジー関与の検証を重ねている。

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0件)

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山原 研一 (YAMAHARA KENICHI)
独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・室長
研究者番号: 50450888

(2) 研究分担者

坂田 隆造 (SAKATA RYUZO)
京都大学・医学研究科・教授
研究者番号: 20325781

丸井 晃 (MARUI AKIRA)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号： 60402856