

## 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20日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659279

研究課題名（和文） 心不全進展における慢性炎症の機序解明と新たな治療法の探索

研究課題名（英文） The search for elucidating the contribution of chronic inflammation to the development of heart failure and for new treatment

研究代表者

青沼 和隆 (AONUMA KAZUTAKA)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：10375488

研究成果の概要（和文）：不全心の発症にアンジオテンシン系の活性化が関与する。AngIIの慢性投与は、野生型マウスの左室駆出率（EF）の低下を引き起こすが、脂質合成系転写因子であるSREBP-1ノックアウトマウス（KO）ではEFの低下は抑制されていた。AngIIの臓器障害作用に活性酸素種が関与するが、野生型の心臓では抗酸化に働く遺伝子群の発現とそれらの発現調節を行う転写因子Nrf2の発現が低下しており、一方でKOではそれらの発現には対照群と変化がなかった。以上より、AngIIによる心機能障害の発生には、抗酸化能の調節低下が認められることが示唆される。

研究成果の概要（英文）：The activation of angiotensin system contributes to the development of failing heart. Chronic administration of angiotensin II (AngII) lowered cardiac ejection fraction (EF) in wild mice, however, it did not change in mice deficient of the transcription factor SREBP-1. Reactive oxygen species is involved in AngII-induced organ injury. The expression level of both the master regulator for antioxidant Nrf2, a transcription factor, and Nrf2 regulating gene for antioxidative stress was significantly decreased by AngII administration in the heart; conversely, the expression level of them did not differ in KO. Taken together, cardiac dysfunction induced by Ang II may be associated with the reduced expression of Nrf2 and its regulatory gene against antioxidative stress.

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	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：循環器内科学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：心不全・慢性炎症・酸化ストレス

## 1. 研究開始当初の背景

高血圧が長期間にわたり継続すると肥大心臓が形成され、心筋細胞肥大と心筋細胞間の線維化という特徴的な組織像を呈し、心機能は低下して心不全に陥る。この一連の過程に、レニン・アンジオテンシン系の亢進が関与していることが明らかにされている。申請者らは、脂質合成系転写調節因子SREBP-1 (Sterol Responsive Element Binding Protein) が生活習慣病で問題と

なる脂肪毒性に関与することを肝臓・脂肪組織・膵β細胞・腎臓などの諸臓器について明らかにしてきた。脂肪毒性が顕著な病態であるNASH (Non-Alcoholic Steatohepatitis) では、肝実質細胞の脂肪沈着の他に間質領域の慢性炎症像と線維化を特徴とする緩徐進行性の炎症反応が関与する。高血圧性心病変では実質細胞の心筋細胞肥大以外に間質の線維化を特徴とし、このことから心病変の形成にも肝

NASH 同様の慢性炎症が関与し、二次的結果として線維化が生じてくるのではないかとの仮説が成り立つ。よって SREBP-1 の活性化は肝臓だけではなく高血圧性心病変の形成にも関与している可能性が考えられる。さらに、心不全進展に対する薬物治療として、慢性炎症に注目した治療法の報告はない。

## 2. 研究の目的

- ① Agn II 投与により心機能不全が生じることを明らかにする。
- ② 心不全発症に到る過程に心臓における慢性炎症が関与していること、心臓での慢性炎症に、いかなる遺伝子発現変化が認められるか、
- ③ 心臓での慢性炎症の持続に、SREBP-1 の存在が影響を与えること、以上の点を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

- ① Ang II は、浸透圧ミニポンプを用いて 14.4 mg/kg/day の用量で 2 週間投与した。投与 2 週間後に小動物用心臓超音波検査装置を用いて、心筋収縮能をはじめ心機能を測定した。心機能測定後、体重・心重量測定を行い、検体採取を行った。
- ② 心臓の検体を組織学的に評価した。特に、Ang II 投与 2 週間後の標本をマッソントリクローム法にて染色し、対照群と比較した。心臓から total RNA を抽出し、炎症に関連するサイトカイン・ケモカインの遺伝子発現を網羅的に測定した。また、炎症を惹起する活性酸素種に関する遺伝子発現も網羅的に測定した。
- ③ 脂質合成系転写調節因子 SREBP-1 のノックアウトマウスを用い、①②と同様に、心臓超音波検査装置による心機能測定、および炎症関連遺伝子の発現および炎症惹起性活性酸素種に関連する遺伝子発現を網羅的に測定した。

## 4. 研究成果

- ① 心臓超音波検査装置による心機能測定を行ったところ、Ang II 投与群では左室収縮能は軽度ながら有意に低下していた。また、Ang II 投与群にて、左室壁厚の有意な増加が認められた。心機能測定後、心重力測定を行ったところ、Ang II 投与群にて、有意な増加が認められた。
- ② マッソントリクローム染色にて、心臓の線維化を評価した。対照群に比べ Ang II 投与群では、血管周囲の線維化が著明であった。また、炎症反応に関連する遺伝子

子発現を検討すると、複数のケモカインおよびケモカイン受容体の発現が Ang II 投与群にて有意に上昇していた。同時に、血管周囲の線維化を反映して、細胞外マトリックスの構成タンパクの遺伝子発現が複数増加していた。また、炎症惹起性の活性酸素種に関する遺伝子発現、およびそれらに対する防御系の抗酸化ストレスタンパクを制御する遺伝子発現も検討した。抗酸化ストレスタンパク発現を制御する転写因子 Nrf2 の発現は、Ang II 投与群にて有意に低下していた。そして、Nrf2 にて発現が正に制御される HO-1, NQO1, Prx 等の遺伝子発現も有意に低下していた。これらのことは、Ang II 投与により発生する活性酸素種に対する防御反応が低下していることを示唆する。

- ③ 脂肪毒性が低下するモデルとして、SREBP1 ノックアウトマウス (KO) を用いた実験を行った。KO マウスに対し、方法①②の実験を同様に行った。Ang II 投与による心機能の低下は、KO においては認められなかった。また、組織学的にも、血管周囲の線維化の増加は、野生型での変化に比較してその程度が軽減していた。遺伝子発現パターンも、一部のケモカインおよびケモカイン受容体の発現変化は野生型の発現変化の程度よりも軽減しており、細胞外マトリックス関連遺伝子の発現変化の程度も軽度であった。さらに、Nrf2 およびその下流の遺伝子発現低下も KO では軽減していた。以上より、SREBP-1-KO では、Ang II 投与による炎症反応とそれに引き続く線維化形成が軽減していることが明らかになった。

## 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)

1. Sakai S, Kimura T, Wang Z, Shimojo N, Maruyama H, Homma S, Kuga K, Yamaguchi I, Aonuma K, Miyauchi T. Endothelin-1-induced cardiomyocyte hypertrophy is partly regulated by transcription factor II-F interacting C-terminal domain phosphatase of RNA polymerase II. Life Sci. 2012;91:572-7. 査読有
2. Miyauchi Y, Sakai S, Maeda S, Shimojo N, Watanabe S, Homma S, Kuga K, Aonuma K, Miyauchi T. Increased plasma levels of big-endothelin-2 and big-endothelin-3 in

- patients with end-stage renal disease. Life Sci. 2012;91:729-32. 査読有
3. Tajiri K, Imanaka-Yoshida K, Matsubara A, Tsujimura Y, Hiroe M, Naka T, Shimojo N, Sakai S, Aonuma K, Yasutomi Y. Suppressor of cytokine signaling 1 DNA administration inhibits inflammatory and pathogenic responses in autoimmune myocarditis. J Immunol. 2012;189:2043-53. 査読有
  4. Sato A, Hiroe M, Akiyama D, Hikita H, Nozato T, Hoshi T, Kimura T, Wang Z, Sakai S, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Aonuma K. Prognostic value of serum tenascin-C levels on long-term outcome after acute myocardial infarction. J Card Fail. 2012;18:480-6. 査読有
  5. Shimano H. Novel qualitative aspects of tissue fatty acids related to metabolic regulation: lessons from Elovl6 knockout. Prog Lipid Res. 2012;51:267-71. 査読有
  6. Tajiri K, Maruyama H, Sato A, Shimojo N, Endo M, Aihara H, Kawano S, Watanabe S, Sakai S, Aonuma K. Prediction of Chronic Renal Insufficiency after Coronary Angiography by an Early Increase in Oxidative Stress and Decrease in Glomerular Filtration Rate. Circ J 2011; 75: 437-442. 査読有
  7. Kumadaki S, Karasawa T, Matsuzaka T, Ema M, Nakagawa Y, Nakakuki M, Saito R, Yahagi N, Iwasaki H, Sone H, Takekoshi K, Yatoh S, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki H, Takahashi S, Yamada N, Shimano H. Inhibition of ubiquitin ligase F-box and WD repeat domain-containing 7 $\alpha$  (Fbw7 $\alpha$ ) causes hepatosteatosis through Krueppel-like factor 5 (KLF5)/peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ 2 (PPAR $\gamma$ 2) pathway but not SREBP-1c protein in mice. J Biol Chem. 2011;286:40835-46. 査読有
  8. Karasawa T, Takahashi A, Saito R, Sekiya M, Igarashi M, Iwasaki H, Miyahara S, Koyasu S, Nakagawa Y, Ishii K, Matsuzaka T, Kobayashi K, Yahagi N, Takekoshi K, Sone H, Yatoh S, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. Sterol regulatory element-binding protein-1 determines plasma remnant lipoproteins and accelerates atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011;31:1788-95. 査読有

[学会発表] (計 5 件)

1. Sakai S, Warabi E, Kimura T, Miyauchi T, Aonuma K, Ishii T: Protective Activity to

Oxydative Stress is Attenuated in Development of Angiotensin II-Induced Cardiac Fibrosis and Dysfunction. The 16th Society for Free Radical Research International Biennial Meeting. 2012.9.8 (London, UK)

2. Sakai S, Nakagawa N, Shimojo N, Kumura T, Tajiri K, Kuga K, Homma S, Miyauchi T, Aonuma K, Shimano H. Sterol regulatory element-binding protein-1 is involved in the development of angiotensin II-induced cardiac fibrosis. Basic Cardiovascular Sciences Conference. 2012.7.24 (New Orleans, USA)
3. Sakai S, Nakagawa Y, Shimojo N, Kuga K, Homma S, Shimano H, Aonuma K: Involvement of Sterol Regulatory Element Binding Protein-1 (SREBP-1) in Angiotensin II-Induced Cardiac Injury via Chronic Inflammatory Responses 第 76 回 日本循環器学会総会・学術集会. 2012.3.17 (福岡)
4. Sakai S, Nakagawa Y, Shimojo N, Kuga K, Homma S, Miyauchi T, Shimano H, Aonuma K: Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1 Participates in the Development of Cardiac Injury via Chronic Inflammation American Heart Association Scientific Sessions. 2011.11.14 (Orland, USA)
5. Sakai S, Nakagawa Y, Shimojo N, Yoshida K, Kimura T, Maruyama H, Honma S, Shimano H, Aonuma K: Slowly Progressed Inflammatory Responses May Contribute to the Angiotensin II-Induced Cardiac Dysfunction 第 75 回 日本循環器学会総会・学術集会. 2011.8.1 (横浜)

[その他]  
ホームページ等

6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
青沼 和隆 (AONUMA KAZUTAKA)  
筑波大学・医学医療系・教授  
研究者番号：10375488
- (2) 研究分担者  
酒井 俊 (SAKAI SATOSHI)  
筑波大学・医学医療系・講師  
研究者番号：30282362
  
- 島野 仁 (SHIMANO HITOSHI)  
筑波大学・医学医療系・教授  
研究者番号：20251241

(3) 連携研究者

丸山 秀和 (MARUYAMA HIDEKAZU)

筑波大学・附属病院・病院講師

研究者番号：30528493