

アセチル化を介した収縮保持性心不全形成機構の解明
 (旧)熊本大学大学院生命科学研究部 循環器内科学
 (新)熊本大学 国際先端医学研究機構 心臓発生研究室
 有馬勇一郎

本研究は、ミトコンドリアタンパクのアセチル化が心不全病態形成に及ぼす影響を明らかにすることを目指して研究を計画した。我々はこれまでに、ケトン体合成の律速段階酵素であるHMG-CoA synthase 2 (Hmgcs2)のノックアウトマウスを作成し、ケトン体合成不全状態においてミトコンドリアタンパクのアセチル化が亢進すると、ミトコンドリア機能が低下することを確認した。ミトコンドリアタンパクのアセチル化の誘因となる、アセチルCoAの蓄積は、ケトン体合成不全だけでなく、脂質負荷に伴うβ酸化の亢進によっても生じる。近年、高脂肪食負荷と高血圧誘導によって作出する収縮保持性心不全(Heart Failure with preserved Ejection Fraction: HFpEF)マウスモデルが報告され、本マウスモデルにおけるアセチル化を介したミトコンドリア機能不全を検討した。

B6Jのマウス成獣に対して、高脂肪食負荷とL-NAME0.5g/Lを含む飲水を15週間加えた結果、有意な体重増加と血圧上昇を認めた(図1)。

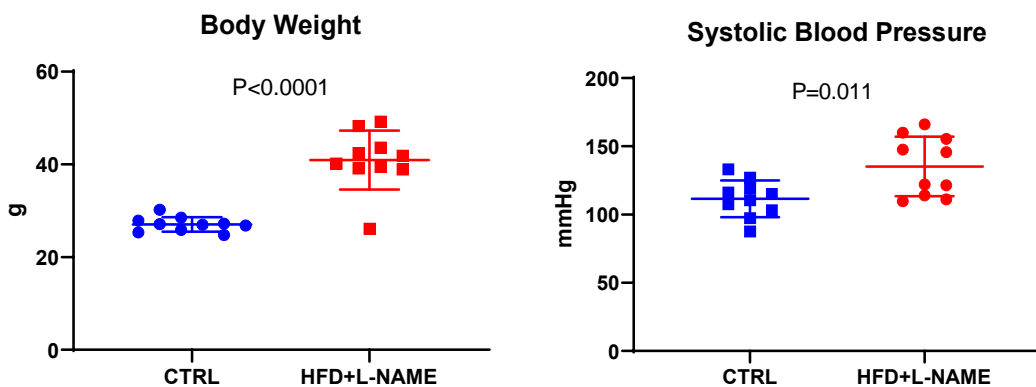


図1: 高脂肪食(HFD)とL-NAME含有飲水を15週施した後の体重および収縮期血圧

続いて心臓超音波検査によって心機能を評価した結果、心収縮力(Ejection Fraction: EF)に明らかな変化は認めなかったが、心室壁厚の有意な増加を認め、HFpEFと同様の表現型が再現できていることを確認した(図2)。

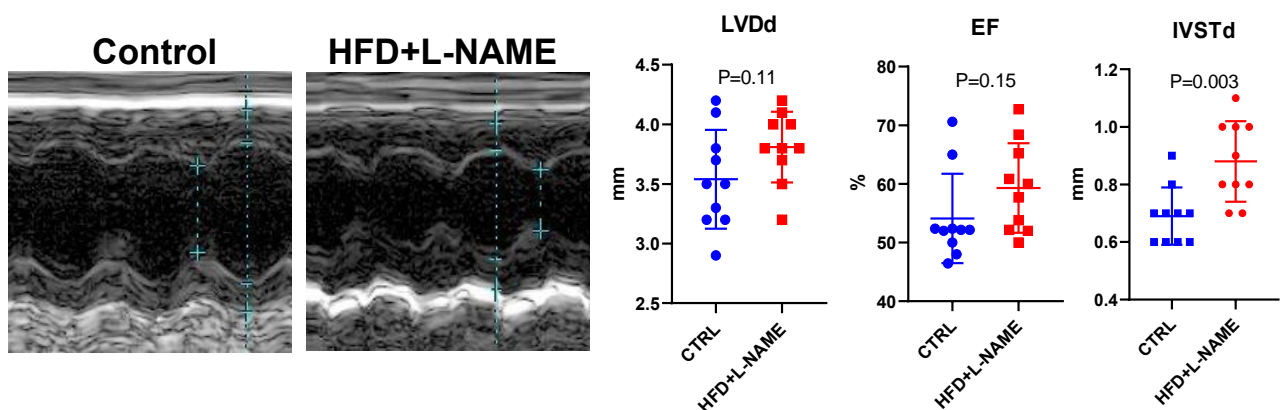


図2: 高脂肪食+L-NAME飲水により作出した、HFpEF様所見

続いて、本マウスモデルにおいてミトコンドリアタンパクのアセチル化が関与するかを検討するため、心臓組織よりミトコンドリアタンパクを抽出し、ウェスタンブロット法によりタンパク質アセチル化を評価した結果、HFpEFマウスモデルで有意なミトコンドリアタンパクのアセチル化亢進を確認した(図3)。

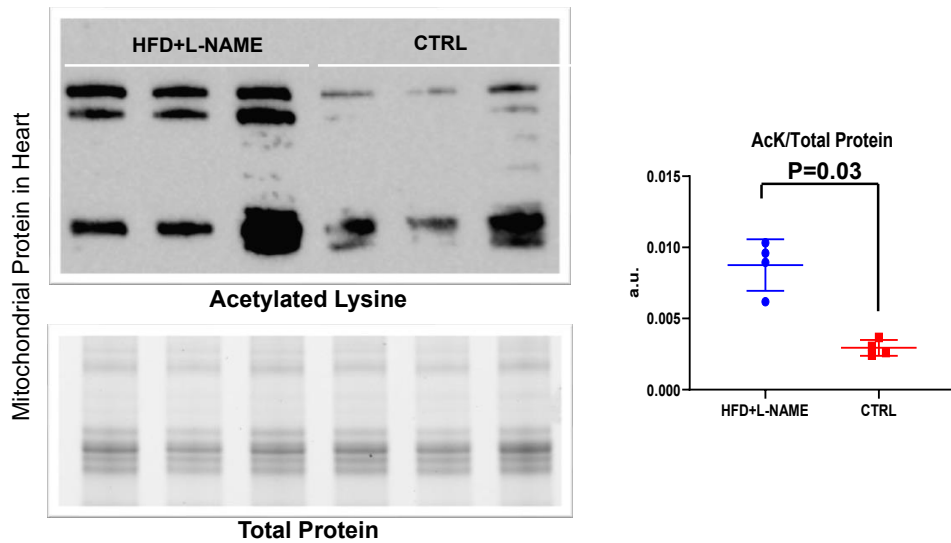


図3 HFpEFマウスモデルではミトコンドリアタンパクのアセチル化が亢進する。

以上の結果から、HFpEFマウスモデルにおいてミトコンドリアタンパクのアセチル化が亢進することが確認されたが、治療標的となりうるか否かを検証するため、ミトコンドリアタンパク質のアセチル化を制御することが知られるSirtuin3の過剰発現マウスを用いて表現型の比較を進めた。CAGプロモーター依存したSirt3を過剰発現するトランスジェニックマウスとコントロールに対して、高脂肪食+L-NAMEの負荷を15週加えた後、心筋断面積を評価した結果、対照群と比較してSirt3過剰発現マウスでは有意な心筋断面積の縮小が確認された(図4)。

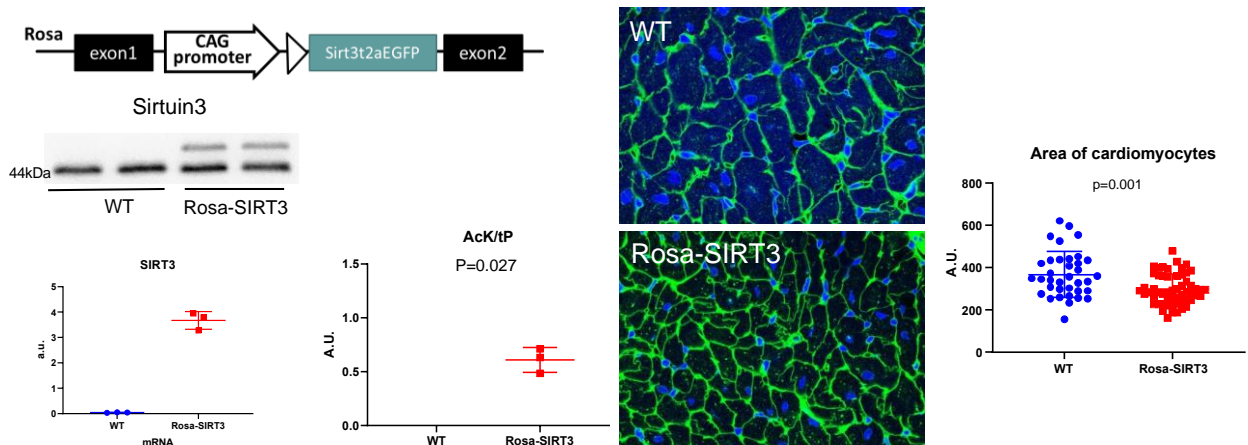


図4 Sirt3の過剰発現は、高脂肪食+L-NAME飲水によりもたらされる心筋肥大を緩和する

一方で、ケトン体合成不全マウスで認められるミトコンドリアタンパク質のアセチル化は、Sirt3の過剰発現でも変化することはなく、2つの異なる機序が関与している可能性が示唆された。そこで、ケトン体合成不全マウスにおけるミトコンドリアタンパクのアセチル化の特徴を明らかにするため、細胞小器官ごとにタンパク質のアセチル化を評価した結果、ケトン体合成不全マウスではミトコンドリアタンパクのアセチル化が生じる一方で、同じく β 酸化などの類似の働きを有するペルオキシソームでは顕著なアセチル化が生じていないことを見出した(図5)。

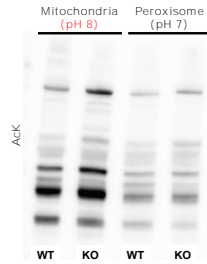


図5 ミトコンドリアで生じるアセチル化亢進は、ペルオキシソームでは認めない

また、ケトン体合成不全ではミトコンドリアタンパクのアセチル化が亢進する一方で、核タンパクでは逆に脱アセチル化が更新することを確認した、原因を明らかにするため、ヒストンタンパクのアセチル化に重要な働きを持つ、ヒストン脱アセチル化(HDAC)活性を評価した結果、ケトン体合成不全マウスではHDAC活性が亢進していることが明らかとなった(図6)。

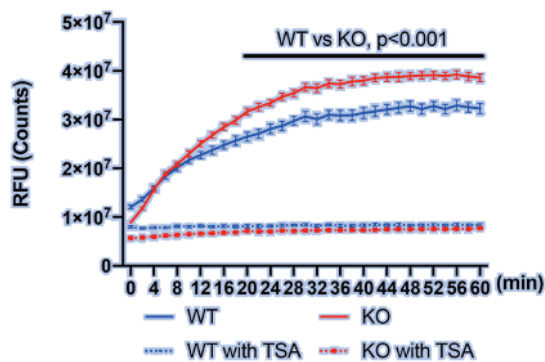


図6 野生型(WT)およびケトン体合成不全マウス(KO)におけるHDAC活性

HDAC活性に変化が生じる要因として、ケトン体の1種であるβヒドロキシ酪酸が内因性のHDAC阻害作用を持つことが報告されており、ケトン体合成不全に伴いHDAC阻害作用が減弱する結果、ヒストンタンパクの脱アセチル化が亢進することが考えられた。

一連の解析により、収縮保持性心不全マウスモデルにおいてミトコンドリアタンパクのアセチル化が亢進すること、またアセチル化を標的とした治療戦略が期待できることが確認された。一方で、Sirt3に代表される酵素依存的なアセチル化の制御とは別に、ケトン体合成不全で生じる酵素非依存的なミトコンドリアタンパクのアセチル化が病態形成過程でも存在することが明らかとなった(図7)。

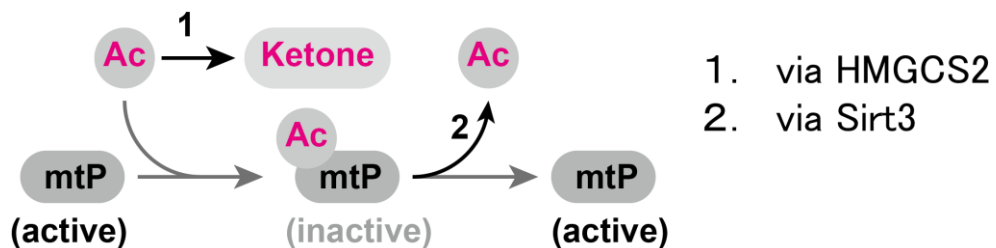


図7 2種類のミトコンドリアタンパクアセチル化

酵素非依存的なタンパクアセチル化は、non enzymatic protein acylationとして近年報告された現象であり、その成立のためには基質であるアセチルCoA濃度の上昇と、アルカリに近いpHが必要であるとされる。改めて細胞内小器官におけるpHを考慮すると、ミトコンドリアマトリックスは最もpHが高い領域であり、酵素非依存的なアセチル化が生じやすい環境と考えることができる。

今後はこれらの異なる機序のアセチル化を念頭に、それぞれの機序に合わせたメカニズムを応用することで、収縮保持精神不全に対する新たな治療戦略を設定することが期待された。