

研究助成 2023 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

現 所 属	神戸薬科大学 臨床薬学研究室
氏 名	吉川 祥子
研究テーマ	心筋代謝制御におけるリンゴ酸–アスパラギン酸シャトルの役割

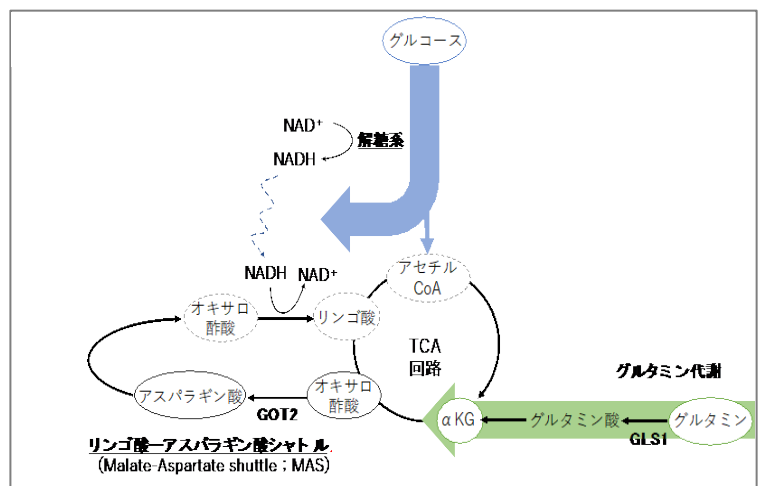
- 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。
- 構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果等 1 ページにまとめること。
 (図表、写真等の貼付を含む)

【研究目的】 代謝リモデリングは、心筋の代償的变化である心肥大や心筋線維化（心筋リモデリング）が起こる以前から認められ、心筋代謝と心筋リモデリングの進展機序には深い関連があることが知られている。申請者らのこれまでの研究よりグルタミン代謝の亢進が心筋リモデリング進行に関与することを証明した。しかしその代謝制御機構とその病態生理学的意義の解明には至っていない。申請者は、不全心筋におけるグルタミン代謝を制御する因子の 1 つとしてリンゴ酸–アスパラギン酸シャトルに着目した。本研究では、心臓線維化におけるリンゴ酸–アスパラギン酸シャトルの役割を解明し、心筋線維化の治療標的となる可能性を検討することを目的とした。

【研究手法】 ヒト心臓線維芽細胞（HCFs; human cardiac fibroblasts）にストレス負荷として Ang II (1μM) を添加し、さらにリンゴ酸–アスパラギン酸シャトルの律速酵素である GOT2 を siRNA を用いてノックダウンし以下を評価した。; 線維芽細胞における MAS 関連酵素の変化をウエスタンブロットによる蛋白定量で評価した。細胞増殖能は、CCK-8 と Scratch test を用いて評価した。代謝経路の影響を網羅的に観察するため、ガスクロマトグラフィ質量分析計にてアミノ酸量を測定した。代謝経路の影響を網羅的に観察するため、ガスクロマトグラフィ質量分析計にてアミノ酸量を測定した。MAS 回路による NADH と NAD⁺ の変化を測定するため、細胞内の NADH・NAD⁺ を測定した。

【研究結果】 (1 年にて研究中断したため、それまでの経過を報告いたします。)

Ang II を添加した 24 時間後、48 時間後の HCFs では、グルタミン分解酵素である GLS1 とともにリンゴ酸–アスパラギン酸シャトルの律速酵素である GOT2 の発現が亢進していることを確認した。GOT2siRNA を用いて GOT2KD 細胞を作成し検討したところ、Ang II による細胞増殖能亢進は、GOT2KD により抑制された。つまり、MAS を制御することにより細胞増殖が抑制される可能性が考えられた。GOT2KD により細胞内のアミノ酸量がどのように変化するかを調べるため、ガスクロマトグラフィ質量分析にて測定を行った。GOT2 によって合成されるアスパラギン酸 (Asp) は GOT2KD により総量が低下する傾向にあった。次に、GOT2KD 細胞に Asp を添加すると細胞増殖抑制効果がキャンセルされると推測し、siGOT2 + AngII 培地に Asp(2.5mM) を添加し、細胞増殖能の変化を確認した。しかし、Asp を添加した細胞は予想と反し増殖能がさらに低下する結果となった。GOT2 抑制がどのようにして細胞増殖抑制をもたらすか、さらに検討が必要であった。



研究助成 2023 – 生活習慣病領域 –

研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

現 所 属	
氏 名	
<ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。 ● 欄が足りない場合は増やして記入すること。 	
1. 論文発表実績	
<ul style="list-style-type: none"> ● 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。 ● 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入すること。 なお、著者名は省略せず全てを記入し、自分の名前に<u>下線を引く</u>こと。 ● 国内外雑誌を問わない。 ● 印刷中は in press と記入し、投稿中の論文および学会のabstractは含めないこと。 	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	



様式 4-3②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none">● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。● 発表学会名、発表者名、演題を記入すること。● 国内外を問わない。		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1		
2		
3		
4		
5		
6		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		
5		
6		