

肺動脈性肺高血圧症ラットモデルにおける右室心筋のマルチオミックス解析：
クリシン投与によるミトコンドリア機能の考察

補助事業者 巽 浩一郎

千葉大学真菌医学研究センター 呼吸器生体制御学研究部門 特任教授

研究要旨

肺動脈性肺高血圧症（PAH）における右室機能障害には、ミトコンドリア機能異常およびエネルギー産生低下を伴う心筋における代謝障害を伴う。クリシンはミトコンドリアバイオジェネシスを制御する薬理的活性を有している。PAH モデル動物である Su/hypoxia ラットモデルを使用して、クリシン投与の右室心筋における transcriptome、metabolome への影響を解析した。PAH モデルにおける右室 RNA transcriptome 解析に於いて、細胞外基質（ECM）形成、ECM とその受容体の相互作用に関係する遺伝子の増幅を認めた。一方、ミトコンドリア機能、エネルギー産生、酸化的リン酸化、TCA サイクル関連遺伝子発現には減少を認めた。これらの変化はクリシン投与により抑制されていた。Metabolome 解析では解糖系、TCA サイクル、グルタチオン、NADH の変化は認めなかったが、adenylate energy charge はクリシン投与により部分的に抑制された。これらの結果から、クリシンはミトコンドリアバイオジェネシスの改善に関与しうることが示唆された。右室心筋の RT-PCR 解析では脂肪酸代謝とミトコンドリアバイオジェネシスの制御に関係している PPAR γ 発現が増加していた。クリシンは心筋のミトコンドリア遺伝子発現および代謝レベルに作用することにより、PAH モデルにおける心筋線維化、右室肥大、肺高血圧症の程度を抑制した。

共同研究者：

小林隆之、金俊達、内藤亮、柳澤麻子、重城喬行、粕谷善俊、坂尾誠一郎、巽浩一郎、鈴木拓児

A. 研究目的

肺動脈性肺高血圧症（PAH）において右心不全は予後を規定する重要な因子である。分子生物学的背景として心筋細胞のミトコンドリア機能障害が示唆されているが、不明な点も多い。クリシンは、多彩な心保護作用が報告されている天然フラボノイドの1つである。本研究では、PAH モデルである SU5416/Hypoxia(Su/Hx)ラットを用いて、右心不全の分子生物学的機序について、またそれに対するクリシンの効果について検証した。

B. 研究方法

Su/Hx ラットに Vehicle またはクリシンを投与し、右室心筋のトランスクリプトーム解析、メタボローム解析、RT-PCR、肺循環動態測定及び病理学的検討を行った。

C. 研究結果

Su/Hx ラットにおけるトランスクリプトーム解析では、細胞外マトリックスに関連する遺伝子発現が上昇し、ミトコンドリア機能に関連する遺伝子発現が減少したが、クリシンはいずれにも保護的に作用した。メタボローム解析において、総アデニル酸は Vehicle に比べクリシン投与群で増加した。また、Vehicle 群に比べクリシン投与群で心筋の飽和脂肪酸蓄積の改善を認めた。クリシンを投与した群では、RT-PCR において PPAR γ 、脂質代謝やミトコンドリア生合成に関係する RNA 発現が高値を示した。また、肺循環動態及び、右

室心筋の繊維化が改善した。

D. 考察

本研究では、クリシンが Su/Hx ラットの右室心筋のミトコンドリア生合成・エネルギー産生に寄与することが示唆された。一連の機序には、右室心筋における PPAR γ の高発現や、脂質代謝の調整作用による脂質毒性の軽減が関係したと推測された。

E. 結論

Su/Hx ラットにおいてクリシンは右室心筋細胞の遺伝子発現パターンおよびミトコンドリア代謝物を変化させ、肺高血圧及び右心機能障害を改善した。

F. 研究発表

1. 論文

Kobayashi T, Kim JD, Naito A, Yanagisawa A, Jujo-Sanada T, Kasuya Y, Nakagawa Y, Sakao S, Tatsumi K, Suzuki T. Multi omics analysis of right ventricles in rat models of pulmonary arterial hypertension: Consideration of mitochondrial biogenesis by chrysin. *Int J Mol Med.* 2022 May;49(5):69. doi: 10.3892/ijmm.2022.5124. Epub 2022 Mar 22.PMID: 35315498.

Multi-omics analysis of right ventricles in rat models of pulmonary arterial hypertension: Consideration of mitochondrial biogenesis by chrysin

TAKAYUKI KOBAYASHI^{1*}, JUN-DAL KIM^{2-4*}, AKIRA NAITO¹, ASAKO YANAGISAWA¹,
TAKAYUKI JUJO-SANADA¹, YOSHITOSHI KASUYA⁵, YOSHIMI NAKAGAWA²,
SEIICHIRO SAKAO¹, KOICHIRO TATSUMI¹ and TAKUJI SUZUKI¹

¹Department of Respiriology, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba 260-8670;

²Division of Complex Biosystem Research, Department of Research and Development, Institute of National Medicine, University of Toyama, Toyama 930-0194; ³Life Science Center for Survival Dynamics, Tsukuba Advanced Research Alliance, University of Tsukuba, Ibaraki 305-8577; ⁴Japan Agency for Medical Research-Core Research for Evolution Science and Technology, Tokyo 100-0004; ⁵Department of Biomedical Science, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba 260-8670, Japan

Received December 6, 2021; Accepted February 21, 2022

DOI: 10.3892/ijmm.2022.5124

Abstract. In pulmonary arterial hypertension (PAH), right ventricular failure is accompanied by metabolic alterations in cardiomyocytes, which may be due to mitochondrial dysfunction and decreased energy production. Chrysin (CH) is a phytochemical with pharmacological activity that is involved in the regulation of mitochondrial biogenesis. The present study investigated the role of CH in the right ventricle (RV) by analyzing the cardiac transcriptome and metabolome of a SU5416 (a vascular endothelial growth factor receptor blocker, /hypoxia (Su/Hx) rat model of PAH. RNA-sequencing of the RV transcriptome between Su/Hx, Su/Hx with CH (Su/Hx + CH) and control groups, extracellular matrix (ECM)

organization and ECM-receptor interaction-associated genes were upregulated in the RV of Su/Hx but not Su/Hx + CH rats. Furthermore, expression of mitochondrial function-, energy production-, oxidative phosphorylation- and tricarboxylic acid (TCA) cycle-associated genes was decreased in the RV of Su/Hx rats; this was reverse by CH. Metabolomic profiling analysis of Su/Hx and Su/Hx + CH rats showed no significant changes in glycolysis, TCA cycle, glutathione, NADH or NADPH. By contrast, in the RV of Su/Hx rats, decreased adenylate energy charge was partially reversed by CH administration, suggesting that CH was involved in the improvement of mitochondrial biogenesis. Reverse transcription-quantitative PCR analysis revealed that expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ , a master regulator of fatty acid metabolism and mitochondrial biogenesis, was increased in the RV of Su/Hx + CH rats. CH ameliorated cardiac abnormality, including cardiac fibrosis, RV hypertrophy and PH. The present study suggested that CH altered patterns of gene expression and levels of mitochondrial metabolites in cardiomyocytes, thus improving RV dysfunction in a Su/Hx PAH rat model.

Correspondence to: Dr Akira Naito, Department of Respiriology, Graduate School of Medicine, Chiba University, 1-8-1 Inohana, Chuo-Ku, Chiba 260-8670, Japan
E-mail: akira-n.390@chiba-u.jp

*Contributed equally

Abbreviations: Cpt1b, carnitine palmitoyl transferase 1B; Drp1, dynamin-related protein 1; Ea, arterial elastance; ECM, extracellular matrix; Ees, end-systolic elastance; LC-TOFMS, liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry; Mfn, mitofusin; Opa1, optic atrophy 1; PAH, pulmonary arterial hypertension; PPAR γ , peroxisome proliferator-activated receptor γ ; RVSP, right ventricle systolic pressure; Su/Hx, SU5416 followed by chronic hypoxia; Su/Hx + CH, SU5416 followed by chronic hypoxia and chrysin administration; Tfam, mitochondrial transcription factor A

Key words: chrysin, RNA sequencing, metabolome analysis, pulmonary hypertension, right heart, SU5416

Introduction

Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a progressive disease characterized by pulmonary vascular remodeling, leading to increased pulmonary vascular resistance and right ventricle (RV) hypertrophy, resulting in RV failure (1). Although PAH is considered to be a disease of the lungs, RV adaptation to high PA pressure is the most important determinant of prognosis and right heart failure remains a predominant cause of death in PAH (2). RV dysfunction is a complex process that leads to cardiomyocyte hypertrophy, fibrosis, inflammation and metabolic change, such as increased glycolysis (3-6). However, the underlying molecular mechanism of adverse RV remodeling

