

平成21年5月18日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18077015

研究課題名（和文） 膜プロトンセンサーの細胞内のイオンセンサーとの相互作用による
活性制御機構の解明研究課題名（英文） Regulatory mechanism for interaction between membrane proton sensor
and cytosolic ion sensor.

研究代表者

若林 繁夫 (WAKABAYASHI SHIGEO)

国立循環器病センター研究所・循環分子生理部・部長

研究者番号：70158583

研究分野：分子細胞生理学

科研費の分科・細目：

キーワード：生理学、蛋白質、循環器・高血圧、シグナル伝達、バイオテクノロジー

1. 研究計画の概要

本研究は膜プロトンセンサーである Na^+/H^+ 交換輸送体 (NHE) が細胞内イオンセンサー蛋白質との相互作用によって生理機能を発揮する機構を明らかにすることを主眼とする。また、関連の深いセンサー蛋白質(NCS-1, CHP, TRPV2)の新しい生理機能を見出すことも視野に入れる。

2. 研究の進捗状況

- (1) NHE1 のトランスジェニックマウスを用いた研究は、心肥大・心不全病態における NHE1 を介する Ca^{2+} シグナルの重要性を明らかにした。
- (2)これに関連して、NHE1 の新規結合因子カルシニューリンを見出し、心肥大との関連を検討している。
- (3)筋ジストロフィー症の病態形成には P2 リセプターを介する NHE1 活性化が重要であることを明らかにした。
- (4) Ca^{2+} センサー蛋白質 NCS-1 の心臓における機能を見出すべく KO、Tg マウスを作成した。予備的な実験から NCS-1 が、形質膜や核膜周辺に存在するイオンチャネルなどの興奮性制御タンパク質との相互作用を介して心臓の収縮、ストレス下における心筋サイババル、心肥大の誘発に重要な役割を担っていることが示唆された。
- (5)ストレッチ感受性 Ca^{2+} 透過チャネルの筋ジストロフィー症における創薬標的としての重要性を明らかにした。

3. 現在までの達成度

当初の計画の約半分は計画以上に進展しているが、若干方向転換する必要がある。

(理由)NHE1 の心筋および骨格筋における生理機能、病態的役割について、予想以上に興味深い結果を得ることができた。また NHE1 の新規結合因子を同定できたが、その意義づけに関しては研究を加速する必要がある。また Ca^{2+} センサー蛋白質 NCS-1 や CHP3 に関しては、動物作成や実験ツール作成は終了したので以後の研究は進展するはずである。また最近、NHE1 が新しい脂質センサーではないかという興味深い結果が得られつつあり、後半2年間で研究を推進していく。

4. 今後の研究の推進方策

- (1)NHE1 と Ca^{2+} センサー・カルシニューリン (CaN)との相互作用の生理的意義の解明。NHE1 は脂質ラフトとよばれる微小領域に局在すると考えられ、NHE1 の活性変化が近傍に存在する CN の活性を制御し、特定の細胞機能に関与するという仮説を検証する。
- (2)CHP3 および NCS-1 の心筋における生理的意義の解明。両蛋白質は EF ハンドモチーフを有する Ca^{2+} センサー蛋白質であり、特に心筋に多く発現しているにも関わらずその生理機能は全く解明されていない。遺伝子改変マウス、アデノベクター、分子細胞生理学的実験によって CHP3 と NCS-1 の心筋における生理・病態的役割を解明する。
- (3)最近の予備的結果から、NHE1 がリセプター刺激によって生成する DAG などの脂質によって活性化されるのではないかという可能性が浮上し、詳しい解析を行う。
- (4)筋ジストロフィーなどの筋変性疾患において局在部位が変化する Ca^{2+} 透過チャネル TRPV2 に関して、局在化の機構と病態改善方策に関する研究を継続する。

5. 代表的な研究成果
(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 4 件)

- ① Iwata, Y., Katanosaka, Y., Arai, Y., Shigekawa, M., Wakabayashi, S.: Dominant-negative inhibition of Ca^{2+} influx via TRPV2 ameliorates muscular dystrophy in animal models. **Hum. Mol. Gen.** 18(5): 824-834, 2009, 査読あり
- ② Nakamura, T.Y., Iwata, Y., Arai, Y., Komamura, K., Wakabayashi, S.: Activation of Na^+/H^+ exchanger 1 is sufficient to generate Ca^{2+} signals that induce cardiac hypertrophy and heart failure. **Circ. Res.** 103(8): 891-899, 2008, 査読あり
- ③ Hisamitsu, T., Ben Ammar, Y., Nakamura, T.Y., Wakabayashi, S.: Dimerization is crucial for the function of the Na^+/H^+ exchanger NHE1. **Biochemistry** 45(44): 13346-13355, 2006, 査読あり
- ④ Ben Ammar, Y., Takeda, S., Hisamitsu, T., Mori, H., Wakabayashi, S.: Crystal structure of CHP2 complexed with NHE1-cytosolic region and an implication for pH regulation. **EMBO J.** 25(11): 2315-2325, 2006, 査読あり

[学会発表] (計 4 件)

- ① 中村(西谷)友重, Jeromin, A., 若林繁夫: 新しい心機能調節因子としての Ca^{2+} センサータンパク質 NCS-1 の役割 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会 2008 年 12 月 9 日神戸ポートピアホテル
- ② Wakabayashi, S.: Structural and functional aspects of the Na^+/H^+ exchanger 1 and its obligatory binding partner CHP. Experimental Biology Annual Meeting 2007 April 28-May 2 2007, Washington, DC, USA
- ③ Nakamura, T., Jeromin, A., Nabekura, J., Wakabayashi, S.: Novel roles of NCS-1, a calcium sensor protein, on neuronal survival and cardiac excitability. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress, June 18-23 2006, Kyoto Japan
- ④ Iwata, Y., Katanosaka, Y., Wakabayashi, S.: Na^+/H^+ exchange inhibitors protect against muscle degeneration in cardiomyopathic hamsters. 26th Annual Scientific Sessions, European Section of the ISHR, June 14-17 2006, Univ. of Manchester, UK

[図書] (計 3 件)

- ① 中村(西谷)友重, 古林創史, 久光 隆, 岩田裕子, 若林繁夫: Na^+/H^+ 交換輸送体: 機能調節と薬物標的としての意義 (創薬研究者必見! - 最新トランスポーター研究 2009 “遺伝子医学MOOK12”: 255-261), 2009 (株)メディカルトゥ
- ② 若林繁夫, 岩田裕子, 中村(西谷)友重, 久光 隆, ベンアマー・ヨセフ: Na^+/H^+ 交換輸送体の構造・機能と病態的意義 循環器病研究の進歩 (通巻 47 号) Vol. XXVIII No.1(2007.11): 73-82, 2007 協和企画
- ③ 若林繁夫, 久光 隆, ユセフ・ベンアマー, 中村(西谷)友重, 岩田裕子: 動物細胞 Na^+/H^+ 交換輸送体: 分子から疾患まで (2007) 生化学 79(6): 579-587

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

名称: トランスジェニック非ヒト動物
発明者: 岩田裕子, 西谷友重, 若林繁夫
権利者: (財)ヒューマンサイエンス振興財団
種類: 特願
番号: 2007-123514
出願年月日: 2007 年 5 月 8 日
国内外の別: 国内

名称: 目的物質精製用タグおよび精製用タグを用いた目的物質の精製方法
発明者: 若林繁夫
権利者: (財)ヒューマンサイエンス振興財団
種類: 特願
番号: 2007-130239
出願年月日: 2007 年 5 月 16 日
国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]