

令和元年5月27日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19383

研究課題名(和文) NOを介さない内皮依存性弛緩反応による新しい心血管病治療戦略の開発

研究課題名(英文) Important roles of non-NO-mediated endothelium-dependent relaxation in cardiovascular disease

研究代表者

神戸 茂雄 (Godo, Shigeo)

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：70763233

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：一酸化窒素(NO)に依らない内皮由来過分極因子(EDHF)を介した微小循環における血管弛緩反応の重要性に着目し、マウスモデルを用いて、内皮依存性弛緩反応における血管径に応じたNOとEDHFの生理的バランスの意義を明らかにした。さらに、申請者は平成30年1月から平成31年3月まで米国メイヨークリニックへ留学し、本研究に関連した国際共同研究として、ヒトの冠動脈微小循環における血管内皮機能と冠動脈硬化症との関係性を明らかにした。本研究で得られた知見を複数の原著論文ならびに国際学会で発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化社会に突入した我が国において心血管病は急速に増加傾向にある。本研究の成果により、内皮依存性弛緩反応における血管径に応じた一酸化窒素(NO)と内皮由来過分極因子(EDHF)の生理的バランスの意義が明らかになり、特に抵抗血管・微小循環におけるNOを介さない機序での血管恒常性の維持機構を解明することにより、血管内皮機能と密接な関係にある心血管病の新たな治療戦略を開発に役立つ可能性がある。さらに、NOに依らないEDHFを介した微小循環における血管弛緩反応の重要性に着目している点に独創性と学術的意義がある。

研究成果の概要(英文)：This study highlighted that vessel size-dependent contribution of nitric oxide (NO) and endothelium-derived relaxing factor (EDHF) played an important role in coronary microcirculation in mice. Moreover, this study demonstrated that coronary microvascular endothelial dysfunction (CMED) was associated with more advanced plaque characteristics in patients with chest pain and early nonobstructive coronary artery disease, and that CMED was an independent predictor of rupture-prone vulnerable plaques. These results indicate a potential role of CMED in the progression of coronary atherosclerosis in the early stage of the disease.

研究分野：血管生物学, 循環器内科学

キーワード：血管内皮機能 内皮由来弛緩因子 内皮由来過分極因子 一酸化窒素 冠動脈硬化症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 内皮由来弛緩因子の重要性

血管内皮細胞は、内皮由来弛緩因子 (endothelium-derived relaxing factors, EDRFs) と総称される複数の血管弛緩因子を産生・遊離して血管トーンを制御し、心血管系の恒常性維持に極めて重要な働きをしている(図1)。この EDRFs には3種類あり、第1のプロスタサイクリン(PGI₂)を含む血管拡張性プロスタグランジン類、第2の一酸化窒素(NO)は、既に同定され臨床応用もされている。一方、第3の因子である内皮由来過分極因子 (endothelium-derived hyperpolarizing factor, EDHF) に関しては、まだ十分に解明されていない。申請者はこれまでの一連の研究で、EDHFの本体の一つ

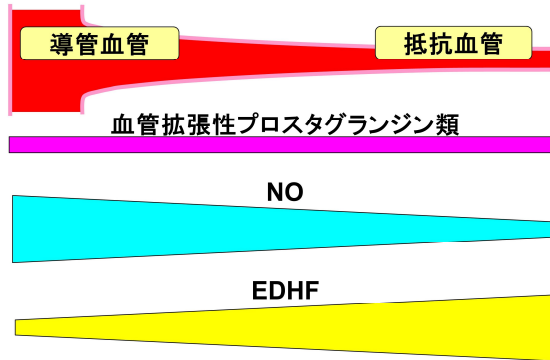


図1. 血管径におけるEDRFsの役割分担

が内皮型 NO 合成酵素 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) から生理的濃度で産生される過酸化水素 (H₂O₂) である事を、動物およびヒトの複数の血管床で同定した。これら3種類の EDRFs の内皮依存性弛緩反応への寄与度は血管径によって異なり、太い血管(導管血管)では NO が、微小血管(抵抗血管)では EDHF が主となることで生理的なバランスが取れている(図1)。したがって、EDHFの役割は、血圧や臓器血流を規定する抵抗血管において特に重要であり、これまでに冠循環、代謝機能における EDHF の重要性を明らかにしてきた。

(2) 血管径に応じた一酸化窒素合成酵素の多様性

‘NO合成酵素’と呼ばれている NOS 系が、太い導管血管での NO 産生のみならず、微小血管では主として EDHF としての H₂O₂ の産生源となり、血管径に応じた NOS 系の生物学的多様性を明らかにしてきた(図2)。こうした血管径による NO と EDHF の寄与度の違いに、eNOS を機能的に抑制している caveolin-1 (Cav-1)、H₂O₂/EDHF の標的分子である protein kinase G1α (PKG1α) 内皮細胞の AMPK が関与していることを最近報告した。さらに、遺伝子工学的に eNOS 機能を強制増強させた、Cav-1 欠損マウスおよび内皮特異的 eNOS 過剰発現マウスを用いて検討を行った結果、eNOS を強制増強することで、微小循環において本来の EDHF/H₂O₂ のバランスが失われることが示され、健全な NO と EDHF のバランスが崩れる事によって、心血管系の恒常性の維持に破綻が生じ得るという新たな知見が得られた。

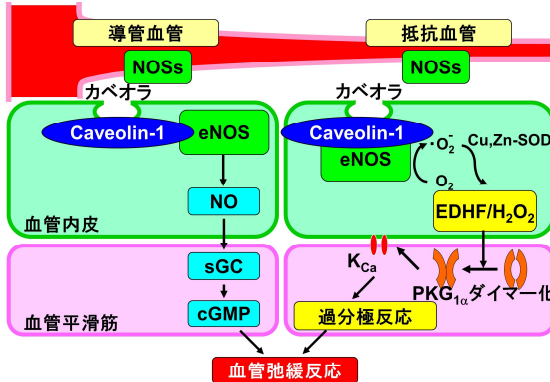


図2. 血管径に応じたNOSsの多様性

2. 研究の目的

本研究の目的は、申請者らのこれまでの研究成果に基づき、内皮依存性弛緩反応における血管径に応じた一酸化窒素(NO)と内皮由来過分極因子(EDHF)の生理的バランスの意義を明らかにし、特に抵抗血管・微小循環におけるNOを介さない機序での血管恒常性の維持機構を解明することにより、血管内皮機能と密接な関係にある心血管病、特に本態性高血圧症、心不全、肺高血圧症の新たな治療戦略を開発することである。NOに依らないEDHFを介した微小循環における血管弛緩反応の重要性に着目している点に独創性があり、新しい機序による血管拡張薬の開発につながる。

3. 研究の方法

この目的を達成するために、「研究1. 血管径に応じたNOとEDHFの生理的バランスの意義の解明」および「研究2. 抵抗血管における血管弛緩反応の制御と臓器循環の調整機構の検討」に関して研究を継続した。

<研究1. 血管径に応じたNOとEDHFの生理的バランスの意義の解明>

NOとEDHF/H₂O₂の産生および調節の重要な調節分子であるcaveolin-1(Cav-1)を内皮特異的に欠損させた遺伝子改変マウスの抵抗血管・微小循環レベルの血管内皮機能を検討した。さらに、H₂O₂を介したEDHF反応を消失したC42SPKG1αノックインマウスを連携研究者であるPhilip Eaton教授から供与を受けて、心血管系の表現型解析を行った。

<研究2. 抵抗血管における血管弛緩反応の制御と臓器循環の調整機構の検討>

肺高血圧症の疾患モデルとして低酸素刺激モデルを採用し、摘出肺動脈ならびに摘出灌流肺でのEDHFの実験系を確立した。さらに、米国メイヨークリニック循環器内科のAmir Lerman医師との国際共同研究として、冠微小循環における血管内皮機能と冠動脈硬化症との関連を明らか

にするため、狭心症の疑いで心臓カテーテル検査を実施したが冠動脈造影上は正常冠動脈または軽度の内腔狭窄しか認められなかった患者に対して、内皮依存性血管拡張のアゴニストであるアセチルコリンの冠動脈注入による冠動脈内皮機能評価、ならびに血管内超音波 (virtual-histology intravascular ultrasound: VH-IVUS) による冠動脈硬化病変の性状評価を実施し、後方視的な横断研究により両者の関連を検討した。

4. 研究成果

研究1に関しては、申請者らが論文報告(論文)した、内皮依存性弛緩反応におけるNOとEDHFの生理的バランスが崩れて微小循環のEDHF/H₂O₂反応が減弱した内皮特異的caveolin-1(Cav-1)欠損マウスを用いて、内皮Cav-1が下肢虚血後の微小循環の血管新生においても重要なことを明らかにし、論文発表(論文)を行った。

研究2に関しては、マウス冠循環におけるEDHFの重要性を明らかにした(論文査読審査中)。さらに、申請者は平成30年1月から平成31年3月まで米国メイヨークリニック(Amir Lerman医師の循環器内科研究室)へ留学し、本研究に関連した国際共同研究として、ヒトの冠動脈内皮機能と冠動脈硬化症との関係性を明らかにした(論文査読審査中)。一連の研究実績に関しては、以下の研究発表欄に記載の通り、本研究で得られた知見を複数の原著論文ならびに国内外の学会で発表した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計6件) 発表論文はすべて査読制の英文誌

Ito A, Shiroto T, Godō S, Saito H, Tanaka S, Ikumi Y, Kajitani S, Satoh K, Shimokawa H. Important roles of endothelial caveolin-1 in endothelium-dependent hyperpolarization and ischemic angiogenesis in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2019;316:H900-H910. DOI:10.1152/ajpheart.00589.2018

Saito H, Godō S, Sato S, Ito A, Ikumi Y, Tanaka S, Ida T, Fujii S, Akaike T, Shimokawa H. Important role of endothelial caveolin-1 in the protective role of endothelium-dependent hyperpolarization against nitric oxide-mediated oxidative stress in microcirculation in mice. *J Cardiovasc Pharmacol*. 71:113-126, 2018. DOI: 10.1097/fjc.0000000000000552

Tanaka S, Shiroto T, Godō S, Saito H, Ikumi Y, Ito A, Kajitani S, Sato S, Shimokawa H. Important role of endothelium-dependent hyperpolarization in the pulmonary microcirculation in male mice: implications for hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 314:H940-H953, 2018. DOI: 10.1152/ajpheart.00487.2017

Godō S, Shimokawa H. Endothelial functions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 37:108-114, 2017. DOI: 10.1161/atvbaha.117.309813

Godō S, Shimokawa H. Divergent roles of endothelial nitric oxide synthases system in maintaining cardiovascular homeostasis. *Free Radic Biol Med*. 109;4-10, 2017. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.019

Shimokawa H, Godō S. Diverse functions of endothelial NO synthases system: NO and EDH. *J Cardiovasc Pharmacol*. 67:361-366, 2016. DOI: 10.1097/fjc.0000000000000348

[学会発表](計15件)

Ito A, Shiroto T, Godō S, Saito H, Tanaka S, Ikumi Y, Kajitani S, Satoh K, Shimokawa H. Important roles of endothelial caveolin-1 in endothelium-dependent hyperpolarization and ischemic angiogenesis in mice. 第83回日本循環器学会学術集会(2019年3月29-31日, 横浜市)

Ikumi Y, Shiroto T, Kajitani S, Ito A, Tanaka S, Saito H, Godō S, Tsutsui M, Shimokawa H. Important roles of endothelium-dependent hyperpolarization in coronary microcirculation and cardiac diastolic function in mice. 第83回日本循環器学会学術集会(2019年3月29-31日, 横浜市)

Shigeo Godo, Michel T. Corban, Takumi Toya, Rajiv Gulati, Lilach O. Lerman, Amir Lerman, Coronary microvascular endothelial dysfunction is associated with advanced coronary plaque characteristics in patients with early coronary atherosclerosis. American College of Cardiology (ACC) Scientific Session 2019 (2019年3月16-18日, New Orleans, LA, USA)

Shigeo Godo, Michel T. Corban, Takumi Toya, Rajiv Gulati, Lilach O. Lerman, Amir Lerman, Endothelium-dependent coronary microvascular dysfunction is associated with advanced coronary plaque characteristics in patients with nonobstructive coronary atherosclerosis. American College of Cardiology (ACC) Scientific Session 2019 (2019年3月16 - 18日, New Orleans, LA, USA)

Shigeo Godo, Michel T. Corban, Rajiv Gulati, Lilach O. Lerman, Amir Lerman, Coronary microvascular endothelial dysfunction is associated with plaque vulnerability in patients with early coronary atherosclerosis. American Heart Association (AHA) Scientific Sessions (2018年11月10 - 12日, Chicago, IL, USA)

Michel T. Corban, Shigeo Godo, Rajiv Gulati, Lilach O. Lerman, Amir Lerman, Coronary microvascular endothelial dysfunction is an independent predictor of larger epicardial plaque area and higher plaque burden. American Heart Association (AHA) Scientific Sessions (2018年11月10 - 12日, Chicago, IL, USA)

Ito A, Shiroto T, Sato S, Kajitani S, Ikumi Y, Tanaka S, Saito H, Godo S, Shimokawa H. Important role of endothelium-dependent hyperpolarization in ischemic angiogenesis in mice. American Heart Association (AHA) Scientific Sessions (2018年11月10 - 12日, Chicago, IL, USA)

Ikumi Y, Shiroto T, Kajitani S, Ito A, Tanaka S, Saito H, Godo S, Tsutsui M, Shimokawa H. Important role of neuronal nitric oxide synthase derived endothelium dependent hyperpolarization in coronary microcirculation and cardiac diastolic function in mice. American Heart Association (AHA) Scientific Sessions (2018年11月10 - 12日, Chicago, IL, USA)

田中修平、白戸崇、神戸茂雄、齊藤大樹、伊藤秋代、井汲陽祐、梶谷翔子、佐藤沙緒里、下川宏明 肺循環および肺高血圧症における内皮依存性過分極反応の重要性 - 低酸素誘発性肺高血圧症を中心とした検討 - (YIA セッション最優秀賞受賞) 第47回日本心脈管作動物質学会 (2018年2月9日 - 10日, 長崎市)

Yosuke Ikumi, Shoko Kajitani, Akiyo Ito, Shuhei Tanaka, Hiroki Saito, Shigeo Godo, Takashi Shiroto, and Hiroaki Shimokawa. Importance of endothelium-dependent hyperpolarization and oxidative activation of PKG1 in coronary microcirculation in mice. American Heart Association (AHA) Scientific Sessions (2017年11月11 - 15日, Anaheim, CA, USA)

Shigeo Godo Physiological Balance between Nitric Oxide and Endothelium-dependent Hyperpolarization Plays Important Roles in Microvascular Homeostasis in Mice. American Heart Association Scientific Sessions 2016 (2016年11月12 - 16日, New Orleans, LA, USA)

Shigeo Godo. Importance of the Physiological Balance between Endothelium-derived Nitric Oxide and Endothelium-dependent Hyperpolarization in Microcirculatory Homeostasis in Mice Mechanisms of Vasodilatation 12th International Symposium (2016年11月7 - 9日, Rochester, MN, USA)

Shigeo Godo. Disruption of Physiological Balance Between Nitric Oxide and Endothelium-Dependent Hyperpolarization Impairs Cardiovascular Homeostasis in Mice. The 7th Scientific Meeting of Asian Society for Vascular Biology. (2016年10月27 - 29日, Hualien, Taiwan)

Shigeo Godo. Physiological balance between nitric oxide and endothelium-dependent hyperpolarization plays important roles in microvascular homeostasis in mice. The 9th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide. (2016年5月20-22日, Sendai)

Shigeo Godo. Importance of Endothelial Dysfunction in the Pathogenesis of Cardiovascular Insufficiency in Metabolic Disorders. The 81st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. (2016年3月18日, Sendai)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.cardio.med.tohoku.ac.jp/>

6. 研究組織

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：下川 宏明

ローマ字氏名：Shimokawa Hiroaki

研究協力者氏名：白戸 崇

ローマ字氏名：Shiroto Takashi

研究協力者氏名：齊藤 大樹

ローマ字氏名：Saito Hiroki

研究協力者氏名：伊藤 秋代

ローマ字氏名：Ito Akiyo

研究協力者氏名：井汲 陽祐

ローマ字氏名：Ikumi Yosuke

研究協力者氏名：梶谷 翔子

ローマ字氏名：Kajitani Shoko

研究協力者氏名：佐藤 沙緒里

ローマ字氏名：Sato Saori

研究協力者氏名：Amir Lerman

ローマ字氏名：Amir Lerman

研究協力者氏名：Philip Eaton

ローマ字氏名：Philip Eaton

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。