

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007年～2008年
 課題番号：19590812
 研究課題名（和文） 心筋梗塞後の心筋リモデリングの分子機構—カテプシンの役割及び遺伝子治療への応用
 研究課題名（英文） DEFICIENCY OF CATHEPSIN S IMPROVE CARDIAC REMODELING AND FUNCTION AFTER MYOCARDIAL INFARCTION IN THE MOUSE HEART
 研究代表者
 成 憲武 (CHENG XIAN WU)
 名古屋大学・医学部・寄附講座講師
 研究者番号：30378228

研究成果の概要：野生型マウスと比較して、生存率や心臓破裂率はカテプシン S 遺伝子欠損マウスで著明に改善したのに対して、シスタチン C 遺伝子欠損マウスで増加した。心機能や繊維化も同様にカテプシン S 欠損マウスで改善されたが、シスタチン C 遺伝子欠損マウスで悪化傾向でした。これらのことより、カテプシン S は心筋梗塞後の心筋リモデリングにおいて重要な役割を果たしているし、心筋梗塞治療の分子ターゲットになりうると思われる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：心筋リモデリング, カテプシン, 心筋細胞, 心臓ラプチャー

1. 研究開始当初の背景

システイン・プロテアーゼであるカテプシンは種々組織の病的リモデリングで重要な役割を演ずる。

2. 研究の目的

(1) 心筋梗塞後の心筋リモデリングにおけるカテプシンの役割解明。

(2) 心筋梗塞後の心筋リモデリング分子機構及び新たな遺伝子治療法を提供。

3. 研究の方法

(1) 野生型マウス、カテプシン S とシスタチン C 欠損変異マウスに心筋梗塞モデルを作成し、3群間の生存率や心臓破裂率の比較検討を行った。

(2) 組織学や生化学方法を用い、心筋組織の繊維化や炎症性細胞浸潤を検討した。

(3) 心エコーや心カテテル法を用い、血行動態や心機能評価を行った。

(4) 三種マウスの心筋細胞を単離し、細胞増殖やアポトーシスを検討した。さらに、腹マクロファージも分離し、浸潤能検討をおこ

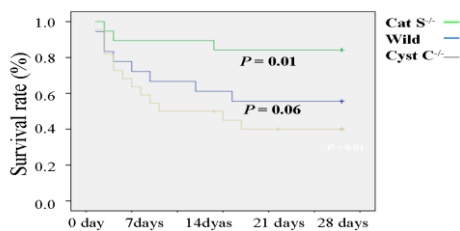
なった。

(5) Ad-Cyst C 導入による生存率と心臓破裂率の検討を行った。

4. 研究成果

(1) 野生型マウスと比較して、生存率や心臓破裂率はカテプシン S 遺伝子欠損マウスで著明に改善したのに対して、シスタチン C 遺伝子欠損マウスで増加した。さらに、Ad-Cyst C 導入によるそれらが改善傾向でした。

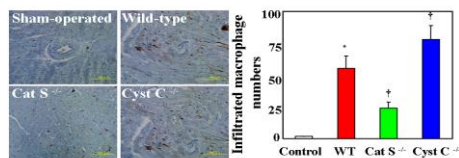
図 1



(2) カテプシン S 遺伝子欠損により、心筋繊維化や心機能が改善されたが、シスタチン C 遺伝子欠損による悪化された。

(3) 浸潤したマクロファージ数はカテプシン S 遺伝子欠損マウスで低下したのに対して、シスタチン C 遺伝子欠損マウスでは増加した。

図 2



(4) 三種マウス由来心筋細胞の増殖能とアポトーシス能の差は認めなかった。

(5) コラーゲン分解能やエラスチン分解能は、カテプシン S 遺伝子欠損マウス由来心筋細胞で低下し、シスタチン C 遺伝子欠損マウス由来心筋細胞で増加した。

(6) 野生型マウス由来心筋細胞における炎症性サイトカイン TNF- α と IL- β 刺激によるカテプシン S の発現及びその活性増加が確認された。

本研究より、初めてシステイン・プロテアーゼであるカテプシン S と内因性阻害物質シスタチン C の心筋梗塞後の心筋リモデリングや心機能改善への関与及び分子機能が明になった。これらのことより、心筋梗塞による心筋リモデリングの新たな遺伝子治療法の提供が可能であると考えられる。

5. 主な発表論文等

(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 16 件)

- ① Takahashi R, Cheng XW, et al (8人, 5番目). Circulating malondialdehyde-modified low-density lipoprotein is strongly associated with very small low-density lipoprotein cholesterol concentrations in healthy men.. *Chinica Chimica Acta*. 2009;399:74-78. 査読有
- ② Cheng XW, Murohara T, et al (15人, 1番目). Mechanism of Diastolic Stiffening of the Failing Myocardium and Its Prevention by Angiotensin Receptor and Calcium Channel Blockers. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2009 (in press). 査読有
- ③ Nakamura K, Cheng XW, et al (8人, 3番目). Statin prevents plaque disruption in apolipoprotein E-knockout mouse model through preiotropic effect on acute inflammation. *Atherosclerosis*. 2009 (in press). 査読有
- ④ Unno K, Cheng XW, et al (19人, 4番目). Relation of Functional and Morphological Changes in Mitochondria to Myocardial Contractile and Relaxation Reserves in Asymptomatic to Mildly Symptomatic Patient with Hypertrophic Cardiomyopathy. *European Heart Journal*. 2009 (in press). 査読有
- ⑤ Yamada T, Cheng XW, et al (11人, 3番目). Long-Term Administration of Nifedipine Attenuates Cardiac Remodeling and Diastolic Heart Failure in Hypertensive Rats. *European Journal of Pharmacology*. 2009 (in press). 査読有
- ⑥ Cheng XW, Murohara T, et al (15人, 1番目). Superoxide-Dependent Cathepsin Activation is Associated with Hypertensive Myocardial Remodeling and Represents a Target for Angiotensin II Type 1 Receptor Blocker Treatment. *American Journal of Pathology*. 173;358-369. 2008, 査読有
- ⑦ Kobayashi M, Cheng XW, et al (18人, 3番目). Dobutamine Stress Testing as a Diagnostic Tool for Evaluation of Myocardial Contractile Reserve in Mildly Symptomatic Patients with Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology Imaging*. 1 (in press). 2008, 査読有

- ⑧ Cheng XW, Okumura K, et al (9人, 1番目). Association between cysteine protease cathepsin S activation and left ventricular function and remodeling in hypertensive heart failure rats. *Chinese Journal of Cardiology*. 36:51-56. 2008, 査読有
- ⑨ Imamura A, Cheng XW, et al (8人, 5番目). The effects of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms on endothelial function and metabolic risk factors in healthy subjects: the significance of plasma adiponectin levels. *European Journal of Endocrinology*. 158:189-195. 2008, 査読有
- ⑩ Cheng XW, Kuzuya M, et al (12人, 1番目). The Expression and Significance of Collagenolytic Cathepsin K in the Left Ventricle Remodeling during the Hypertensive Heart Failure. *Chinese Journal of Clinical Medicine*. 15:482-487. 2008, 査読有
- ⑪ Kato Y, Cheng XW, et al (15人, 10番目). Pioglitazone attenuates cardiac hypertrophy in rats with salt-sensitive hypertension: role of activation of AMP-activated protein kinase and inhibition of Akt. *Journal of Hypertension*. 26: 1669-1676. 2008, 査読有
- ⑫ Cheng XW, Kuzuya M, et al (15人, 1番目). Mechanisms underlying the impairment of ischemia-induced neovascularization in MMP-2-deficient mice. *Circulation Research*. 100:904-913. 2007, 査読有
- ⑬ Ai S, Cheng XW, et al (8人, 2番目). Angiogenic activity of bFGF and VEGF suppressed by proteolytic cleavage by neutrophil elastase. *Biochemistry and Biophysical Research Communications*. 364:395-401. 2007, 査読有
- ⑭ Torigoe M, Cheng XW, et al (9人, 6番目). Impact of High-Molecular Weight Form of Adiponectin on Endothelial Function in Healthy Young Men. *Clinical Endocrinology*. 67:276-281. 2007, 査読有
- ⑮ Huang, Cheng XW, et al (4人, 2番目). Clinical study on the treatment of 76 cases of primarily dilated cardiomyopathy. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 6:12-13. 2007, 査読有
- ⑯ 小林正和, 成 憲武, 他(14人, 3番目). 拡張型心筋症におけるドブタミン負荷による心筋収縮特性応答低下の分子病態生理学的機序の解明. *心臓*, 40(2):16-18. 2007, 査読なし
〔学会発表〕(計 44 件)
- 国際学会**
- ① Cheng XW. Treatment of ApoE-Deficient Mice with Statin Inhibits the Oxidative Stress-Dependent Lysosomal Protease Cathepsin Activation System: Implication for Plaque Stability. *American Heart Association Scientific Sections 2008*. Nov. 8-12, 2008. New Orleans, Louisiana, USA.
- ② Kikuchi R. Pitavastatin augments angiogenesis activity in human endothelial cells via notch signal activation. *American Heart Association Scientific Sections 2008*. Nov. 8-12, 2008. New Orleans, Louisiana, USA.
- ③ Kobayashi M. Reduced ¹²³metaiodobenzylguanidine uptake predicts impaired adrenergic myocardial functional reserve in asymptomatic or mildly symptomatic patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *American Heart Association Scientific Sections 2008*. Nov. 8-12, 2008. New Orleans, Louisiana, USA.
- ④ Unno K. Relation of function and morphological changes in mitochondrial to myocardial contractile and relaxation reserve in asymptomatic to mildly symptomatic patients with hypertrophic cardiomyopathy. *American Heart Association Scientific Sections 2008*. Nov. 8-12, 2008. New Orleans, Louisiana, USA.
- ⑤ Numagushi Y. Ablation of insulin-regulated aminopeptidase (IRAP/AT4R) attenuates lipid accumulation and inhibits plaque rupture in the carotid artery of Apo E deficient mice. *American Heart Association Scientific Sections 2008*. Nov. 8-12, 2008. New Orleans, Louisiana, USA.
- ⑥ Li P. Pioglitazone Attenuates angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and fibrosis through stimulation of adiponectin secretion. *American Heart Association Scientific*

- Sections 2008*. Nov. 8-12, 2008. New Orleans, Louisiana, USA.
- ⑦ Cheng XW. Contractile Reserve Revealed by β_1 -Adrenergic Stimulation as a Predictor of Altered Myocardial Expression of Contractile Regulatory Protein Genes in Mildly Symptomatic Patients with DCM. China-Japan Cardiovascular Forum (CJCF) Oct 23-24, 2008. Beijing, China.
- ⑧ Cheng XW. Treatment of ApoE-Deficient Mice with Statin Inhibits the NADPH Oxidase-Dependent Lysosomal Protease Cathepsin Activation System: Implication for Plaque Stability. China-Japan Cardiovascular Forum (CJCF) Oct 23-24, 2008. Beijing, China.
- ⑨ Cheng XW. Azelnidipine Enhances Beneficial Effects of Olmesartan on Left Ventricular Remodeling During the Development of Hypertension-induced Heart Failure. The 31st Annual Scientific Meeting of the Japanese Society of Hypertension- 9th Japan-China Joint Hypertension Symposium. Oct 9-11, 2008. Sapporo, Japan.
- ⑩ Li P. Pioglitazone Attenuates angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and fibrosis through stimulation of adiponectin secretion. The 31st Annual Scientific Meeting of the Japanese Society of Hypertension- 9th Japan-China Joint Hypertension Symposium. Oct 9-11, 2008. Sapporo, Japan.
- ⑪ Cheng XW. The Roles for Matrix Metalloproteinase-2 in Vascular Remodeling and Atherosclerotic Plaque Rupture. Hanyang University Basic Research Meeting on Molecular and Cellular Cardiology. Apr 6, 2008. Seoul, South Korea.
- ⑫ Cheng XW. The Roles for Matrix Metalloproteinase-2 in Ischemia-Induced Neovascularization. 2nd Gkwangjiu Veterans Heart Symposium. Apr 4-5, 2008. Zenan, South Korea.
- ⑬ Cheng XW. Superoxide-dependent cathepsin activation is associated with hypertensive myocardial remodeling and represents a target for angiotensin II type 1 receptor blockers. *The 8th China-Japan Joint Hypertension Symposium*. Nov 18, 2007. Beijing, China.
- ⑭ Cheng XW. Azelnidipine Enhances Beneficial Effects of Olmesartan on Left Ventricular Remodeling During the Development of Hypertension-induced Heart Failure. *American Heart Association Scientific Sections 2007*. Nov. 3-7, 2007. Orlando, Florida, USA.
- ⑮ Cheng XW. Superoxide-Dependent Activation of Cysteine Protease Cathepsin System is Associated with Hypertensive Myocardial Remodeling and Represents a Target for Angiotensin II Type 1 Receptor Blocker Therapy. *American Heart Association Scientific Sections 2007*. Nov. 3-7, 2007. Orlando, Florida, USA.
- ⑯ Cheng XW. Mechanisms Underlying the Impairment of ischemia-induced Neovascularization in Aging Mice: the Pivotal Role for Matrix Metalloproteinase-2. *American Heart Association Scientific Sections 2007*. Nov. 3-7, 2007. Orlando, Florida, USA.
- ⑰ Harata K. A randomized, Open-label, Crossover Pilot Study Comparing The Effects Of A Loop Diuretic With Antialdosteronergic Properties Versus A Pure Loop Diuretic On Activation Of Sympathetic Nerve System In Mildly Symptomatic Patients With Chronic Heart Failure. *American Heart Association Scientific Sections 2007*. Nov. 3-7, 2007. Orlando, Florida, USA.
- ⑱ Nishizawa T. The Ca²⁺ Channel Blocker Benidipine Promotes Coronary Angiogenesis And Reduces Both Left Ventricular Stiffness And Mortality In Hypertensive Rats. *American Heart Association Scientific Sections 2007*. Nov. 3-7, 2007. Orlando, Florida, USA.
- ⑲ Hirashiki A. Dobutamine-induced Mechanical Alternants Predicts Poor Prognosis in Mildly to Moderately Symptomatic Patients with Idiopathic Dilated Cardiomyopathy in Sinus Rhythm. *American Heart Association Scientific Sections 2007*. Nov. 3-7, 2007. Orlando, Florida, USA.
- ⑳ Cheng XW. The role for MMP-2 in ischemia-induced angiogenesis

China-Japan Cardiovascular Forum(CJCF). Oct 10-13, 2007. Beijing, China.

- ② Cheng XW. Activation of Lysosomal Cysteine Protease Cathepsin S Precedes Left Ventricular Remodeling in Hypertensive Heart Failure Rats and Humans. Great-Wall International Cardiology Conference. Oct 10-13, 2007. Beijing, China.

国内学会

- ① 成 憲武. Agingによる血管新生低下機構に関して. 第4回 Summer Vascular Conference, 2008年8月30日. 東京.
- ② 成 憲武. 心筋梗塞による心筋リモデリング及び心筋ラプチャーにおけるカテプシンの役割及びその機構に関して. 日本心臓財団・ノバルティス循環器分子細胞研究助成-第3回研究成果発表会, 2008年7月26日. 東京.
- ③ 井上 愛子. Mechanisms Underlying the Impairment of Ischemia-induced Neovascularization in Aging Mice: the Pivotal Role for Matrix-Metalloproteinase-2. 第40回日本動脈硬化学会学術総会. 2008年7月10-11日. 筑波.
- ④ 中村 香江. オルメサルタンの抗動脈硬化効果及びその機構に関して. 第40回日本動脈硬化学会学術総会. 2008年7月10-11日. 筑波.
- ⑤ Cheng XW. Mechanisms Underlying the Impairment of Ischemia-induced Neovascularization in Aging Mice: the Pivotal Role for Matrix-Metalloproteinase-2. 第72回日本循環器学会学術集会. 2008年3月28-30日. 福岡.
- ⑥ Cheng XW. Superoxide-Dependent Activation of Cathepsin System is Associated with Hypertensive Myocardial Remodeling and Represents a Target for Angiotensin II Type 1 Receptor Blocker Therapy. 第72回日本循環器学会学術集会, 2008年3月28-30日, 福岡.
- ⑦ Cheng XW. Treatment of ApoE-Deficient Mice with Statin Inhibits the Oxidative Stress-dependent Lysosomal Protease Cathepsin Activation System: Implication for Plaque Stability. 第72回日本循環器学会学術集会, 2008年3月28-30日, 福岡.
- ⑧ Zhao X. Comparison of Bypass Surgery with Drug-Eluting Stents for Diabetic Patients with Left Main Coronary Artery (LMCA) Stenosis. 第73回日本循環器学会学術集会, 2008年3月20-22日, 大阪.
- ⑨ 海野 一雅. Adiponectin Acts as Positive Indicator of Diastolic Dysfunction in Patients with HCM. 第73回日本循環器学会学術集会, 2008年3月20-22日, 大阪.
- ⑩ 竹下 享典. Pitavastatin Augments Angiogenetic Activity in Human Endothelial Cells via Notch Signal Activation. 第73回日本循環器学会学術集会, 2008年3月20-22日, 大阪.
- ⑪ 今村 明子. The Microsomal Triglyceride Transfer Protein Gene Polymorphism Strongly influence the Circulating Malondialdehyde-Modified Low Density Lipoprotein. 第73回日本循環器学会学術集会, 2008年3月20-22日, 大阪.
- ⑫ 平敷 安希博. Mechanical Restitution Using Dobutamine Stress Testing in Patients with Left Ventricular Dysfunction and Atrial Fibrillation. 第73回日本循環器学会学術集会, 2008年3月20-22日, 大阪.
- ⑬ 平敷 安希博. Preservation of Myocardial Contractile Reserve in Nonischemic Dilated Cardiomyopathy Patients with Sleep-Disordered Breathing. 第73回日本循環器学会学術集会, 2008年3月20-22日, 大阪.
- ⑭ 阿井 信悟. Angiogenic activity of basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor suppressed by proteolytic cleavage by neutrophil elastase. 第15回日本血管生物医学会学術集会, 2007年11月29-30日, 福岡.
- ⑮ 佐々木 健. 血管石灰化における Matrix Metalloproteinase (MMP-2)の関与. 第15回日本血管生物医学会学術集会, 2007年11月29-30日, 福岡.
- ⑯ 中村 香江. 動物モデルを用いたアテロームプラーク破綻に対するオルメサルタンの抑制効果とその作用機序. 第15回日本血管生物医学会学術集会, 2007年11月29-30日, 福岡.
- ⑰ 成 憲武. Superoxide-dependent cathepsin activation is associated with hypertensive myocardial remodeling and

represents a target for angiotensin II type 1 receptor blockers. 日本循環器学会第139回東海・第115回北陸合同地方会, 2007年11月17-18日, 金沢.

- ⑱ 成 憲武. Lysosomal Cysteine Protease Inhibition Prevents Left Ventricular Remodeling and Dysfunction in Hypertension-induced Heart Failure. 第5回日本心臓学会学術集会, 2007年9月10-12日, 東京.
- ⑲ 成 憲武. Mechanisms Underlying the Impairment of Ischemia-induced Neovascularization in MMP-2-deficient Mice. 第39回日本動脈硬化学会学術総会, 2007年7月13-14日, 大阪.
- ⑳ 佐々木 健. 動脈硬化巣の石灰化における Matrix Metalloproteinase-2 の関与. 第39回日本動脈硬化学会学術総会, 2007年7月13-14日, 大阪.
- ㉑ 中村 香江. アテロームプラーク破綻モデルを用いたフルバスタチンのプラーク破綻に及ぼす効果. 第39回日本動脈硬化学会学術総会, 2007年7月13-14日, 大阪.
- ㉒ 成 憲武. MMP2 遺伝子欠損マウスにおける足虚血による血管新生低下機序に関して. 学術講演, 2007年7月13-14日. 名古屋.
- ㉓ 成 憲武. Mechanisms of underlying the impairment of ischemia-induced neovascularization in MMP-2-deficiency mice. 第129回日本循環器学会東海地方会, 2007年6月23日, 名古屋.

[図書] (計 2 件)

- ① 成 憲武, 室原 豊明. (2人, 1番目). MMP-2 と血管新生 (TOPICS). **医学の歩み**, 2007;223(2):188-189.
- ② 成 憲武, 室原 豊明, (2人, 1番目). 血管新生における MMP の役割(特集). **医学の歩み**. 2007;223(13):1007-1014.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

成 憲武 (CHENG XIANWU)
名古屋大学・医学部・寄附講座講師
研究者番号: 30378228

(2) 研究分担者

奥村 健二 (OKUMURA KENJI)
名古屋大学・医学部・寄附講座教授
研究者番号: 40262901

葛谷 雅文 (KUZUYA MASAFUMI)
名古屋大学・大学院医学系研究科・
准教授

研究者番号: 10283441

永田 浩三 (NAGATA KOUZOU)
名古屋大学・医学部・准教授
研究者番号: 20378227

竹下 享典 (TAKESHITA KYOUSUKE)
名古屋大学・大学院医学系研究科・
特任助教
研究者番号: 70444403

(3) 連携研究者

井澤 英夫
藤田保健衛生大学・医学部・准教授
研究者番号: 80402569