

平成22年 5月28日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20790215

研究課題名（和文） 貪食細胞の機能発現においてイオン輸送体が果たす役割

研究課題名（英文） Role of cation transporter in the regulation of macrophage function.

研究代表者

伊豫田 拓也（IYODA TAKUYA）

福岡大学・医学部・助教

研究者番号：80465715

研究成果の概要（和文）：近年の臨床研究より、アルドステロンの心臓に対する直接作用が注目を集めている。マウスに長期間アルドステロンを投与すると、心臓以外においても様々な病態が観察されるが、今回これら病態のうち心肥大と心機能低下が NCX1 と密接に関わっていることが明らかとなった。今回の結果より NCX 阻害薬がアルドステロンが関与する心肥大において保護的に働き、治療薬としての効果が期待できると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Recent studies have indicated the utility of mineralocorticoid receptor antagonist in cardiovascular injuries. Actually, chronic treatment with aldosterone can induce several pathological features, including cardiac hypertrophy, in experimental animals. In this study, we showed that NCX1 would be implicated in the progression of aldosterone-induced cardiac remodeling in experimental model of hyper-aldosteronism. These results suggest that NCX1 inhibitors might be useful for heart failure therapeutically.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：アルドステロン、心障害、炎症・免疫

### 1. 研究開始当初の背景

食食細胞各種機能の発現に伴う細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇が古くから報告されているものの、そこで各々のイオン輸送体が果たしている役割についての報告は殆どない。またマクロファージによる食食応答には、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  の濃度勾配が必要であるとする考え方もあるが、この食食応答の  $\text{Ca}^{2+}$  依存性については、未だ明確な結論を見いだせていない。しかし近年、一部マクロファージにおいて NCX1 が高発現していることや、同じく血球系の細胞ともいえる血小板に NCX 様分子が発現しているという観察から、当研究室が持つ種々のイオン輸送体解析技術を用いることで、イオン輸送体を切り口とする新たな検討が、上記未決の問題をクリアするものになるのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

マクロファージの機能異常がトリガーとなる数々の疾患を最終的なターゲットとし、イオン輸送体を切り口としたマクロファージ機能の制御が、これらの病態に対する治療に応用できる可能性について検討する。

### 3. 研究の方法

- ・食食細胞における各種イオン輸送体発現状態について、その組成・レベルの解析
- ・解析に必要な遺伝子改変マウスの作製
- ・各種イオン輸送体遺伝子改変マウス由来食食細胞を用いた、①食食能 ②炎症性メディエーター産生能 等に関する解析。
- ・各種病態モデルにおける食食細胞イオン輸送体の関与に対する解析

### 4. 研究成果

マクロファージにおいてはNCX1とNCX3の発現が観察され、NCX1がmajorであったことから、マクロファージ特異的にNCX1を高発現するマウスの作製に取り組んだ。当初CD68プロモーターを用いた当該マウスの作製を試みたが、その発現量は十分でなく、検討に用いるには不相当であった。そこでプロモーターをCD11bプロモーターに変更し、さらに Tet-on system を用いたNCX1コンディショナル・トランスジェニックマウスの作製を試みた。現在これらマウスを得るに至ってお

り、今後食食細胞の機能とNCX、カルシウム動態に関する研究を遂行するための有効なツールが得られた。

その一方でマウス病態モデルの解析においては、いくつかの興味深い知見を得た。

マウスへのアルドステロン投与は血圧上昇や心拍数増加、腎肥大、心肥大などを誘導する。しかしNCX1ヘテロKOマウスにアルドステロンを投与すると、血圧等の変動は野生型マウスと相違ないものの、心肥大のみが抑制されることを見出した(図1)。この現象はNCX阻害薬を投与した野生型マウスにおいても再現され、NCX阻害薬が心臓保護的に働く可能性を示唆した。

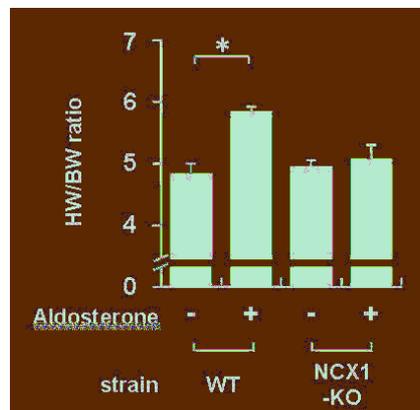


図1 アルドステロン処置に伴う心肥大

そこで心臓における各種遺伝子発現変化について検討したところ、アルドステロン投与によってNHE1, ACE1, MR, gp91といった心肥大関連分子の遺伝子発現上昇が確認された。一方でNCX1ヘテロKOマウスやNCX阻害剤を投与した野生型マウスでは、上記遺伝子発現上昇が抑制されており、これら遺伝子の発現調節にNCX1が深く関与すると考えられた。

心臓におけるgp91発現が上昇していたことから、さらに心臓における活性酸素産生について検討した。アルドステロン投与に伴う活性酸素産生は主に冠血管周囲に局限して観察されたが、NCX1-KOマウスでは活性酸素の産生が抑制されていた。活性酸素産生が観察された領域は、アルドステロン投与によって心筋線維化生じる場所と相関していたことから、NCXによって産生を制御される活性酸素を介し、線維化が誘導されると考えられた。

最後にこれらの病理現象と炎症性応答と

の関連を調べるために、アルドステロンを投与したマウス心臓を炎症性細胞マーカー (CD45) 抗体にて染色した。野生型マウスではアルドステロンの投与量依存的に炎症性細胞の浸潤数増加が観察された。対して NCX1ヘテロKOマウスでは炎症性細胞の浸潤が全く認められなかった(図2)ことより、NCXは炎症性細胞を局所に浸潤させるステップにおいても、重要な役割を担っている可能性が示唆された。

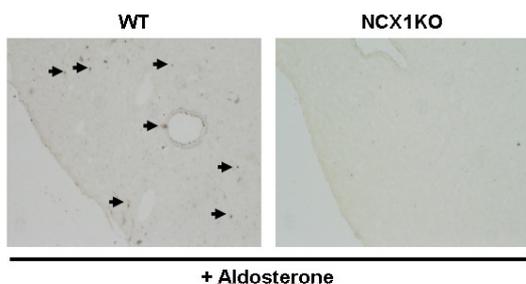


図2 アルドステロン処置に伴う炎症性細胞浸潤

以上の結果よりアルドステロン誘導性心肥大にはNCX分子が深く関与しており、その機能阻害が各種遺伝子発現や炎症性細胞浸潤の抑制を介して、心臓保護的に働くことが示唆された。既にNCXには特異的な阻害剤が開発されており、この薬剤には心肥大抑制や炎症抑制など新たな治療応用の可能性があるかと推測された。

#### 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2件)

- ① 伊豫田拓也, 喜多紗斗美, 岩本隆宏. マクロファージと食塩感受性高血圧の意外な関係. 日本薬理学雑誌 135(1) 42 (2010). 査読なし
- ② 伊豫田拓也, 喜多紗斗美, 山本信太郎, 小室一成, 西山成, 岩本隆宏. アルドステロンが誘導する心臓リモデリングにおける  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換輸送体 (NCX1) の役割. 血管 32(4) 99-102 (2009). 査読なし

[学会発表](計9件)

- ① 伊豫田拓也, 喜多紗斗美, 山本信太郎, 小室一成, 西山成, 岩本隆宏. The link between oxidative stress and  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger in aldosterone-induced cardiac remodeling. 第83回日本薬理学会年会. 2010 3/17 グランキューブ大阪(大阪)

- ② Iyoda T, Kita S, Yamamoto S, Komuro I, Nishiyama A, Iwamoto T. Role of  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger (NCX1) in Aldosterone-induced Cardiac Remodeling. Biophysical Society 54th Annual Meeting. 2010 2/23 Moscone Center (San Francisco, USA)
- ③ 伊豫田拓也, 喜多紗斗美, 小室一成, 西山成, 岩本隆宏. アルドステロンが誘発する心臓リモデリングにおける  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換輸送体の役割. 第32回日本分子生物学会年会. 2009 12/12 パシフィコ横浜(神奈川)
- ④ 伊豫田拓也, 喜多紗斗美, 山本信太郎, 小室一成, 西山成, 岩本隆宏. 心筋リモデリングに伴う酸化ストレス産生における NCX1 の役割. 第62回日本薬理学会西南部会. 2009 11/27 リジュール松山(愛媛)
- ⑤ 伊豫田拓也, 喜多紗斗美, 小室一成, 西山成, 岩本隆宏. アルドステロン誘発性心肥大における  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換輸送体の役割. 平成21年度生理研研究会「イオンチャネル・トランスポーターと心血管機能: 細胞機能の分子機序とその統合的理解」. 2009 11/25 生理学研究所・岡崎コンファレンスセンター(愛知)
- ⑥ 伊豫田拓也, 喜多紗斗美, 小室一成, 西山成, 岩本隆宏. アルドステロン誘導性心臓リモデリングにおける  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換体の関与. 第13回 Molecular Cardiovascular Conference. 2009 9/5 キロロ“ホテルピアノ”(北海道)
- ⑦ 伊豫田拓也, 喜多紗斗美, 小室一成, 西山成, 岩本隆宏. 心臓リモデリングにおける NCX1 活性化と酸化ストレス. 特定領域研究「生体膜トランスポートソームの分子構築と生理機能」平成21年度第1回班会議. 2009 8/26 阿蘇リゾートグランヴィリオホテル(熊本)
- ⑧ Iyoda T, Kita S, Komuro I, Nishiyama A, Iwamoto T. Role of NCX1 in aldosterone-induced cardiac remodeling. XXXVI International Congress of Physiological Sciences. 2009 7/30 京都国際会館(京都)
- ⑨ Iyoda T, Kita S, Komuro I, Nishiyama A, Iwamoto T. Role of  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger in aldosterone-induced cardiac remodeling. 第32回心筋代謝研究会. 2009 7/5 千里ライフサイエンスセンター(大阪)

[その他]

<http://www.med.fukuoka-u.ac.jp/pharmaco/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

伊豫田 拓也(IYODA TAKUYA)

福岡大学・医学部・助教

研究者番号:80465715

(2)研究分担者

( )

研究者番号:

(3)連携研究者

( )

研究者番号: