

平成22年 5月30日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009年度
 課題番号：20790526
 研究課題名（和文） 病的心筋リモデリングにおける新規治療標的としてのTRPCチャンネルの意義の解明
 研究課題名（英文） Elucidation of roles of TRPC ion channels in pathological cardiac remodeling
 研究代表者 木下 秀之（KINOSHITA HIDEYUKI）
 京都大学・大学院医学研究科・助教
 研究者番号：30467477

研究成果の概要（和文）：本申請研究ではTRPCの新規心肥大・心不全治療標的としての可能性を検討する目的で、TRPC阻害薬を心臓病モデルマウスに投与しその作用と分子機序を検討した。その結果、複数の心肥大モデルマウスにおいてTRPC阻害薬がその病的状態を改善させることを見出した。また心保護的に働くことが知られる心房性ナトリウム利尿ペプチドがTRPC3/6の活性を抑制的に制御することを新たに見出した。これらの研究からTRPCの新規心肥大・心不全治療標的としての可能性が明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：In this study, to elucidate the possibility of TRPC ion channels as new therapeutic targets in the treatment of cardiac diseases, we applied TRPC inhibitors to several mice model of cardiac hypertrophy or heart failure. We found that TRPC inhibitors ameliorate the pathological cardiac hypertrophy in mice with cardiac hypertrophy. We also found that the cardioprotective hormone, atrial natriuretic peptide inhibits TRPC3/6 channel activities. Our study revealed the potential significance of TRPCs as novel therapeutic targets in the treatment of pathological cardiac remodeling.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
〃〃〃%##+年度	2,200,000	660,000	2,860,000
〃〃〃%##,年度	1,100,000	330,000	1,430,000
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：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：イオンチャンネル、心不全、心筋リモデリング

1. 研究開始当初の背景

わが国を含め先進諸国においては死亡原因に心血管病の占める割合はいまだに大きく、

更なる治療法の探索・開発が望まれる。特にあらゆる心臓疾患の終末像としての心不全はいまだに予後不良の疾患であり、病的スト

レスによる心不全発症の分子機序の解明を通じた新たな治療標的の発見と治療薬の開発が必須である。心臓に病的な負荷がかかると、様々な細胞内シグナル伝達経路が活性化され、それらが最終的に心臓に病的な状態を引き起こすことが知られおり、多くの細胞内情報伝達の重要性が報告されている。なかでも細胞内への Ca 流入により活性化される Calcineurin はその下流で転写因子である NFAT を活性化させ、種々の標的遺伝子発現亢進を介して、心肥大や心不全の発症・進展に寄与することが知られている。しかし心筋細胞においてこの Calcineurin-NFAT 経路を活性化させる Ca²⁺がどのように流入して来るかは長らく不明であった。近年、TRPC family イオンチャンネルが心筋において Calcineurin-NFAT 経路活性化に関わること、なかでも TRPC6 が心筋において Calcineurin-NFAT 経路を正に制御し、病的な心筋リモデリング形成に重要な役割を果たしていることがあきらかとなった。このことは TRPC チャンネル阻害が病的な心筋リモデリングの治療法となりうる可能性を示すものと考えられた。

2. 研究の目的

以上の背景より、本研究では、TRPC 阻害薬の心肥大・心不全改善作用の検討およびその分子機序の解析と、そのデータを基にしたより効果的かつ選択的な TRPC 阻害薬の開発のためのデータの収集を目的とした。

3. 研究の方法

本申請研究では TRPC の新規心肥大・心不全治療標的としての可能性を明らかにする目的で、TRPC 阻害薬を TRPC の発現亢進が確認されたマウス心肥大、あるいは心不全モデルに投与し、その作用と分子機序を検討した。

具体的には高血圧性心肥大モデルである GC-A ノックアウトマウス、拡張型心筋症・突然死モデルである dominant-negative NRSF トランスジェニックマウス、アンジオテンシン II 投与による肥大心マウスなどに TRPC 阻害薬である BTP-2 およびより TRPC3 に特異的阻害薬である BTP3 を投与し解析した。また分子機序に関して、TRPC 活性の抑制機構に注目し、心臓ホルモンである心房性および脳性ナトリウム利尿ペプチド (ANP, BNP) の TRPC に対する作用とその意義を解析した。

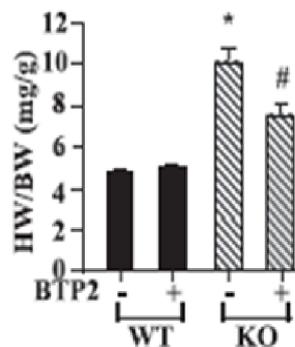


図1、TRPC阻害薬BTP2によるGC-Aノックアウトマウスの心肥大阻害作用

4. 研究成果

GC-A ノックアウトマウス、アンジオテンシン II 投与による肥大心マウスにおいて認められる心肥大反応、心臓線維化を BTP2 および BTP3 はともに有意に抑制することを明らかにし、その分子機序の一部に calcineurin-NFAT 経路の活性化抑制が関与する可能性を見出した(図 1、2)。これらの結果は TRPC 阻害が新規心不全治療・予防薬として有望であることを示す画期的なものであると考えている。

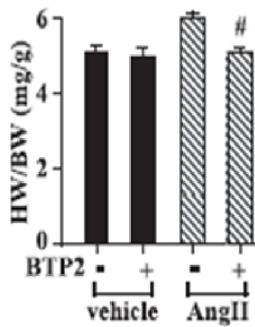


図2. TRPC阻害薬BTP2によるアンジオテンシン I I 誘導性心肥大に対する抑制作用

また TRPC 活性制御機構についても検討し、心臓ホルモンである ANP/BNP がその受容体を介して cGMP-PKG 経路を活性化させ、TRPC3/6 をリン酸化し、イオンチャネル活性を強く抑制することを明らかにした (図 3)。この結果は ANP/BNP の心保護作用の分子機序の一端を明らかにしたと同時に、TRPC3/6 を介した病的シグナルと心保護シグナルとのクロストークを具体的に明らかにしたものであり、さらなる検討が病的心筋リモデリングにおける細胞内シグナルクロストークの解明と新規治療標的の同定につながりうるものと考えている。

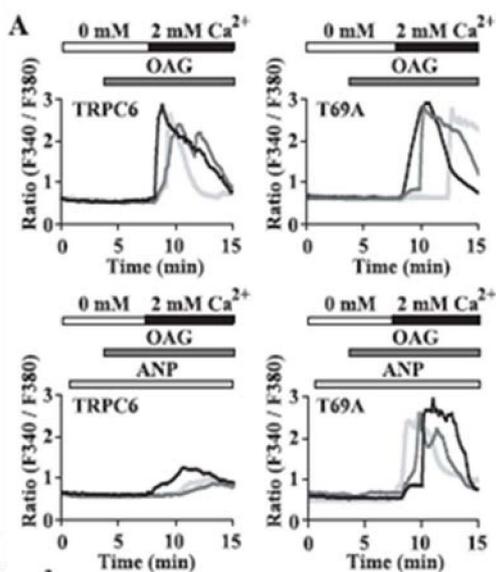


図3. ANPのTRPC6活性抑制作用

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 5 件)

1. Nakagawa Y, Kinoshita H 他14名. p300 plays a critical role in maintaining cardiac mitochondrial function and cell survival in postnatal hearts. **Circulation Research**. 査読あり。105: 746-754.2009
2. Kinoshita H, Kuwahara K 他11名. T-type Ca^{2+} channel blockade prevents sudden death in mice with heart failure. **Circulation**. 査読あり。120:743-752.2009
3. Yasuno S, Kinoshita H 他10名. Endogenous cardiac natriuretic peptides protect the heart in a mouse model of dilated cardiomyopathy and sudden death. **American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology**. 査読あり。296:H1804-1810.2009.
4. Li Y, Kinoshita H 他10名. Natriuretic peptide receptor/guanylyl cyclase-A inhibits angiotensin II type 2 receptor-mediated pro-hypertrophic signaling in the heart. **Endocrinology**. 査読あり。150:3759-3765.2009.
5. Hotta Y, Sasaki S, Konishi M, Kinoshita H, Kuwahara K, Nakao K, Itoh N. Fgf16 is required for cardiomyocyte proliferation in the mouse embryonic heart. **Developmental Dynamics**. 査読あり。237:2947-2954.2008.

〔学会発表〕（計 8 件）

1. 木下秀之. Inhibition of TRPC6 channel activity mediates the anti-hypertrophic effects of natriuretic peptides-guanylyl cyclase-A signaling in the heart. The 73rd Annual Scientific Meeting of The Japanese Circulation Society. 2010.3.7. 京都
2. 木下秀之. ナトリウム利尿ペプチドの抗心肥大作用における TRPC6 抑制の役割. 第 13 回 Molecular Cardiovascular Conference. 2009.9.5. キロロ、北海道
3. 木下秀之. Cardiac natriuretic peptides inhibit TRPC6-mediated pro-hypertrophic signaling. 第 10 回 US-Japan-Asia Dialogue on Cardiovascular Diseases. 2009.8.22. 東京
4. 木下秀之. Cardiac natriuretic peptides inhibit TRPC6-mediated prohypertrophic signaling through cGMP-PKG pathway. 4th International Conference on cGMP. 2009.6.20. Regensburg, Germany
5. 木下秀之. ナトリウム利尿ペプチドの心保護作用における TRPC6 の役割. 第 82 回日本内分泌学会学術総会. 2009.4.23. 前橋、群馬.
6. Kinoshita H. Protein Kinase G-mediated inhibition of TRPC6 channel activity participates in anti-hypertrophic effect of cardiac natriuretic peptides. The 73rd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. 2009.3.20. 大阪市、大阪府.
7. 木下秀之. T 型カルシウムチャンネルは心不全モデルにおいて自律神経機能を介して、

致死性不整脈発症に関与する. 第 12 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会. 2008.11.28. 熊本市、熊本県

8. Kinoshita, K.. Blockade of T-type Ca²⁺ channel corrects imbalance in cardiac autonomic nerve activity and prevents sudden arrhythmic death in chronic heart failure in mice. Basic Cardiovascular Science Conference 2008. 2008.7.28. Keystone, Colorado.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~med2/jpn/research/cardio.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木下秀之 (KINOSHITA HIDEYUKI) 京都大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号 : 30467477