

平成 27 年 6 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670379

研究課題名(和文)新規抗凝固薬のRhoキナーゼ/サイクロフィリンA阻害作用による多面的作用の可能性

研究課題名(英文)The possibility of pleiotropic effects of Novel Oral Anticoagulants (NOAC) on Rho-kinase-cyclophilin A System

研究代表者

下川 宏明(Shimokawa, Hiroaki)

東北大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00235681

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：スタチンは、脂溶性・水溶性に関わらず、血管内皮細胞でSmg-GDSの発現を用量依存的・時間依存的に亢進させた。スタチンにより発現が亢進したSmg-GDSは、低分子量Gタンパクの一つであるRacと複合体を形成し核内へ移行し、そこでproteasomeによりRacが分解されることが分った。一方で、SmgGDSは、もう一つの低分子量GタンパクであるRhoとは結合せず、Rhoは核内には移行せず、細胞質内に留まることが分った。このように、スタチンの有する多面的作用の本質的な分子機構に、SmgGDSが重要な役割を果たしていることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：We tested our hypothesis that small GTP-binding protein GDP dissociation stimulator (SmgGDS) plays a crucial role in the molecular mechanisms of the Rac1 signaling pathway inhibition by 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors (statins) in endothelial cells. In the present study, we demonstrated that statins exert their pleiotropic effects through SmgGDS upregulation with a resultant Rac1 degradation and reduced oxidative stress in animals and humans.

研究分野：医療系薬学

キーワード：シグナル伝達 スタチン 低分子量G蛋白

1. 研究開始当初の背景

スタチンには、コレステロール低下作用によらない「多面的作用」があることが知られているが、その分子機構の詳細は、まだ明らかではない。

2. 研究の目的

本研究では、上記の背景を踏まえ、培養細胞レベルからヒトに及ぶ検討を行い、そのメカニズムの解明を目的とする。

3. 研究の方法

研究方法としては、正常マウスおよび合計12種類の我々独自の遺伝子改変マウスを用いた病態生理の解析に加え、骨髄置換実験や選択的 Rho-kinase 阻害薬の慢性投与実験、張力測定実験等を行った。

4. 研究成果

本研究では、スタチンの「多面的作用」に関する、以下のような点を明らかにした。

(1) スタチンは、脂溶性・水溶性に関わらず、血管内皮細胞で Smg-GDS の発現を用量依存的・時間依存的に亢進させる。

(2) この作用は、GSK-3 β や AK1/PI3K の阻害薬で抑制されるが、メバロン酸代謝経路の抑制では全く影響を受けない。

(3) スタチンにより発現が亢進した Smg-GDS は、低分子量 G タンパクの一つである Rac と複合体を形成し核内へ移行し、そこで proteasome により Rac が分解される。

(4) 一方、SmgGDS は、もう一つの低分子量 G タンパクである Rho とは結合せず、Rho は核内には移行せず、細胞質内に留まる。

(5) Smg-GDS 欠損マウスでは、正常マウスでは認められるアンジオテンシン II による心血管肥大作用に対するスタチンの抑制効果が欠落している。

(6) 正常健康人において、アトルバスタチンやプラバスタチンの投与(2週間)は、末梢血白血球中の SmgGDS 活性を有意に増加させ、興味あることに、その増加は、酸化ストレスマーカーの低下とは相関したが、LDL-コレステロールの低下とは相関しなかった。

以上のように、スタチンの有する多面的作用の本質的な分子機構に、SmgGDS が重要な役割を果たしていることが明らかになった。

本研究を通して、SmgGDS に関する新しい創薬やスタチンの副作用軽減につながる新技術の開発につながることが期待される。

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70件)

(全て査読あり)

1. Satoh K, Satoh T, Kikuchi N, Fukumoto Y, Miyata S, Nakamura K, Ito H, Kadomatsu K, Shimokawa H. Basigin mediates pulmonary hypertension by promoting inflammation and vascular smooth muscle cell proliferation. *Circ Res*. 115:738-750, 2014. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.304563.
2. Ikeda S, Satoh K, Miyata S, Fukumoto Y, Shimokawa H. Crucial role of Rho-kinase in pressure-overload-induced right ventricular hypertrophy and dysfunction in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 34:1260-1271, 2014. doi:10.1161/ATVBAHA.114.303320.
3. Enkhjargal B, Godo S, Sawada A, Nergui S, Saito H, Noda K, Satoh K, Shimokawa H. Endothelial AMPK regulates blood pressure and coronary flow responses through hyperpolarization mechanism in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 34:1505-1513, 2014. doi: 10.1161/ATVBAHA.114.303735.
4. Shimizu T, Fukumoto Y, Tanaka S, Satoh K, Ikeda S, Shimokawa H. Crucial role of ROCK2 in vascular smooth muscle cells for hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 33:2780-2791, 2013. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.301357.
5. Tanaka S, Fukumoto Y, Nochioka K, Minami T, Kudo S, Shiba N, Takai Y, Williams CL, Liao JK, Shimokawa H. Statins exert pleiotropic effects through SmgGDS up-regulation with a resultant Rac1 degradation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 33:1591-600, 2013. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.300922
6. Takagi Y, Yasuda S, Takahashi J, Tsunoda R, Ogata Y, Seki A, Sumiyoshi T, Matsui M, Goto T, Tanabe Y, Sueda S, Sato T, Ogawa S, Kubo N, Momomura S, Ogawa H, Shimokawa H. Clinical implications of provocation tests for coronary artery spasm: safety, arrhythmic complications and prognostic impact -Multicenter registry study of the Japanese Coronary Spasm Association- *Eur Heart J*. 34:258-267, 2013. doi: 10.1093/eurheartj/ehs199.
7. Satoh K, Fukumoto Y, Sugimura K, Miura Y, Aoki T, Nochioka K, Tatebe S, Miyamichi-Yamamoto S, Shimizu T, Osaki S, Takagi Y, Tsuburaya R, Ito Y, Matsumoto Y, Nakayama M, Takeda M, Takahashi J, Ito

K, Yasuda S, Shimokawa H. Plasma cyclophilin A is a novel biomarker for coronary artery disease. *Circ J.* 77:447-455,2013. doi:10.1253/circj.CJ-12-0805

8. Nakajima S, Ohashi J, Sawada A, Noda K, Fukumoto Y, Shimokawa H. Essential role of the bone marrow for microvascular endothelial and metabolic functions in mice. *Circ Res.* 111:87-96, 2012. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.112.270215.
9. Ohashi J, Sawada A, Nakajima S, Noda K, Takaki A, Shimokawa H. The mechanisms for enhanced endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated responses in microvessels in mice. *Circ J.* 76:1768-1779, 2012. doi:10.1253/circj.CJ-12-0197
10. Tsuburaya R, Yasuda S, Shiroto T, Ito Y, Gao JY, Aizawa K, Kikuchi Y, Ito K, Takahashi J, Ishibashi-Ueda H, Shimokawa H. Long-term treatment with nifedipine suppresses coronary hypercontracting responses and inflammatory changes induced by paclitaxel-eluting stent in pigs *in vivo*: Possible involvement of Rho-kinase pathway- *Eur Heart J.* 33:791-799, 2012. doi: 10.1093/eurheartj/ehr145.
11. Satoh K, Shimokawa H. Vascular-derived reactive oxygen species for homeostasis and diseases. *Nitric Oxide.* 25:211-215, 2011. doi: 10.1016/j.niox.2011.04.005.
12. Satoh K, Fukumoto Y, Shimokawa H. Rho-kinase: Important new therapeutic target in cardiovascular diseases. *Am J Physiol.* 301:H287-296,2011. doi: 10.1152/ajpheart.00327.2011.

[学会発表](計 220 件)

1. **Invited Lecture at the 2015 annual scientific meeting of the ATVB Council of the American Heart Association (May 8, 2015, San Francisco, CA, USA)**
*Shimokawa H. Translational research on Rho-kinase in cardiovascular medicine. (Plenary lecture)
2. **Invited lecture at the University of Chicago (November 14, 2014, Chicago, USA)**
*Shimokawa H. Recent progress in medical research on Rho-activated kinase.
3. **European Society Congress 2014 (August 31, Barcelona, Spain)**
*Shimokawa H. 2014 William Harvey Lecture. Importance of coronary

vasomotion abnormalities.

–From bench to bedside- *Eur Heart J.* 35:3180-3193, 2014.

4. **Pharmacology & Physiology International Scientific Congress 2014/Asian Society of Vascular Biology Meeting (August 24, 2014, Kuala Lumpur, Malaysia)**
<Asian Lecture in Vascular Biology>
*Shimokawa H. Light and dark of reactive oxygen species for vascular function.
5. **2014 World Congress of Cardiology (May 5, 2014, Melbourne, Australia)**
<Symposium: Coronary vasospasm: what do we know and why is it important?>
*Shimokawa H. Pathogenesis of vasospastic angina.

[図書](計 6 件)

1. 下川宏明: 日本人の虚血性心疾患に関する基礎的・臨床的研究. 日本医師会雑誌 141:2237-2242,2013. (日本医師会医学賞受賞記念総説)(日本医師会)
2. 下川宏明, 神戸茂雄: 内皮由来過分極因子の医学的意義. 血栓と循環. 20:165-169,2012. (メディカルレビュー社)
3. 下川宏明: 大震災と循環器・呼吸器疾患(序文). 呼吸と循環. 60:895-895,2012. (医学書院)
4. 下川宏明: H₂O₂ が制御する血管弛緩反応. 日本薬理学雑誌. 139:229-235,2012. (日本薬理学会)
5. 下川宏明: 肺高血圧診療の進歩をみる. 特集にあたって. Vascular Medicine. 8:1-2,2012. (先端医学社)
6. 下川宏明: 医学論文の書き方 – Circulation Journal 編集長からのアドバイス- 心臓 43:1414-1416,2011. (日本医学出版)

[産業財産権]

出願状況(計 2 件)

1. 名称: サイクロフィリンAによる心血管疾患の検査方法
発明者: 下川宏明, 佐藤公雄
権利者: 下川宏明, 佐藤公雄 (国立大学法人東北大学)
国際特許出願(全指定); 国際出願番号: PCT/JP2013/79326
国際出願日: 2013年(平成25年)10月29

日

基礎出願（日本）：特願 2012-239615 優先

日：2012年（平成24年）10月30日

国際段階で特許性が認められた請求項

〔請求項1〕ヒト血液検体中のサイクロフィリンAタンパク質の濃度を測定し、器質性冠動脈狭窄、大動脈瘤、肺高血圧症を判定する検査方法。

〔請求項2〕ヒト血液検体中のサイクロフィリンAタンパク質の濃度を測定する手段を含む、器質性冠動脈狭窄、大動脈瘤、肺高血圧症の検査キット。

〔その他〕

ホームページ等

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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

下川 宏明 (SHIMOKAWA HIROAKI)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00235681

(2) 研究分担者

佐藤 公雄 (SATO KIMIO)

東北大学・高度教養教育・学生支援機構・

准教授

研究者番号：80436120