

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26560211

研究課題名(和文)心機能を支える臓器間連関の解明による新しい心不全治療の開発

研究課題名(英文)The maintenance of cardiac structure and function by mechanical feedback system involving multiple organ systems.

研究代表者

片野坂 友紀(Katanosaka, Yuki)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：60432639

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)：本研究では、我々の作製した組織特異的メカノセンサーKOマウスを用いて、心臓におけるメカノセンサー分子の役割と、心臓以外の組織が心機能を支える臓器間連関の分子基盤を解明することを通して、新しい心不全治療ターゲットを確立することを目的とした。この結果、このメカノセンサー分子は、心臓の構造や機能の維持に必須の分子であることが明らかとなった。また、心臓の機能や形は、他の臓器の機械受容能に大きく影響を受けることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The heart has a dynamic compensatory mechanism for haemodynamic stress. However, the molecular details of myocardial mechanotransduction have remained unclear. Recently, we generated the several types of tissue-specific TRPV2-deficient mice. Elimination of TRPV2 from mouse hearts showed severe cardiac dysfunction, with disorganization of the intercalated discs that support mechanical coupling with neighbouring myocytes and myocardial conduction defects. These results suggested that TRPV2 is critical for the maintenance of cardiac structure and function in the basal state and in response to haemodynamic stress. In addition, several types of tissue-specific TRPV2-deficient mice also showed cardiac dysfunction and morphological abnormality. Therefore, cardiac morphology and function is maintained by mechanical feedback system involving multiple-organ system.

研究分野：分子細胞生理

キーワード：メカノセンサー TRPV2 ノックアウトマウス 心臓 心筋細胞 心機能 微細構造 細胞骨格

1. 研究開始当初の背景

心不全は各種病態の終末像であり、発症に至る原因や過程は一様ではないが、唯一、高血圧などの血行動態負荷が、共通の引き金として知られている。このため、我々は、これまで一貫して、心筋メカノセンサーの同定を核として、心臓が血行動態負荷に応じて変容する機構の解明に取り組んできた。この過程で、世界で初めて、心筋メカノセンサー分子を発見することに成功し、病態発症や重篤化における重要性を示してきた。最近になって、このメカノセンサー分子の生体での役割を明らかにするために、心筋細胞のみを対象として任意発現抑制できるノックアウト(KO)マウスを開発したところである。さらに、このメカノセンサーは、生体の様々な組織で広く発現しているために、様々な組織を対象にメカノセンサー分子をKOしたマウスを作製したため、他の臓器機能によって支えられる心機能を解析することが可能となったところである。

2. 研究の目的

我々の体を構成するほぼすべての細胞は、重力、血流・血圧の変動や臓器の動き、細胞分裂で生じる自らの動き等、様々な機械刺激にตอบสนองして生体機能へと反映させているが、体の各組織での機械応答機構は未だ不明な点が多い。我々は世界に先駆けて生体のメカノセンサー分子を発見しており、最近になって体の各組織でこのメカノセンサーを発現抑制できるノックアウト(KO)マウスの開発にも成功したところである。本研究では、我々の作製した組織特異的メカノセンサーKOマウスを用いて、心臓におけるメカノセンサー分子の役割と、心臓以外の組織が心機能を支える臓器間連関の分子

基盤を解明することを通して、新しい心不全治療ターゲットを確立することを目的とした。

3. 研究の方法

本申請研究の核となる部分は、心臓でのメカノセンサーの役割を明らかにするとともに、心肥大や心不全発症・重篤化の過程には、多臓器での機械刺激応答が大きく関与していることを示す具体例を提示することである。このため、我々が既に作成済みの様々な組織特異的メカノセンサーKOマウスの表現型を、分子・細胞・臓器機能の多階層から解析した。これらのメカノセンサーKOマウスで共通するストレス応答やそのシグナル経路、個体の表現型を、短期的・長期的に解析した。最終的に、多臓器での機械刺激応答によって分泌される、心機能や形態に影響を与える血液成分を生化学的に解析した。

(1) 心臓特異的メカノセンサーKOマウスのターゲット組織の表現型を解析した。

それぞれの組織における表現型を、組織学、生理学、生化学的に解析した。

それぞれの個体は、発生、成長、老化における多様なポイントで解析した。

(2) 心臓以外の組織特異的メカノセンサーKOマウスの心臓を組織学的・生理学的に解析した。

これまで、心肥大や心不全発症・重篤化の過程でみられる心形態や心機能の変化は、心筋細胞自身の変容に支えられていると考えられていた。そこで、まず初めに、多臓器からの心形態・機能制御システムが、間違いなく存在することを示すために、心臓以外の組織特異的メカノセンサーKOマウスを用い

て、血行動態負荷に依存した心臓の適応的肥大応答から心不全発症重篤化の過程を、分子・細胞・組織レベルで詳細に解析した。

- (3) メカノセンサーKO 組織間で共通したシグナル経路を解析した。

心臓特異的メカノセンサーKO マウスのアレイ解析を行い、著しく機能が低下したシグナル経路を同定した。また、他の組織でのメカノセンサーKO マウスで、このシグナル経路の活性化状況を調べた。

- (4) 心機能を制御する血液因子を解析した。多臓器のメカニカル応答によって分泌される、心機能や形態を調節する血液因子を生化学的に同定した。KO マウスから調整した培養細胞に伸展刺激を与えて、培養液中に分泌される分子を解析した。

4. 研究成果

心臓特異的メカノセンサーKO マウスの表現型の解析から、常に動いている心臓の構造や機能を維持するためには、このメカノセンサーが必須であることが明らかとなった。心臓以外の組織特異的メカノセンサーKO マウスの表現型を解析した。これらのマウスでは、本来は正常心をもつことが予想されるものの、心機能が低下している系統があった。このような心臓の形態を解析すると、個々の細胞の肥大や筋壊死が観察され、線維化が進んでいた。このことは、心機能が多臓器のメカニカルストレス応答に影響されうることを示唆している。

また、メカノセンサーを KO した組織において、共通に働きが低下したシグナル経路

を発見した。これらのシグナル経路は、心筋細胞の形や機能に影響を与える血中分子の上流経路として位置している。メカノセンサーを KO したそれぞれの組織において、この経路がはたらかなくなっていることが、心機能や形態に影響を与える結果となる可能性が考えられた。

これまで、心形態や心機能は、心筋細胞自身の変容に支えられていると考えられていたために、多臓器における機械受容応答が、心機能に大きな影響を与えるという実験的証拠は、大変インパクトが大きく画期的な治療法の開発も期待ができる。心筋細胞は、終末分化細胞であり生後間もなく分裂能を失う。このため、血行動態の変化に応じた適応的肥大応答は、個々の細胞のサイズや機能の変容に支えられている。さらに心臓に負荷がかかり続けた場合は、左室内腔が広がり収縮性も障害され心不全を発症する。このような心不全への進行過程において、心形態や心機能は、心筋細胞自身の変容に支えられていると考えられていた。臨床においては、神経体液性因子は病態を悪化させることが知られており、これらの生成を抑制する薬剤は心不全治療として確立されているものの、神経体液性因子の生成経路や、心機能調節機序の分子基盤は明らかにされていない。このため、本研究によって、心臓以外の組織のメカニカルストレスに対する応答によって、心機能や形態が制御されるシステム存在するという事実が明らかとなったことは、大変意義深い。今後、多臓器のメカニカルストレス応答に応じて産生される、心臓制御因子を同定し、その作用機序を明らかにする予定である。

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 3件)

Yuki Katanosaka, Keiichiro Iwasaki, Yoshihiro Ujihara, Satomi Takatsu, Koki Nishitsuji, Motoi Kanagawa, Atsushi Sudo, Tatsushi Toda, Kimiaki Katanosaka, Satoshi Mohri, Keiji Naruse. TRPV2 is critical for cardiac function and compensatory hypertrophic response to hemodynamic stress. **Nature Communications**, 2014, DOI:10.1038/ncomms4932 (査読有り)

Junsuke Igarashi, Takeshi Hashimoto, Yasuo Kubota, Kazuyo Shoji, Tokumi Maruyama, Norikazu Sakakibara, Yoh Takuwa, Yoshihiro Ujihara, **Yuki Katanosaka**, Satoshi Mohri, Keiji Naruse, Tetsuo Yamashita, Ryuji Okamoto, Katsuya Hirano, Hiroaki Kosaka, Maki Takata, Ryoji Konishi, Ikuko Tsukamoto. Involvement of S1P1 receptor pathway in angiogenic effects of a novel adenosine-like nucleic acid analog COA-CI in cultured human vascular endothelial cells. **Pharmacology Research and Perspectives**, 2014, DOI:10.1002/prp2.68 (査読有り)

Saito F, Kanagawa M, Ikeda M, Hagiwara H, Masaki T, Ohkuma H, **Katanosaka Y**, Shimizu T, Sonno M, Toda T, Matsumura K. Overexpression of LARGE suppresses muscle regeneration via down-regulation of insulin like growth factor 1 and aggravates muscular dystrophy in mice. **Hum Mol Genet**. 2014, 23(17):4543-58. (査読有り)

〔学会発表〕(計 19件)

(1) 氏原嘉洋, 橋本謙, 成瀬恵治, 毛利聡, **片野坂友紀** 圧力負荷による心不全進

行過程の T 管リモデリングにおける NCX1 の役割, ポスター, 第 93 回日本生理解学会大会, 2016/3/23 札幌コンベンションセンター (札幌)

- (2) Yoshihiro Ujihara, Ken Hashimoto, Satoshi Mohri, Keiji Naruse, **Yuki Katanosaka** 心筋細胞における TRPV2 を介したメカニカルシグナル経路 (Mechanical signaling via TRPV2 in cardiomyocytes), バイオエンジニアリング学会, 2016/1/9, 東京工業大学 (東京)
- (3) **Yuki Katanosaka**, Yoshihiro Ujihara, Satoshi Mohri, Keiji Naruse. TRPV2 is critical for the structural and functional maturation of cardiomyocytes. Annual meeting of American Society of Cell Biology, 2015/12/12-16, San Diego, アメリカ
- (4) 氏原嘉洋・**片野坂友紀** 筋細胞の Mechanotransduction を介したエネルギー管理の可能性. 第 3 回 骨格筋研究会, 2015 年 11 月 24 - 25 日, 九州大学 (福岡)
- (5) 氏原嘉洋・毛利聡・成瀬恵治・**片野坂友紀**, 新生児培養心筋細胞の介在板形成と筋成熟化における TRPV2 の役割, 中国四国生理学会, 2015 年 10 月 24 - 25 日, 米子コンベンションセンター (島根)
- (6) **Yuki Katanosaka**, TRPV2 is critical for cardiac structure and function. Gordon Conference muscle E-C coupling, 2015, June(5/31-6/5), Sunday river (アメリカ)
- (7) Yoshihiro Ujihara, Satoshi Mohri, Keiji Naruse, **Yuki Katanosaka**. TRPV2 is critical for cardiac function in adult. The 54th Annual Conference of Japanese Society for Medical and Biological

- Engineering. 2015年5月7-10日、名古屋国際会議場（名古屋）
- (8) Kimiaki Katanosaka, Kazuhiro Takeda, Yuki Katanosaka, Makiko Kashio, Makoto Tominaga, Kazue Mizumura, The immunohistochemical characterization of the new heat-sensitive primary sensory neuron in mouse dorsal root ganglia. The 92nd Annual Meeting of The Physiological Society of Japan(2015年3月23日) 神戸国際会議場（神戸）
- (9) Yuki Katanosaka, TRPV2 is crucial for cardiac structure and function. (第88回日本薬理学会・生理学会合同国際シンポジウム) 2015.3.19(名古屋)
- (10) 片野坂公明, 高津理美, 水村和枝, 成瀬恵治, 片野坂友紀, 成体一次感覚ニューロンに発現する TRPV2 の機械痛覚における役割, 生理研研究会・痛みと痛覚情動連関の神経機構(2014年12月10-11日) 生理学研究所（岡崎）
- (11) 片野坂友紀, 第二回 若手による骨格筋研究会「メカノトランスダクションを利用した筋細胞の成熟機構」2014.11.5. iPS 研究所（京都）
- (12) 片野坂友紀, 「メカニカルストレスを利用した筋細胞の機能維持」, 第87回日本生化学会、シンポジウム「次世代筋研究の夜明け」, 2014.10.17. 京都国際会議場（京都）
- (13) Saito F, Kanagawa M, Ikeda M, Hagiwara H, Masaki T, Ohkuma H, Katanosaka Y, Shimizu T, Sonno M, Toda T, Matsumura K. Overexpression of LARGE suppresses muscle regeneration via down-regulation of insulin like growth factor 1 and aggravates muscular dystrophy in mice. 第87回日本生化学会、(2014年10月17日) 京都国際会議場（京都）
- (14) Saito F, Kanagawa M, Ikeda M, Hagiwara H, Masaki T, Ohkuma H, Katanosaka Y, Shimizu T, Sonno M, Toda T, Matsumura K. Overexpression of LARGE suppresses muscle regeneration via down-regulation of insulin like growth factor 1 and aggravates muscular dystrophy in mice. 第37回日本神経科学大会（2014年9月11-13日）パシフィコ横浜（横浜）
- (15) Yuki Katanosaka, Translocation of desmin from intercalated discs in TRPV2-deficient myocytes. Intermediate Filaments in Neuromuscular Disorders *Satellite Workshop to ICNMD2014* Sunday July 6th, 2014, Nice Acropolis Convention Center ニース(フランス)
- (16) Yoshihiro Ujihara, Satoshi Mohri, Yuki Katanosaka, The critical role of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger on the maintenance of T-tubule structure, 18th European Bioenergetics Conference (2014年7月15日) University of Lisbon、リスボン（ポルトガル）
- (17) 氏原嘉洋、岩崎慶一郎、高津理美、西辻光希、橋本謙、成瀬恵治、毛利聡、片野坂友紀, 心筋細胞 T 管膜の $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体による局所 Ca^{2+} 制御の重要性, 日本生体医工学会(2014年6月) 仙台国際センター（仙台）
- (18) Yuki Katanosaka, TRPV2 is crucial for cardiac structure and function, Gordon Research Conference (2014年6月7-13日) Colby-Sawyer College (アメリカ)
- (19) Yuki Katanosaka, The critical role of TRPV2 in the maintenance of cardiac structure and function (International symposium of mechanobiology-2014)・福

武ホール（岡山）2014年5月22日

〔図書〕（計 1件）

片野坂友紀「心臓の構造と機能における TRPV2 の役割」循環器内科、科学評論社、2015：78;2; 171-178

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

メカニカルストレスを利用した生体の巧みな適応機構, **片野坂友紀**, 平成 27 年度 第3回 中部大学生命健康科学研究所ヘルスサイエンスヒルズ部門セミナー, 2016/1/6, 国内
論文プレスリリース HP
http://www.okayama-u.ac.jp/up_load_files/soumu-pdf/press26/press-140529-1.pdf

6 . 研究組織

(1)研究代表者

片野坂 友紀 (KATANOSAKA, Yuki)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：60432639

(2)研究分担者

氏原 嘉洋 (UJIHARA, Yoshihiro)

川崎医科大学・医学部・助教

研究者番号：80610021

毛利 聡 (MOHRI, Satoshi)

川崎医科大学・医学部・教授

研究者番号：00294413

片野坂 公明 (KATANOSAKA, Kimiaki)

中部大学・生命健康学科・准教授

研究者番号：50335006