

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860579

研究課題名(和文)カベオラ構成蛋白Cavinファミリーの機能解析による肺高血圧発症機序の解明

研究課題名(英文)The mechanism of pulmonary hypertension through Cavin family protein

研究代表者

中西 直彦(Nakanishi, Naohiko)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：10637911

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：細胞膜カベオラ構成蛋白であるCaveolin-1は肺動脈性肺高血圧症の原因遺伝子の一つである。CavinファミリーとCaveolinファミリーは複合体を形成しているが、肺高血圧症発症・進展における役割は明らかではない。

マウスに低酸素刺激を行うと肺組織でCavin-2/SDPRの発現が亢進していることを見出した。Cavin-2/SDPRノックアウトマウスではwild typeマウスと比較して低酸素刺激での肺高血圧症増悪が認められ、肺組織でのERKリン酸化が亢進していることを明らかにした。以上より、Cavin-2/SDPRがERKシグナルを介して肺高血圧症進展に寄与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Emerging evidence suggests that caveolin-1 (Cav1) is associated with pulmonary arterial hypertension. Cavin regulates caveolar formation and functions together with caveolins. We explored the role of Cavin-2/SDPR in the mechanism of the development of pulmonary hypertension (PH). Cavin-2/SDPR expression was higher in the mouse lung exposed to hypoxia than in that under normoxia. To explore the functional significance of Cavin-2/SDPR in the development of PH, WT and Cavin-2/SDPR knockout mice were exposed to normobaric hypoxia for 4 weeks. After hypoxia, Cavin-2/SDPR knockout mice showed significant aggravation of RVSP elevations and RV hypertrophy compared with wild type mice, suggesting the progression of PH. The phosphorylation of ERK in the lung of Cavin-2/SDPR knockout mice exposed to hypoxia was significantly greater than in the lung of WT mice exposed to hypoxia. These findings suggest the possibility that Cavin-2/SDPR has a role in the development of PH through ERK signaling.

研究分野：肺高血圧症

キーワード：肺高血圧症 カベオラ カベオリン キャビン

1. 研究開始当初の背景

肺動脈性肺高血圧症(PAH)は、肺血管の内膜と中膜の肥厚、血栓などにより肺血管抵抗が上昇し、低酸素血症、右心不全を経て死亡する予後不良な疾患である。症状の出現時にはすでにかなりの器質的変化が進んでしまっており、2000年初頭までは診断確定から平均生存期間は3年と非常に短かったが、PGI₂製剤、エンドセリン受容体拮抗薬、PDE-5阻害薬が治療に使われるようになり、患者の生存率はかなり改善した。しかしながら、現在の治療は肺動脈の弛緩が主体の治療法であり根治的治療とはならず、積極的に肺血管内膜肥厚を縮小させる新たな治療法が必要とされている。

近年、BMP/Smadシグナルを中心としたいくつかの遺伝子変異がPAH発症に重要であることが報告されてきた。遺伝性PAHの原因遺伝子の一つとしてカベオラを構成するCaveolin-1の遺伝子変異が報告された。Caveolin-1は血管内皮および平滑筋細胞のカベオラでシグナル伝達に関わっており、PAH発症に重要なRho/ROCKシグナルを調節している。これら遺伝子変異をターゲットにしたオーダーマイド治療や、遺伝子変異によるシグナル伝達異常を是正する治療がPAHの根治的治療法として切望されている。

SDPR/Cavin-2はカベオラ構成蛋白であるCavinファミリーの一員であり、カベオラの機能を制御している。SDPR/Cavin-2のノックアウトマウスではCaveolin-1ノックアウトと同様に、肺の血管内皮細胞でカベオラの喪失が報告されている。しかしながら、SDPR/Cavin-2の肺高血圧症における役割は未だ明らかではない。

2. 研究の目的

カベオラ構成タンパクであるCaveolinファミリーの1つ、Caveolin-1の遺伝子変異がPAH患者家族から報告され、遺伝性PAHの原因遺伝子の一つとして位置付けられた。Caveolin-1の欠損では、肺血管内皮細胞のカベオラ消失が認められる。Caveolinファミリーと同じく、Cavinファミリーもカベオラ構成タンパクであり、カベオラにて互いにタンパク複合体を形成し、カベオラの構造形成に重要な役割を果たしている。近年、Cavinファミリーの1つであるSDPR/Cavin-2のノックアウトマウスにおいて肺血管内皮細胞のカベオラが選択的に減少していることが明らかになったが、肺におけるSDPR/Cavin-2の役割は依然不明のままである。Cavinファミリーは、PAH発症・進展に重要なRho/ROCKシグナルをはじめ、様々な細胞内シグナル伝達に大きく関与していることから、本研究では、PAHの新規治療ターゲットの探索を視野に、肺におけるSDPR/Cavin-2の役割を解析することを目的とした。

3. 研究の方法

Cre-lox PシステムとFLP-FRTシステムを用いてSDPR/Cavin-2全身ノックアウトマウスを作成し、Wild-type(WT)マウスとCavin-2ノックアウトマウスそれぞれに対して低酸素負荷による肺高血圧モデルを作成し、肺高血圧の程度や肺動脈における内膜肥厚の程度を比較検討した。さらに、肺組織からのmRNAやタンパク発現などを使い、肺高血圧におけるCavinファミリーの役割を詳細に検討した。

4. 研究成果

Caveolin-1ノックアウトマウスでは、通常酸素下飼育でもPAHの発症・進展が認められているが、通常酸素下飼育のSDPR/Cavin-2ノックアウトマウスでは、右室収縮期圧上昇は認めず、PAHは発症していなかった。そのため、SDPR/Cavin-2の肺高血圧症進展における役割を検討する目的で、我々はWTマウスとSDPR/Cavin-2ノックアウトマウスを用いて、低酸素刺激による肺高血圧モデルを作成した。4週間の10%低酸素刺激を行うとSDPR/Cavin-2ノックアウトマウスではWTマウスと比較して右室収縮期圧の上昇が認められ、肺高血圧の増悪が認められた。

電子顕微鏡による肺組織の観察では、SDPR/Cavin-2ノックアウトマウスの肺動脈血管内皮細胞におけるカベオラ数の減少が認められた。ウェスタンブロッティングによる検討では、低酸素刺激にてWTマウスの肺組織でCaveolin-1の発現亢進が認められたが、SDPR/Cavin-2ノックアウトマウスの肺組織では、低酸素刺激によるCaveolin-1の増加が認められなかった。Caveolin-1のノックダウンによりp44/42MAPK(ERK1/2)の核内移行が促進することや、Caveolin-1ノックアウトマウスによるPAHではERK1/2の活性化が報告されていることから、我々はSDPR/Cavin-2ノックアウトマウスの肺組織におけるERK1/2活性を評価した。通常酸素下飼育では、SDPR/Cavin-2ノックアウトマウスとWTマウス肺組織内でのERK1/2のリン酸化に差は認めなかったが、低酸素刺激後のSDPR/Cavin-2ノックアウトマウスの肺組織内では、WTマウスと比較してERK1/2のリン酸化が有意に亢進していることを見出した。

以上の結果より、SDPR/Cavin-2は肺動脈血管内皮細胞におけるCaveolin-1の減少とERK1/2のリン酸化を介して、肺高血圧症進展において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。本研究結果は、SDPR/Cavin-2がPAHの進展抑制に対する治療ターゲットとなる可能性を示しているものと考えられる。

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 1 件)

1. Naito D, Ogata T, Hamaoka T, Nakanishi N, Miyagawa K, Maruyama N, Kasahara T, Taniguchi T, Nishi M, Matoba S, Ueyama T. The coiled-coil domain of MURC/cavin-4 is involved in membrane trafficking of caveolin-3 in cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015 Dec 15;309(12):H2127-36. 査読あり

〔学会発表〕(計 18 件)

1. Nishi M, Ogata T, Naito D, Hamaoka T, Nakanishi N, Miyagawa K, Maruyama N, Kasahara T, Matoba S, Ueyama T. The coiled-coil domain functions as a key region of MURC/Cavin-4 for membrane trafficking of caveolin-3 in cardiomyocytes. The 32nd Annual Meeting of the International Society for Heart Reserch (国際心臓研究学会) Japanese section. 2015年12月10-12日 神戸コンベンションセンター(兵庫県・神戸市)
2. Nakanishi N, Ogata T, Miyagawa K, Hamaoka T, Maruyama N, Kasahara T, Nishi M, Ueyama T. MURC/Cavin-4 deficiency in smooth muscle attenuates pulmonary hypertension. American Heart Association (米国心臓協会) Scientific Session 2015. 2015 Nov 7-11, Orlando, USA.
3. Nishi M, Ogata T, Naito D, Hamaoka T, Nakanishi N, Miyagawa K, Maruyama N, Kasahara T, Ueyama T. MURC/Cavin-4 Requires the Coiled-coil Domain for Membrane Trafficking of Caveolin-3 in Cardiomyocytes. American Heart Association (米国心臓協会) Scientific Session 2015. 2015 Nov 7-11, Orlando, USA.
4. Hamaoka T, Ogata T, Naito D, Nakanishi N, Miyagawa K, Maruyama N, Kasahara T, Nishi M, Shirayama T, Ueyama T. MURC/Cavin-4 Regulates Cardiac Function via β -adrenergic Receptor Signaling. American Heart Association (米国心臓協会) Scientific Session 2015. 2015 Nov 7-11, Orlando, USA.
5. Kasahara T, Ogata T, Maruyama N, Taniguchi T, Hamaoka T, Miyagawa K, Nakanishi N, Ueyama T. Loss of PTRF/Cavin-1 expression leads to progressive cardiomyopathy with ERK1/2 activation and Caveolin-3 reduction. 第79回日本循環器学会学術集会 2015年4月24-26日 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
6. Hamaoka T, Ogata T, Naito D, Nakanishi N, Maruyama N, Kasahara T, Shirayama T, Ueyama T. MURC/Cavin-4 controls cardiac

- function through alterations in β -adrenergic receptor signaling. 第79回日本循環器学会学術集会 2015年4月24-26日 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
7. Maruyama N, Ogata T, Nakanishi N, Hamaoka T, Miyagawa K, Kasahara T, Ueyama T. SDPR/Cavin-2 modulates Akt signaling involved in cardiomyocyte apoptosis via PTEN. 第79回日本循環器学会学術集会 2015年4月24-26日 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
 8. Maruyama N, Ogata T, Nakanishi N, Hamaoka T, Miyagawa K, Kasahara T, Ueyama T. SDPR/Cavin-2-deficient mice exhibit concentric LV hypertrophy with ERK1/2 activation and Caveolin-3 reduction. 第79回日本循環器学会学術集会 2015年4月24-26日 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
 9. Nakanishi N, Ogata T, Miyagawa K, Hamaoka T, Maruyama N, Kasahara T, Ueyama T. Smooth muscle-specific deletion of MURC/Cavin-4 alleviates pulmonary arterial hypertension. American Heart Association (米国心臓協会) Scientific Session 2014. 2014 Nov 15-19, Chicago, USA.
 10. Kasahara T, Ogata T, Maruyama N, Taniguchi T, Hamaoka T, Miyagawa K, Nakanishi N, Ueyama T. PTRF/Cavin-1 knock-out mice develop a progressive cardiomyopathy with ERK1/2 hyperactivation and caveolin-3 reduction. American Heart Association (米国心臓協会) Scientific Session 2014. 2014 Nov 15-19, Chicago, USA.
 11. Maruyama N, Ogata T, Nakanishi N, Hamaoka T, Miyagawa K, Kasahara T, Ueyama T. SDPR/Cavin-2 modulates Akt signaling involved in regulation of hypertrophy and apoptosis in cardiomyocytes. American Heart Association (米国心臓協会) Scientific Session 2014. 2014 Nov 15-19, Chicago, USA.
 12. Hamaoka T, Ogata T, Naito D, Nakanishi N, Miyagawa K, Maruyama N, Kasahara T, Shirayama T, Ueyama T. MURC/Cavin-4 regulates cardiac function through modulation of caveolin-3 function in β -adrenergic receptor signaling. American Heart Association (米国心臓協会) Scientific Session 2014. 2014 Nov 15-19, Chicago, USA.
 13. Miyagawa K, Ogata T, Nakanishi N, Hamaoka T, Maruyama N, Kasahara T, Ueyama T. MURC/cavin-4 aggravates abdominal aortic aneurysm with JNK overactivation in vascular smooth muscle cells. American Heart Association (米国心

- 臓協会) Scientific Session 2014. 2014 Nov 15-19, Chicago, USA.
14. Nakanishi N, Ogata T, Maruyama N, Miyagawa K, Hamaoka T, Ueyama T. MURC/Cavin-4 deficiency alleviates pulmonary arterial hypertension. The 18th International Vascular Biology Meeting. 2014 Apr 14-17, Miyakomesse (Sakyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto), Japan.
 15. Nakanishi N, Ogata T, Maruyama N, Miyagawa K, Hamaoka T, Ueyama T. MURC/Cavin-4 deficiency alleviates pulmonary arterial hypertension. 第78回日本循環器学会学術集会 2014年3月21-23日 東京国際フォーラム(東京都・千代田区)
 16. Miyagawa K, Ogata T, Nakanishi N, Hamaoka T, Maruyama N, Ueyama T. Genetic deletion of MURC/cavin-4 aggravates abdominal aortic aneurysm. 第78回日本循環器学会学術集会 2014年3月21-23日 東京国際フォーラム(東京都・千代田区)
 17. Maruyama N, Ogata T, Nakanishi N, Miyagawa K, Hamaoka T, Ueyama T. SDPR/Cavin-2 prevents cardiomyocyte hypertrophy through the inhibition of Akt signaling. 第78回日本循環器学会学術集会 2014年3月21-23日 東京国際フォーラム(東京都・千代田区)
 18. Hamaoka T, Naito D, Ogata T, Nakanishi N, Miyagawa K, Maruyama N, T Shirayama, Ueyama T. MURC/cavin-4 modulates caveolin-3 function and regulates cardiac function. 第78回日本循環器学会学術集会 2014年3月21-23日 東京国際フォーラム(東京都・千代田区)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中西 直彦 (Nakanishi Naohiko)
京都府立医科大学 医学研究科 循環器
内科学 助教
研究者番号：10637911

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：