

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15046

研究課題名(和文) サイクロフィリンA受容体を介した新規凝固薬の多面的作用の分子機序の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the molecular mechanism of the multifaceted action of DOACs through cyclophilin A receptor

研究代表者

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

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)：新規抗凝固薬(DOACs)によるサイクロフィリンA(CyPA)とその受容体Basiginの阻害作用を介した多面的作用の可能性について基礎的・臨床的な観点で検討を進めている。これまで全く知られていなかった、CyPA-Basigin系の著明な炎症促進作用や心血管疾患促進機構における重要性が判明し、学会発表や論文報告準備を進めている。DOACsの全く新しい薬理作用の可能性について、非常に興味深い知見が得られつつある。以上の最新の研究成果を、国内外の学会やシンポジウムで報告した(日本循環器学会総会シンポジウム、米国心臓病学会議、欧州心臓学会議)。引き続き、機序の解明を進めていく。

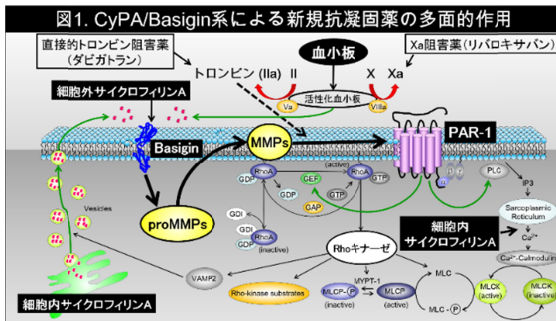
研究成果の概要(英文)：We are studying the possibility of multifaceted action via inhibitory action of cyclophilin A (CyPA) and its receptor, basigin, by new anticoagulants (DOACs). The significance in the proinflammatory action of the CyPA-Basigin system and the vascular remodeling mechanism, which has not been known at all, has been elucidated, and preparations for publication of the paper are underway. Very interesting findings have been obtained on the possibility of new pharmacological actions of DOACs. We reported these findings and results at international scientific conferences and symposiums both in Japan and abroad (Symposium in the Japanese Circulation Society Annual Scientific meeting, the American Heart Association Annual Scientific meeting, and the European Society of Cardiology Annual Scientific meeting).

研究分野：医歯薬学

キーワード：新規抗凝固薬 サイクロフィリンA 酸化ストレス 血管内皮障害 動脈硬化 血小板活性化 血栓塞栓症 冠動脈疾患

1. 研究開始当初の背景

トロンピン (IIa 因子) は凝固反応の中心的な存在であり、血管内皮の Rho キナーゼを活性化する (Lüscher T et al. *Circ Res*. 2001)。Rho キナーゼの活性化は、eNOS 抑制やサイクリフィリン A (CyPA) 分泌、接着因子発現や炎症細胞接着など血管内皮障害や血管炎症促進的に作用する。また、活性化血小板からは CyPA が分泌され (Coppinger JA, et al. *Blood* 2004)、CyPA は血小板活性化や動脈血栓形成に必須であることも証明されている (Elvers M, et al. *Blood* 2012)。従って、血管内皮と血小板のトロンピン Rho キナーゼ活性化 CyPA 分泌 CyPA 受容体 (Basigin) 刺激は血小板活性化や血栓形成初期に重要な制御機構を担い、血栓塞栓性疾患の新たな治療標的になりうる (図 1)。



新規抗凝固薬は動物モデルの動脈硬化進行やプラーク破綻を抑制することが分かっているが、その作用が CyPA/Basigin 抑制作用により発揮されている可能性がある。実際、細胞外 CyPA が eNOS 低下や接着因子発現を介して血管内皮障害性に働き動脈硬化を促進すること (*J Exp Med*. 2011)、血漿中 CyPA 濃度はヒト冠動脈疾患の重症度や長期生命予後予測、治療評価に有用であることを証明した (Satoh K, et al. *Circ J*. 2013, *Eur Heart J*. 2014)。

2. 研究の目的

新規抗凝固薬である直接的トロンピン阻害薬や Xa 阻害薬による CyPA とその受容体 Basigin の阻害作用を介した多面的作用の可能性について検討する。本研究では、これまで全く解明されていない、CyPA-Basigin 系の血小板機能・凝固系制御機構における意義および血管リモデリング機構における役割の解明を、新規抗凝固薬の新規薬理作用の可能性を通じて明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

新規抗凝固薬に CyPA/Basigin 系抑制を介した多面的作用を有するという我々の作業仮

説を検証する目的で、CyPA 欠損マウスおよび組織特異的 Rho キナーゼ欠損マウスに加えて、組織特異的 Basigin 遺伝子改変マウスを用いて検証を行った。

4. 研究成果

新規抗凝固薬による CyPA とその受容体 Basigin の阻害作用を介した多面的作用の可能性について検討を進めている。これまで全く知られていなかった、CyPA-Basigin 系の炎症促進作用や血管リモデリング機構における重要性が判明し、論文報告準備を進めている。新規抗凝固薬の新規薬理作用の可能性について非常に興味深い知見が得られている。以上の研究成果を、国内外の学会やシンポジウムで報告した (日本循環器学会総会シンポジウム、米国心臓病学会議、欧州心臓学会議)。

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 23 件) 全て査読あり

1. Satoh K. AMPK α 2 regulates hypoxia-inducible factor-1 α stability and neutrophil survival to promote vascular repair after ischemia. *Circ Res*. 120:8-10, 2017. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.310217
2. Satoh T, Satoh K, Yaoita N, Kikuchi N, Omura J, Kurosawa R, Numano K, Md. Elias-Al-Mamun, Mohammad Abdul Hai Siddique, Sunamura S, Nogi M, Suzuki K, Miyata S, Morser J, Shimokawa H. Activated TAFI promotes the development of chronic thromboembolic pulmonary hypertension -A possible novel therapeutic target- *Circ Res*. 120:1246-1262, 2017. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.310640
3. Ohtsuki T, Satoh K, Omura J, Kikuchi N, Satoh T, Kurosawa R, Nogi M, Sunamura S, Yaoita N, Aoki T, Tatebe S, Sugimura K, Takahashi J, Miyata S, Shimokawa H. Prognostic impacts of plasma levels of cyclophilin A in patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 37:685-693, 2017. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.308986
4. Kina-Tanada M, Sakanashi M, Tanimoto A, Kaname T, Matsuzaki T, Noguchi K, Uchida T, Nakasone J, Kozuka C, Ishida M, Kubota H, Taira Y, Totsuka Y, Kina SI, Sunakawa H, Omura J, Satoh K, Shimokawa H, Yanagihara N, Maeda S, Ohya Y, Matsushita M, Masuzaki H, Arasaki A, Tsutsui M. Long-term dietary nitrite and nitrate deficiency causes the

- metabolic syndrome, endothelial dysfunction and cardiovascular death in mice. *Diabetologia*. 2017 (in press). doi: 10.1007/s00125-017-4259-6
5. Satake Y, **Satoh K**, Nogi M, Omura J, Godo S, Miyata S, Saito H, Tanaka S, Ikumi Y, Yamashita S, Kaiho Y, Tsutsui M, Arai Y, Shimokawa H. Crucial roles of nitric oxide synthases in β -adrenoceptor mediated bladder relaxation in mice. *Am J Physiol*. 312:F33-F42, 2017. doi: 10.1152/ajprenal.00137.2016
 6. Omura J, **Satoh K**, Kikuchi N, Satoh T, Kurosawa R, Nogi M, Otsuki T, Koza K, Numano K, Suzuki K, Sunamura S, Tatebe S, Aoki T, Sugimura K, Miyata S, Hoshikawa Y, Okada Y, Shimokawa H. Protective roles of endothelial AMP-activated protein kinase against hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *Circ Res*. 119:197-209, 2016. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.308178
 7. Suzuki K, **Satoh K**, Ikeda S, Sunamura S, Otsuki T, Satoh T, Kikuchi N, Omura J, Kurosawa R, Nogi M, Numano K, Sugimura K, Aoki T, Tatebe S, Miyata S, Mukherjee R, Spinale FG, Kadomatsu K, Shimokawa H. Basigin promotes cardiac fibrosis and failure in response to chronic pressure-overload in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 36:636-646, 2016. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.306686
 8. Kudo S, **Satoh K**, Nogi M, Suzuki K, Sunamura S, Omura J, Kikuchi N, Kurosawa R, Satoh T, Minami T, Ikeda S, Miyata S, Shimokawa H. SmgGDS as a crucial mediator of the inhibitory effects of statins on cardiac hypertrophy and fibrosis -Novel mechanism of the pleiotropic effects of statins- *Hypertension* 67:878-889, 2016. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.07089
 9. Yaoita N, **Satoh K**, Satoh T, Sugimura K, Tatebe S, Yamamoto S, Aoki T, Miura M, Miyata S, Kawamura T, Horiuchi H, Fukumoto Y, Shimokawa H. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 36: 1293-1301, 2016. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.306845
 10. Yaoita N, **Satoh K**, Shimokawa H. Novel therapeutic targets of pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 36: e97-e102, 2016. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.308263
 11. Minami T, **Satoh K**, Nogi M, Kudo S, Miyata S, Tanaka S, Shimokawa H. Statins up-regulate SmgGDS through β 1-integrin/Akt1 pathway in endothelial cells. *Cardiovasc Res*. 109:151-161, 2016. doi: 10.1093/cvr/cvv253
 12. Shimokawa H, Sunamura S, **Satoh K**. RhoA/Rho-kinase in the cardiovascular system. *Circ Res*. 118:352-366, 2016. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306532
 13. Jiang L, Konishi H, Nurwidya F, **Satoh K**, Takahashi F, Ebinuma H, Fujimura K, Takasu K, Jiang M, Shimokawa H, Bujo H, Daida H. Deletion of LR11 attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation with medial thickening in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 36:1972-1979, 2016. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.307900
 14. Tatebe S, Sugimura K, Aoki T, Miura M, Nochioka K, Miyamichi-Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, Sato H, **Satoh K**, Fukumoto Y, Shimokawa H. Multiple beneficial effects of balloon pulmonary angioplasty in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circ J*. 80:980-988, 2016. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1212
 15. Sato H, Ota H, Sugimura K, Aoki T, Tatebe S, Miura M, Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, **Satoh K**, Takase K, Shimokawa H. Balloon pulmonary angioplasty improves biventricular functions and pulmonary flow in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circ J*. 80:1470-1477, 2016. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1187
 16. Aoki T, Sugimura K, Nochioka K, Miura M, Tatebe S, Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, Sato H, Koza K, Miyata S, **Satoh K**, Shimokawa H. Effects of balloon pulmonary angioplasty on oxygenation in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension - Importance of intrapulmonary shunt. *Circ J*. 80: 2227-2234, 2016. doi: 10.1253/circj.CJ-16-0254
 17. Sato H, Miura M, Yaoita N, Yamamoto S, Tatebe S, Aoki T, **Satoh K**, Ota H, Takase K, Sugimura K, Shimokawa H. Pulmonary arterial hypertension associated with congenital portosystemic shunts treated with transcatheter embolization and pulmonary vasodilators. *Intern Med*. 55:2429-2432, 2016. doi: 10.2169/internalmedicine.55.6557
 18. Takahashi J, **Satoh K**, Fukuda K, Sugimura K, Matsumoto Y, Nakano M, Tsuburaya R, Aoki T, Hao K, Nishimiya K, Ito K, Sakata Y, Shimokawa H. Overview of the 80th annual scientific meeting of the Japanese Circulation Society - The past, present and future of cardiovascular medicine in Japan - *Circ J*. 80:1689-1694, 2016. doi: 10.1253/circj.CJ-16-0644

19. **Satoh K.** Kikuchi N, Kurosawa R, Shimokawa H. PDE1C negatively regulates growth factor receptor degradation and promotes vascular smooth muscle cell proliferation. *Circ Res.* 116:1098-1100, 2015. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306139
20. **Satoh K.** Cyclophilin A in cardiovascular homeostasis and diseases. *Tohoku J Exp Med.* 235:1-15, 2015. doi: 10.1620/tjem.235.1
21. Ellawindy A, **Satoh K.** Sunamura S, Kikuchi N, Suzuki K, Minami T, Ikeda S, Tanaka S, Shimizu T, Enkhjargal B, Miyata S, Taguchi Y, Handoh T, Kobayashi K, Kobayashi K, Nakayama K, Miura M, Shimokawa H. Rho-kinase inhibition during early cardiac development causes arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 35:2172-2184, 2015. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.305872
22. Shimokawa H, **Satoh K.** 2015 ATVB plenary lecture: translational research on Rho-kinase in cardiovascular medicine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 35:1756-1769, 2015. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.305353
23. Shimokawa H, **Satoh K.** Light and dark of reactive oxygen species for vascular function. *J Cardiovasc Pharmacol.* 65:412-418, 2015. doi: 10.1097/FJC.0000000000000159

〔学会発表〕(計 157 件)

1. 第 46 回日本心臓血管作動物質学会シンポジウム:心臓血管作動物質の橋渡し研究: **佐藤公雄**, 下川宏明: 肺高血圧症の新規病因蛋白に着目した早期診断法と新規治療薬開発の可能性 (2 月 10 日~11 日, 2017 年, 那覇)
2. 第 64 回日本心臓病学会学術集会シンポジウム“日本から発信する肺高血圧診療” **佐藤公雄**, 下川宏明. 肺高血圧症の全く新しい病因蛋白に着目した早期診断と治療薬開発の可能性 (2016 年 9 月 25 日, 東京)
3. 第 64 回日本心臓病学会学術集会“山口徹と学ぶ循環器病の最近の治療 3.肺高血圧” **佐藤公雄**, 下川宏明. 肺高血圧症の最新の薬物治療と今後の治療薬開発 (2016 年 9 月 24 日, 東京)
4. 第 64 回日本心臓病学会学術集会特別企画“残余リスク減少のための新たなバイオマーカー探し” **佐藤公雄**, 下川宏明. LDL-C に依存しない全く新しい新規病因蛋白とバイオマーカーの臨床応用 (2016 年 9 月 23 日, 東京)
5. 第 27 回日本緑内障学会学術集会シンポジウム(開拓!眼血流研究の未来) **佐藤公雄**, 下

川宏明. 心血管疾患発症の分子機構における Rho-kinase の役割 (2016 年 9 月 19 日, 横浜)

6. 第 80 回日本循環器学会学術集会プレナリーセッション(PL08:Progress and Future in Pulmonary Hypertension Clinic) **Satoh K.** Cyclophilin A and Its Receptor Basigin Promote Vascular Smooth Muscle Proliferation and Pulmonary Hypertension —Possible Novel Therapeutic Target Pathway— (2016 年 3 月 20 日, 仙台)
7. 第 4 回日本肺循環学会・第 3 回日本肺高血圧学会 合同学術集会シンポジウム: **佐藤公雄**. サイクロフィリン A による肺高血圧症促進機構とその臨床応用 (2015 年 10 月 4 日, 東京)
8. 第 40 回日本微小循環学会主催 サテライトシンポジウム: **佐藤公雄**. Role of cyclophilin A in cardiovascular system (2015 年 9 月 24 日, 京都)

〔図書〕(計 6 件)

1. **Satoh K.**, Sugimura K, Shimokawa H. Rho-kinase as a therapeutic target for pulmonary hypertension. In: Fukumoto Y (ed), *Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension. From Bench to Bedside*, pp. 67-76. Springer Nature, Singapore, 2017.
2. Shimokawa H, **Satoh K.** Reactive Oxygen Species in Cardiovascular System. *Reactive Oxygen Species in Biology and Human Health.* (book chapter) June 1, 2016 by CRC Press, Reference - 543 Pages - 32 Color & 73 B/W Illustrations, ISBN 9781498735452 - CAT# K26429, pp. 122-131.
3. **佐藤公雄**, 下川 宏明. 「動脈硬化予防」メディカルビュー社「動脈硬化の臨床評価指標」VoL.15(No.4): p.82~84, 2016 年 12 月.
4. **佐藤公雄**. 南江堂「循環器専門医」「喫煙と循環器疾患 up to date: 喫煙による酸化ストレスと動脈硬化性疾患」VoL.24(No.1): p.134~138, 2016 年 2 月.
5. **Satoh K.**, Shimokawa H. Cyclophilin A: Novel biomarker for oxidative stress and cardiovascular diseases. In: Preedy VR, Patel VB (eds), *General Methods in Biomarker Research and Their Applications*, pp. 405-438, Springer Reference, London, 2015.
6. **佐藤公雄**, 下川 宏明. 科学評論社「循環器内科」特集/循環器疾患と分子遺伝学 肺

高血圧症の分子基盤 第 77 巻第 4 号 p.285
~ 291 (2015 年 4 月)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 6 件)

名称：肺高血圧症の検査方法
発明者：下川宏明、佐藤公雄、菊地順裕
権利者：下川宏明、佐藤公雄、菊地順裕 (国立大学法人東北大学)
種類：特許
番号：PCT/JP2015/60198 (WO2015/163098)
出願年月日：2015 年 (平成 27 年) 4 月 17 日
国内外の別：国内外

名称：セレノプロテイン P 活性阻害作用を有する成分を含有する、肺高血圧症の予防又は治療剤
発明者：下川宏明、佐藤公雄、菊地順裕
権利者：下川宏明、佐藤公雄、菊地順裕 (国立大学法人東北大学)
種類：特許
番号：特願 2016-121034, PCT/JP2017/ 12713
出願年月日：2016 年 (平成 28 年) 6 月 17 日
国内外の別：国内外

名称：生薬成分を含む肺高血圧症の予防又は治療剤
発明者：下川宏明、徳山英利、植田浩史、青木淳賢、土井隆行、可野邦行、佐藤公雄、黒澤亮
権利者：下川宏明、徳山英利、植田浩史、青木淳賢、土井隆行、可野邦行、佐藤公雄、黒澤亮 (国立大学法人東北大学)
種類：特許
番号：特願 2016-120901, PCT/JP2017/ 12717
出願年月日：2016 年 (平成 28 年) 6 月 17 日
国内外の別：国内外

名称：不飽和複素 5 員環含有化合物を含有する肺高血圧症の予防又は治療剤
発明者：下川宏明、大島吉輝、菊地晴久、青木淳賢、土井隆行、可野邦行、佐藤公雄、黒澤亮
権利者：下川宏明、大島吉輝、菊地晴久、青木淳賢、土井隆行、可野邦行、佐藤公雄、黒澤亮 (国立大学法人東北大学)
種類：特許
番号：特願 2016-140474
出願年月日：2016 年 (平成 28 年) 7 月 15 日
国内外の別：国内

名称：PPAR アゴニストを含有する、肺高血圧症の予防又は治療剤
発明者：下川宏明、佐藤公雄、佐藤大樹
権利者：下川宏明、佐藤公雄、佐藤大樹 (国立大学法人東北大学)
種類：特許
番号：特願 2016-141942

出願年月日：2016 年 (平成 28 年) 7 月 20 日
国内外の別：国内

名称：生薬成分を含む肺高血圧症の予防又は治療剤
発明者：下川宏明、佐藤公雄、黒澤亮
権利者：下川宏明、佐藤公雄、黒澤亮 (国立大学法人東北大学)
種類：特許
番号：特願 2016-160588
出願年月日：2016 年 (平成 28 年) 8 月 18 日
国内外の別：国内

〔その他〕
ホームページ
<http://www.cardio.med.tohoku.ac.jp/index.html>

6. 研究組織
- (1) 研究代表者
佐藤 公雄 (SATO KIMIO)
東北大学・高等教養教育・学生支援機構
・准教授
研究者番号：80436120
- (2) 研究分担者
宮田 敏 (MIYATA SATOSHI)
東北大学・医学系研究科
・准教授
研究者番号：60360343