

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09598

研究課題名(和文) 心血管形態形成および病態における内皮分化制御の分子機構

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of regulation of endothelial differentiation in cardiovascular morphogenesis and pathogenesis

研究代表者

岩田 裕子 (Iwata, Yuko)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号：80171908

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：心血管形態形成及び病態における機能未知蛋白質の生理的・病態的役割を明らかにするため相互作用する可能性の高いメカニカル刺激感受性イオン輸送体について研究をおこなった。メカニカル刺激感受性イオン輸送体の活性化法を見つけ、阻害剤を同定した。また阻害抗体を作成しエピトープを同定した。内皮分化におけるイオン輸送体の役割を明らかにするため内皮間葉分化転換に対する阻害抗体の作用を調べた。阻害抗体処理により、高転移性ミエローマ細胞をマウスに静注して誘導させる肺への癌転移及び心筋症における線維化を抑制した。これらの実験よりこのイオン輸送体は内皮分化に重要な役割を果たしていることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

内皮分化は形態形成だけでなく病態進展においても重要な働きをしている。イオン輸送体特異的阻害抗体を作成し、そのエピトープを同定した。この阻害抗体により、癌転移、心筋症線維化が抑制されたことは、このイオン輸送体が病態進展に重要な働きをしていることを示唆しており、病態治療への一助となると思われる。

研究成果の概要(英文)：In order to clarify the physiological and pathological roles of the protein whose function is not known in cardiovascular morphogenesis and pathological conditions, we investigated one of the mechano-sensitive ion transporters with a high possibility of its interaction. We found a method to activate the mechano-sensitive ion transporter and identified inhibitors. In addition, an inhibitory antibody was produced and the epitope was identified. To elucidate the role of ion transporters in endothelial differentiation, we examined the effect of the inhibitory antibodies on endothelial mesenchymal transition. The inhibitory antibody treatment suppressed the metastasis of lung cancer induced by intravenously injecting highly metastatic myeloma cells to mice and the cardiac fibrosis in cardiomyopathic animal models. These experiments revealed that this ion transporter plays an important role in endothelial differentiation.

研究分野：分子生理学

キーワード：線維化抑制

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心血管系の発生及び形態形成は胎児の発育に必須である。また成人においても、虚血性心疾患や癌における血管新生・内皮分化は疾患抑制にも増悪にも働く重要な現象である。同様に、伸展や血流などのメカニカル刺激は発生・形態形成に重要であるが、過度の刺激は病態悪化の原因に繋がる。近年同定された機能未知蛋白質の欠損マウスは心血管形成異常により胎生致死になることが判明したが、その詳しいメカニズムは不明である。この蛋白質はイオン輸送体と結合して機能することが示唆されているが詳細は不明である。

2. 研究の目的

心血管形態形成及び病態における機能未知蛋白質の生理的・病態的役割をその結合イオン輸送体解析から明らかにすることである。そのためまず機能未知蛋白質結合イオン輸送体を同定・確定し、その組織発現部位、細胞内局在及び発現機構を明らかにするとともに、Ca²⁺およびメカニカルシグナリングに注目した内皮分化の分子機構解析を行う。

3. 研究の方法

機能未知蛋白質の抗体を作成し、メカニカル刺激感受性イオン輸送体と共沈するか否かにより相互作用する蛋白を同定した。内皮間葉分化転換を効率よく観察する系として高転移性ミエローマ細胞をマウス尾静脈に静注し、肺への癌転移モデルを作製し利用した。ジストロフィン複合体構成因子の1つ、デルターサルコグリカン欠損の心筋症ハムスターとコントロールハムスター、糖鎖異常の心筋症マウス及びコントロールとして正常マウスを用いてイオン輸送体阻害抗体の安全性と病態改善効果を検討した。阻害抗体は週1回で腹腔内投与(0.25-2 mg/kg)し2週間後、安全試験では8週間後非投与群と比較検討した。血圧を血圧計、心収縮能および心機能を心超音波・心電図により測定した。生化学的指標として血漿クレアチンキナーゼ活性、心不全マーカー(心房性利尿ホルモン、脳性利尿ホルモン)心筋傷害マーカー(心筋トロポニンI)の血漿中含量を測定した。摘出心筋の形態的評価・線維化評価は切片のヘマトキシリン・エオジン染色、マッソントリクローム染色像より解析した。心筋細胞の微細構造の解析は電子顕微鏡により行った。分子生物学的手法を用いてDNAアレイ及びその解析を行った。

4. 研究成果

(1) 機能未知蛋白質に結合するイオン輸送体の同定

いくつかのメカニカル刺激感受性イオン輸送体と機能未知蛋白質との結合の有無を機能未知蛋白質の発現が最も多い肺組織を用いて免疫沈降法を用いて調べた。機能未知蛋白質の全長、N末端またはC末端領域の蛋白質とグルタチオンSトランスフェラーゼまたはマルトース結合蛋白質との融合蛋白質を作成し、同定されたイオン輸送体との結合を確認した。両者は肺の血管内皮細胞において共局在していた。同定されたイオン輸送体と機能未知蛋白質をHEK293細胞に強制発現させたところ、両者は局在が一部一致していた。

(2) イオン輸送体阻害剤スクリーニング法の開発と阻害抗体の作成

メカニカル刺激感受性イオン輸送体のメカニカル刺激以外の活性化法を見つけるとともに、阻害薬のスクリーニングをおこない、阻害剤候補を同定した。また阻害抗体を作成した。抗体のエピトープを同定した。

(3) イオン輸送体と内皮分化

内皮分化におけるイオン輸送体の役割を明らかにするため内皮間葉分化転換を効率よく観察す

る系を立ち上げた。高転移性ミエローマ細胞をマウス尾静脈に静注し、肺への癌転移モデルを作製し、イオン輸送体阻害抗体を用いて癌転移の抑制効果の有無を検討したところ、有意に抑制することが判明した。イオン輸送体阻害抗体は心筋症心筋機能改善とともに心筋症動物の線維化抑制効果も有することが判明した。

以上の研究成果はメカニカル刺激感受性イオン輸送体が内皮分化、特に癌転移及び心筋線維化に重要な役割を果たしていることを示唆した。内皮分化の分子機構におけるイオン輸送体の役割について機能未知蛋白質との関係も含めてさらに解析していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Masubuchi H, Ueno M, Maeno T, Yamaguchi K, Hara K, Sunaga H, Matsui H, Nagasawa M, Kojima I, Iwata Y, Wakabayashi S, Kurabayashi M	4. 巻 19
2. 論文標題 Reduced transient receptor potential vanilloid 2 expression in alveolar macrophages causes COPD in mice through impaired phagocytic activity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Pulm Med	6. 最初と最後の頁 70-80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12890-019-0821-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsumura T, Iwata Y, Asakura M	4. 巻 57
2. 論文標題 Reply to " The Effects of Trannilast on Cardiomyopathy in Becker Muscular Dystrophy Requires Profound Cardiac and Neurologic Evaluations	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Intern Med	6. 最初と最後の頁 2101-2102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.0592-17	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Iwata Y, Katayama Y, Okuno Y, Wakabayashi S.	4. 巻 9
2. 論文標題 Novel inhibitor candidates of TRPV2 prevent damage of dystrophic myocytes and ameliorate against dilated cardiomyopathy in a hamster model	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 1 4 0 4 2 - 1 4 0 5 7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.24449. eCollection 2018 Mar 6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsumura T, Matsui M, Iwata Y, Asakura M, Saito T, Fujimura H, Sakoda S	4. 巻 57
2. 論文標題 A Pilot Study of Tranilast for Cardiomyopathy of Muscular Dystrophy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 3 1 1 - 3 1 8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.8651-16. Epub 2017 Nov 1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsumura T, Iwata Y, Asakura M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Reply to " The Effects of Tranilast on Cardiomyopathy in Becker Muscular Dystrophy Requires Profound Cardiac and Neurologic Evaluations".	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.0592-17.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 岩田 裕子	4. 巻 1
2. 論文標題 ストレッチ感受性Ca2+透過チャネルTRPV2を標的とした筋変性治療薬の開発	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 別冊・医学のあゆみ 筋ジストロフィー・筋疾患-最近の進歩	6. 最初と最後の頁 6 4 - 7 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hudoyo Athanasius Wrin, Fukuda Hiroki, Imazu Miki, Shindo Kazuhiro, Fu Haiying, Iwata Yuko, Ito Shin, Kitakaze Masafumi	4. 巻 42
2. 論文標題 Heart rate determines the beneficial effects of beta-blockers on cardiovascular outcomes in patients with heart failure and atrial fibrillation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 1716 ~ 1725
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1038/s41440-019-0289-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwata Yuko, Matsumura Tsuyoshi	4. 巻 20
2. 論文標題 Blockade of TRPV2 is a Novel Therapy for Cardiomyopathy in Muscular Dystrophy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3844 ~ 3844
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.3390/ijms20163844	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Iwata Yuko, Wakabayashi Shigeo, Ito Shin, Kitakaze Masafumi	4. 巻 100
2. 論文標題 Production of TRPV2-targeting functional antibody ameliorating dilated cardiomyopathy and muscular dystrophy in animal models	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	6. 最初と最後の頁 324 ~ 337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1038/s41374-019-0363-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Iwata Yuko, Ito Shin, Wakabayashi Shigeo, Kitakaze Masafumi	4. 巻 100
2. 論文標題 TRPV2 channel as a possible drug target for the treatment of heart failure	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	6. 最初と最後の頁 207 ~ 217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/s41374-019-0349-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsumura T., Matsui M., Iwata Y., Asakura M., Saito T., Fujimura H., Sakoda S.	4. 巻 27
2. 論文標題 Long-term effects of TRPV2 inhibition therapy for cardiomyopathy of muscular dystrophy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuromuscular Disorders	6. 最初と最後の頁 S114 ~ S114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nmd.2017.06.082	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hudoyo Athanasius Wrin, Fukuda Hiroki, Imazu Miki, Shindo Kazuhiro, Fu Haiying, Iwata Yuko, Ito Shin, Kitakaze Masafumi	4. 巻 23
2. 論文標題 Association Between Discharge Heart Rate and Composite Outcomes in Patients With Heart Failure and Atrial Fibrillation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Cardiac Failure	6. 最初と最後の頁 S84 ~ S84
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cardfail.2017.08.429	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 岩田裕子	4. 巻 270
2. 論文標題 心筋症・心不全治療をめざしたTRPV2阻害薬の開発	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医学のあゆみ TRPチャンネルのすべて	6. 最初と最後の頁 910-916
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 岩田 裕子
2. 発表標題 心筋症・心不全治療を目指したCa ²⁺ 透過チャンネルTRPV2阻害薬の開発
3. 学会等名 TRP研究会 2 0 1 8
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hudo AW, Fukuda H, Imazu M, Shindo K, Fu H, Iwata Y, Ito S, Kitakaze M
2. 発表標題 Heart Rate Determines the Beneficial Effects of Beta-blockers on the Cardiovascular Outcomes in Patients with Heart Failure and Atrial Fibrillation
3. 学会等名 第4回日本心筋症研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Iwata Y, Hirayama M, Ito S, Kitakaze M
2. 発表標題 Treatment with TRPV2 antibody ameliorates the severity of heart failure in dilated cardiomyopathic hamsters
3. 学会等名 第18回国際薬理学・臨床薬理学会議 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Iwata Y, Hirayama M, Ito Shin, Kitakaze M
2. 発表標題 Deactivation of TRPV2 prevents the progression to muscular dystrophy or dilated cardiomyopathy in the hamster model
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩田 裕子
2. 発表標題 TRPV2を標的とした心筋症・心不全新規治療薬の開発
3. 学会等名 Nanion東京女子医大イオンチャンネルフォーラム2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩田 裕子、平山 円
2. 発表標題 ストレッチ感受性イオン輸送体を標的とした筋ジストロフィー治療法の開発
3. 学会等名 日本筋学会第3回学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松村 剛、岩田 裕子、木村 公一、朝倉正紀
2. 発表標題 ストレッチ感受性カルシウムチャンネルを標的とした新規治療薬の開発
3. 学会等名 日本筋学会第3回学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Koji Shibasaki, Shouta Sugio, Kohki Okabe, Yuko Iwata, Katsuhiko Ono, Yasuki Ishizaki
2. 発表標題 Mechanosensor function of TRPV2 is sensitized by endogenous hot temperature spots in growth cones, and promotes axonal outgrowth during development
3. 学会等名 第60回日本神経化学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tsuyoshi Matsumura, Misa Matsui, Yuko Iwata, Masanori Asakura, Toshio Saito, Harutoshi Fujimura, Saburo Sakoda
2. 発表標題 Long-term effects of TRPV2 inhibition therapy for cardiomyopathy of muscular dystrophy
3. 学会等名 The XXIII World Congress of Neurology
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tsuyoshi Matsumura, Misa Matsui, Yuko Iwata, Masanori Asakura, Toshio Saito, Harutoshi Fujimura, Saburo Sakoda
2. 発表標題 Long-term effects of TRPV2 inhibition therapy for cardiomyopathy of muscular dystrophy
3. 学会等名 22nd International Congress of The WMS (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yuko Iwata, Madoka Hirayama
2. 発表標題 Pathophysiological role of ion transporters as a therapeutic target for muscular dystrophy and cardiomyopathic animal models
3. 学会等名 ConBio 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Athanasius Wrin Hudoyo, Hiroki Fukuda, Miki Imazu, Kazuhiro Shindo, Haiying Fu, Yuko Iwata, Shin Ito, Masafumi Kitakaze
2. 発表標題 Association between discharge heart rate and composite outcomes in patients with heart failure and atrial fibrillation
3. 学会等名 第21回 日本心不全学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岩田裕子、平山円、伊藤慎、北風政史
2. 発表標題 マウス心不全の病態悪化はTRPV2チャネル阻害により抑制される
3. 学会等名 第92回 日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Iwata Y, Ito S, Kitakaze M
2. 発表標題 Functional antibody against Ca ²⁺ permeable channel ameliorates dilated cardiomyopathy in animal models.
3. 学会等名 CVMW2019 心血管代謝週間第36回国際心臓研究学会日本部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Iwata Y, Wakabayashi S, Ito S, Kitakaze M
2. 発表標題 TRPV2 channel as a promising therapeutic target for heart failure.
3. 学会等名 International Symposium on TRP Ion Channel at Wakayama (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----