

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：84305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09108

研究課題名(和文) 心筋細胞肥大の核内情報伝達機構を標的とした創薬による新規心不全療法の確立

研究課題名(英文) Novel heart failure pharmacotherapy that targets nuclear signaling pathway in cardiac myocytes

研究代表者

長谷川 浩二 (HASEGAWA, Koji)

独立行政法人国立病院機構(京都医療センター臨床研究センター)・展開医療研究部・研究部長

研究者番号：50283594

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：心不全の進展・悪化において、心筋細胞は病的肥大を呈し、胎児遺伝子プログラムの再誘導を伴う。転写コアクチベーターであるp300は内因性ヒストンアセチル転移酵素(HAT)であり、心筋細胞肥大における遺伝子発現制御に重要な役割を果たしている。p300HAT活性阻害作用を有する天然物、クルクミンが心不全の進展・悪化を抑制することを示した。今回、他の主要なクルクミン類縁体、デメトキシクルクミン、ビスデメトキシクルクミンも、クルクミンとほぼ同程度にp300 HAT活性及び心筋細胞肥大を抑制することを示した。3つの化合物の構造上の違いは、p300HAT活性と心肥大抑制効果には無関係であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Heart failure is a leading cause of cardiovascular death. During development and deterioration of heart failure, cardiomyocytes undergo maladaptive hypertrophy, accompanied by re-induction of the fetal gene program. The transcriptional coactivator p300, an intrinsic histone acetyltransferase (HAT), is an important factor involved in the regulation of gene expression during cardiomyocyte hypertrophy. The natural compound, curcumin, possesses p300-specific HAT inhibitory activity. Our previous study demonstrated that curcumin prevents the development of cardiac hypertrophy by inhibiting p300-HAT activity. Here, we showed that demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin, other major curcuminoids isolated from *Curcuma longa*, inhibited p300-HAT activity and cardiomyocyte hypertrophy to almost the same extent as curcumin. Thus, structural differences among the three compounds may not be involved in the inhibitory effects on p300-HAT activity and cardiac hypertrophy.

研究分野：循環器

キーワード：循環器・高血圧 シグナル伝達 薬学 トランスレーショナルリサーチ

1. 研究開始当初の背景

21世紀の高齢化社会の到来とともに、これからますます増加する高血圧性心疾患および虚血性心疾患による心不全に対し、その発症を抑制すると同時に、心不全に対する新たな治療法を確立することは、社会的・医療経済的急務である。申請者はこの20年間、心不全の根本的治療法開発のため心筋細胞肥大における核内情報伝達機構の解明を精力的に行ってきた。そして、ヒストンアセチル化酵素(HAT)活性を持つ転写調節因子 p300 が GATA4 因子をアセチル化し (*Mol Cell Biol* 2003)、心筋梗塞後のリモデリング増悪させることを明らかにした (*Circulation* 2006)。さらに、天然物ウコンの主成分で p300 の HAT 活性を特異的に抑制するクルクミンが、心筋 GATA4 のアセチル化を抑制することにより心不全の増悪を抑制することを、高血圧心疾患及び梗塞後心不全の2つの動物モデルで確認した (*J Clin Invest* 2008)。こうして心筋細胞核の過剰なアセチル化が病的な心筋細胞肥大から心不全発症に重要であることが国際的に認識されてきた (*Circ J* 2010)。心筋核内において p300/GATA4 は巨大なコンプレックスを形成していると推測されるが、このコンプレックスは心不全シグナルによって、時間的、空間的に変化し、さまざまなクロマチン修飾因子がリクルートされることにより転写の活性・不活化を制御していると考えられる。これまで静岡県立大学 森本達也教授と協力し、成体不全心における p300 複合体を解析し、病態プロテオミクスによる p300 結合タンパク質の機能解析を行い、新規 p300 結合分子として、アルギニンメチル化酵素 PRMT5 とその活性制御因子である MEP50 を同定した。

2. 研究の目的

より強力な心不全治療薬の開発のためクルクミンの詳細な構造活性相関を行う必要がある。そこで、本申請研究においては、クルクミンをリード化合物とした創薬を目指し、クルクミン誘導体・類縁化合物の心不全治療薬としての効果を検証することを目的とした。

3. 研究の方法

天然のウコン中にはクルクミンのほかに、デメトキシクルクミン(DMC)、ビスデメトキシクルクミン(BDMC)が含まれており、これらはクルクミン類縁体と総称される。本研究ではこれらクルクミン類縁体を用いて p300HAT 活性阻害作用及び心筋細胞肥大抑制作用の比較検討を行った。すなわち、in vitro HAT アッセイ法により、クルクミン、デメトキシクルクミン(DMC)、ビスデメトキシクルクミン(BDMC)の3種のクルクミン類縁体の HAT 活性阻害作用を評価した。次に、初代培養心筋細胞にクルクミン類縁体処理を加え、心筋細胞肥大を誘導するためにフ

エニレフリン刺激を行った。その後、ヒストン H3K9 のアセチル化をウエスタンブロットにて、肥大反応遺伝子である心房性利尿ホルモン及び B-type 利尿ペプチドの mRNA 量を RT-PCR にて、抗-ミオシン重鎖抗体による免疫染色及び心筋細胞面積測定にて心筋細胞肥大を評価した。

4. 研究成果

In vitro HAT アッセイ法の結果、デメトキシクルクミンとビスデメトキシクルクミンは同濃度のクルクミンと同程度の p300 HAT 活性阻害作用を示した。また、デメトキシクルクミンとビスデメトキシクルクミンは PE 刺激により増加したヒストン H3K9 のアセチル化や、ANF と BNP の mRNA 発現量及び心筋細胞肥大を同濃度のクルクミンと同程度に抑制していた。以上より、デメトキシクルクミンとビスデメトキシクルクミンはクルクミンと同程度の p300HAT 活性阻害作用及び心筋細胞肥大抑制作用を有することが明らかとなった。クルクミン類縁体の構造の差異は、両端のフェノール基の3位のメトキシ基であることから、このメトキシ基が p300 HAT 活性阻害作用及び心筋細胞肥大抑制作用に関与していないことが示唆された。今後、さらに構造活性相関を行うことで、より良い心不全治療薬の開発に繋がることを期待される。

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 6 件)

1. Sunagawa Y, Funamoto M, Sono S, Shimizu K, Shimizu S, Genpei M, Miyazaki Y, Katanasaka Y, Morimoto E, Ueno M, Komiyama M, Kakeya H, Wada H, Hasegawa K, Morimoto T. Curcumin and its demethoxy derivatives possess p300 HAT inhibitory activity and suppress hypertrophic responses in cardiomyocytes. *J Pharmacol Sci*. 2018 Apr;136(4):212-217. doi: 10.1016/j.jphs.2017.12.013. Epub 2018 Mar 13.
2. Sunagawa Y, Okamura N, Miyazaki Y, Shimizu K, Genpei M, Funamoto M, Shimizu S, Katanasaka Y, Morimoto E, Yamakage H, Komiyama M, Satoh-Asahara N, Wada H, Suzuki M, Hasegawa K, Morimoto T. Effects of Products Containing *Bacillus subtilis* var. natto on Healthy Subjects with Neck and Shoulder Stiffness, a Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Crossover Study. *Biol Pharm Bull*. 2018 Apr 1;41(4):504-509. doi: 10.1248/bpb.b17-00780. Epub 2018 Feb 6.

3. Katanasaka Y, Suzuki H, Sunagawa Y, Hasegawa K, Morimoto T. Regulation of Cardiac Transcription Factor GATA4 by Post-Translational Modification in Cardiomyocyte Hypertrophy and Heart Failure. *Int Heart J*. 2016 Dec 2;57(6):672-675. Epub 2016 Nov 4. Review. Effect of statins on atherogenic serum amyloid A and 1-antitrypsin low-density lipoprotein complexes.
4. Miyazaki Y, Katanasaka Y, Sunagawa Y, Hirano-Sunagawa S, Funamoto M, Morimoto E, Komiyama M, Shimatsu A, Satoh-Asahara N, Yamakage H, Wada H, Hasegawa K, Morimoto T. *Int J Cardiol*. 2016 Dec 15;225:332-336. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.09.116. Epub 2016 Oct 3.
5. Funamoto M, Sunagawa Y, Katanasaka Y, Miyazaki Y, Imaizumi A, Kakeya H, Yamakage H, Satoh-Asahara N, Komiyama M, Wada H, Hasegawa K, Highly absorptive curcumin reduces serum atherosclerotic low-density lipoprotein levels in patients with mild COPD. Morimoto T. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2016 Aug 26;11:2029-34. doi: 10.2147/COPD.S104490. eCollection 2016.
6. Suzuki H, Katanasaka Y, Sunagawa Y, Miyazaki Y, Funamoto M, Wada H, Hasegawa K, Morimoto T. Tyrosine phosphorylation of RACK1 triggers cardiomyocyte hypertrophy by regulating the interaction between p300 and GATA4. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Sep;1862(9):1544-57. doi: 10.1016/j.bbadis.2016.05.006. Epub 2016 May 18.
- [学会発表](計 21件)
1. Masafumi Funamoto, Yoichi Sunagawa, Yasufumi Katanasaka, Yusuke Miyazaki, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa and Tatsuya Morimoto Histone Acetylation Domain by p300 are Changed During the Transition From Cardiac Hypertrophy to Heart Failure Circulation. 2017;136:A18911. (Abstract 18911) American Heart Association Scientific Sessions 2017 2017.11.13
2. Yoichi Sunagawa, Masafumi Funamoto, Anna Suzuki, Satoshi Simizu, Hana Sasaki, Asami Yabuta, Ryoga Sakurai, Yasufumi Katanasaka, Tomohiro Asakawa, Toshiyuki Kan, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto. A Nobel Target Molecule of Nobiletin Derived from Citrus unshu Has a Therapeutic potency against the Development of Heart Failure XXII Annual Meeting of the International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy 2017.08.24,25
3. Masafumi Funamoto, Yoichi Sunagawa, Yasufumi Katanasaka, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto, A Transcriptional Co-activator, p300 is Involved in the Epigenetic Gene Activation on Hypertrophic Response Gene Promoters during Cardiomyocyte Hypertrophy XXII Annual Meeting of the International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy 2017.08.24,25
4. Kana Shimizu, Masafumi Funamoto, Mai Genpei, Yoichi Sunagawa, Yasufumi Katanasaka, Yusuke Miyazaki, Hiroyuki Shibata, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto Curcumin analogue GO-Y030 significantly improves pressure overload-induced heart failure in vivo XXII Annual Meeting of the International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy 2017.08.24,25
5. Haruka Ebi, Masafumi Funamoto, Yoichi Sunagawa, Anna Suzuki, Kana Shimizu, Yasufumi Katanasaka, Yusuke Miyazaki, Hiromichi Wada, Akira Shimatsu, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto Nobiletin a citrus flavonoid, exerts additional effects with Angiotensin II receptor blocker on systolic function in salt-sensitive Dahl rats XXII Annual Meeting of the International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy 2017.08.24,25
6. Mai Genpei, Yoichi Sunagawa, Masafumi Funamoto, Kana Shimizu, Yusuke Miyazaki, Yasufumi Katanasaka, Nobuaki Takahashi, Hideaki Kakeya, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto The inhibitory effects of Crucumin Glucuronide on p300-HAT Activity and Hypertrophic Phenylephrine-induced Responses in Cardiomyocytes XXII Annual Meeting of the International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy 2017.08.24,25
7. Masafumi Funamoto, Yoichi Sunagawa, Yasufumi Katanasaka, Kana Shimizu,

- Yusuke Miyazaki, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto. Epigenetic Modifications via Histone Acetylation by p300 are changed during the Transition from Cardiac Hypertrophy to Heart Failure American Heart Association Scientific Session 2016 2016.11.13
8. Yusuke Miyazaki, Yasufumi Katanasaka, Yoichi Sunagawa, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa and Tatsuya Morimoto. PRMT5 methylates p300 and induce cardiac hypertrophy ISCP2016 2016.10.13
9. Kana Shimizu, Yoichi Sunagawa, Masafumi Funamoto, Yasufumi Katanasaka, Hiroyuki Shibata, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto. Curcumin analogue, Y-030, effectively suppressed hypertrophic responses in cardiomyocytes ISCP2016 2016.10.13
10. Yusuke Tsutsui, Yusuke Miyazaki, Yasufumi Katanasaka, Yoichi Sunagawa, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto. PRMT5/MEP50 Regulates Cardiomyocyte Hypertrophy by Inhibiting p300-Induced Acetylation of GATA4 European Society of Cardiology Congress 2016 2016.8.28
11. Yusuke Tsutsui, Yasufumi Katanasaka, Yoichi Sunagawa, Tatsuhide Inoue, Hideaki Moriwaki, Yasuo Shimizu, Shigeharu Narushima, Toshio Maeda, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto KOSEN-CHA, a functional green tea, improves obesity and vascular function ISCP2016 2016.10.13
12. Yusuke Miyazaki, Yasufumi Katanasaka, Yoichi Sunagawa, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa and Tatsuya Morimoto. Protein Arginine Methyltransferase 5/Methylosome Protein 50 Complex Inhibits p300 Histone Acetyltransferase Activity and Hypertrophic Gene transcription in Cultured Cardiomyocytes. AHA Scientific Sessions 2015. Orlando, USA. 2015.11.07-11.11
13. Yoichi Sunagawa, Kehima Hieda, Ryoga Sakurai, Shintaro Ogawahara, Yasufumi Katanasaka, Tomohiro Asakawa, Toshiyuki Kan, Akira Murakami, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto. Analysis of Novel Target Molecules of Nobiletin, a Potent Therapeutic Agent Against Heart Failure. AHA Scientific Sessions 2015. Orlando, USA. 2015.11.07-11.11
14. Tatsuya Morimoto, Yasufumi Katanasaka, Yoichi Sunagawa, Eriko Morimoto, Morio Ueno, Noriko Satoh-Asahara, Hajime Yamakage, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa. Statin Treatment did not Significantly Alter E/E', a Parameter of Diastolic function, in Patients with Dyslipidemia. 19th Annual Scientific Meeting of the ISCP. Buenos Aires, Argentina. 2015.06.25-06.26
15. Masafumi Funamoto, Yoichi Sunagawa, Yasufumi Katanasaka, Sae Hirano, Atsushi Imaizumi, Noriko Satoh-Asahara, Hajime Yamakage, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto. The Effect of Highly Absorbed Curcumin on Oxidatively Modified LDL, Arteriosclerotic LDL and Airway. 19th Annual Scientific Meeting of the ISCP. Buenos Aires, Argentina. 2015.06.25-06.26
16. Masafumi Funamoto, Yoichi Sunagawa, Yasufumi Katanasaka, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto. A Transcriptional Co-activator, p300 is Involved in the Epigenetic Gene Activation on Hypertrophic Response Gene Promoters during Cardiomyocyte Hypertrophy. 19th Annual Scientific Meeting of the ISCP. Buenos Aires, Argentina. 2015.06.25-06.26
17. Nobuko Okamura, Yoichi Sunagawa, Yasufumi Katanasaka, Hiromichi Wada, Atsushi Imaizumi, Tadashi Hashimoto, Akira Shimatsu, Hideaki Kakeya, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto. Amorphous Curcumin Dispersions Has a High Absorption Potency in Human -A Double Blind, Randomized, 4-Way Crossover Study-. Asian Pacific Society of Cardiology Congress 2015. 12th Asian Congress of Nutrition. Kanagawa., Japan. 2015.05.14-05.18
18. Yasufumi Katanasaka, Sae Hirano, Yoichi Sunagawa, Ryoga Sakurai, Hidetoshi Suzuki, Hiromichi Wada, Akira Shimatsu, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto. A LIPOPHILIC PITAVASTATIN SUPPRESSES CELL HYPERTROPHY IN CULTURED CARDIOMYOCYTES. Asian Pacific Society of Cardiology Congress 2015.

Abu Dhabi, UAE. 2015.04.29-05.02

19.Hiroki Wakabayashi, Yasufumi Katanasaka, Yusuke Miyazaki, Ryoga Sakurai, Yoichi Sunagawa, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto. MEP50 RECRUITS PRMT5 TO p300 AND SUPPRESSES p300/GATA4-INDUCED HYPERTROPHIC GENE TRANSCRIPTION. Asian Pacific Society of Cardiology Congress 2015. Abu Dhabi, UAE. 2015.04.29-05.02

20.Yuya Hojo, Yasufumi Katanasaka, Junya Nakada, Yoichi Sunagawa, Hidetoshi Suzuki, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto. Protein Arginine Methyltransferase 5 Inhibits cardiomyocyte Hypertrophy by methylating p300 in Cultured Cardiomyocytes. Asian Pacific Society of Cardiology Congress 2015. Abu Dhabi, UAE. 2015.04.29-05.02

21.Ryoga Sakurai, Yasuhumi Katanasaka, Yoichi Sunagawa, Hidetoshi Suzuki, Hajime Yamakage, Noriko Asahara-Satoh, Hiromichi Wada, Koji Hasegawa, Tatsuya Morimoto. SERUM AMYLOID A- AND ALPHA1-ANTITRYPSIN-LDLS, OXIDATIVELY MODIFIED LDLS WERE DECREASED BY STATIN TREATMENT. Asian Pacific Society of Cardiology Congress 2015. Abu Dhabi, UAE. 2015.04.29-05.02

〔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
長谷川 浩二 (HASEGAWA, Koji)
独立行政法人国立病院機構
(京都医療センター臨床研究センター)
展開医療研究部・研究部長

研究者番号：50283594

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

森本 達也 (MORIMOTO, Tatsuya)
砂川 陽一 (SUNAGAWA, Yoichi)
刀坂 泰史 (KATANASAKA, Yasufumi)
宮崎 雄輔 (MIYAZAKI, Yusuke)
(以上 静岡県立大学)