

令和元年6月7日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05300

研究課題名(和文)自律神経による心機能制御

研究課題名(英文)Autonomic regulation of cardiac function

研究代表者

石川 義弘 (Ishikawa, Yoshihiro)

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：40305470

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：交感神経は、フランクスターリングと並んで心機能制御の双壁をなす。交感神経伝達物質であるカテコラミンの標的酵素であるアデニル酸シクラーゼは、細胞内cAMPを産生する。このセカンドメッセンジャーは、古典的にはPKAを活性化させるが、近年ではG蛋白調節因子(Epac)が新規因子として確立された。Epacは30年ぶりに同定されたPKA以外のcAMPの標的分子であり、RapなどのG蛋白の制御など、様々な細胞機能に重要な役割を果たす。そこで、このEpacの役割をPKAと比較しながら、心筋細胞におけるcAMPシグナルネットワークの構成因子として、心機能の調節と心不全発症の観点から、網羅的に検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

交感神経は心機能制御の最大の生理メカニズムであり、この作用は様々な心疾患における診断や治療に応用されている。交感神経伝達物質であるカテコラミンは心機能亢進作用があり、交感神経遮断剤は心機能低下作用を持つ。いずれも細胞内の作用は、cAMP産生調節であり、下流のPKAの活性調節である。今回の我々の研究成果から、PKAのみならずEPACと呼ばれる新規因子が、心機能調節に重要であることが分かった。これは心機能の調節と心不全発症の観点から、将来の新規治療法の開発につながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The sympathetic nervous system is a major mechanism of regulating cardiac function together with the Frank Starling mechanism. Catecholamine is a neurotransmitter molecule of the sympathetic nervous system, and activates adenylyl cyclase to produce cAMP. This second messenger activates protein kinase A, however, recent studies have identified Epac as another target enzyme. Epac is directly activated by cAMP, and activates Rap and other G protein-related molecules within the regulation of cellular function. In the current research project, we have compared the role of Epac with that of protein kinase A, and found its regulation within the cAMP network that regulates cardiac function and the development of heart failure.

研究分野：循環器内科学、生理学

キーワード：循環器・高血圧 生理学 薬理学

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

交感神経は、フランク・スターリングと共に心機能制御の双璧をなす。交感神経伝達物質カテコラミンの標的酵素であるアデニル酸シクラーゼは、細胞内 cAMP を産生する。このセカンドメッセンジャーは、古典的には PKA を活性化させるが、近年では G 蛋白調節因子 (Epac) が「新規因子」として確立された。Epac は 30 年ぶりに同定された PKA 以外の cAMP の標的分子であり、Rap などの G 蛋白の制御など、様々な細胞機能に重要な役割を果たす。この Epac の特性により、交感神経シグナルは他の液性因子シグナルのクロストークを形成し、細胞再信号伝達の多様性と秩序性に重要な役割を果たす可能性が示されたが、解明は十分に進んでいなかった。

2. 研究の目的

本申請では Epac の役割を PKA と比較しながら、心筋細胞における cAMP シグナルネットワークの新規構成因子とし、心機能と心不全の発症の観点から解明することを目的とした。とりわけ主軸は、心臓の cAMP シグナルの意義を検討することであり、これまで研究してきた・受容体・G 蛋白・心臓型アデニル酸シクラーゼサブタイプの知見を発展させ、その下流の Epac の役割を含めて検討していくことであった。我々が開発した G 蛋白やアデニル酸シクラーゼ遺伝子操作動物に加えて、Epac 遺伝子操作マウスにおける心機能変化をサブタイプに関して網羅的に解明し、これまで PKA 単独では説明が困難であった cAMP シグナルの分子メカニズムを明らかにしていくことを目標とした。

3. 研究の方法

本研究課題では、cAMP を産生する AC の下流にある新規制御因子である Epac の役割を中心に、cAMP シグナルネットワークを心機能・保護作用の調節の観点から検討した。古典的な PKA を介した Katz のシグナル系に対して、新規制御因子である Epac がどのような役割を果たすのかを解明することが主目的であった。具体的な研究手法としては、我々の作成した Epac サブタイプの遺伝子操作動物 (過大発現および欠損モデル)、および薬剤負荷モデル、および敗血症モデルを用いて、病態生理下における変化を検討した。とりわけ、これまで証明されていない AC サブタイプと Epac の共役の検討や、解明の進んでいない敗血症とカテコラミンシグナルのクロストークの分子メカニズムを実験モデルを用いて、生体レベル及び細胞レベルで検討し、心不全の成因に関する cAMP シグナルネットワークの解明を進めた。

4. 研究成果

交感神経の制御メカニズムの理解は、心不全や高血圧の発症メカニズムの理解と強く関連し、その制御薬は、カテコラミン製剤が心機能亢進薬として、カテコラミン拮抗剤が心機能抑制剤として広く使われているように、循環器疾患の治療においては重要な役割を果たす。通常のカテコラミン作動薬は受容体レベルでの作用であり、下流のメカニズムまで踏み込むものではなかった。我々の研究成果によれば、古典的な cAMP により活性化されるプロテインキナーゼ A だけでなく、Epac と呼ばれる新規タンパクが、心機能調節に重要な役割を果たすことが判明した。とりわけ Epac は様々なシグナル系とのクロストークの場所を形成するだけでなく、蛋白質の発現量によって、心機能が選択的に制御される可能性が示された。

3 年間の研究成果として、10 編以上の研究論文によって発表を行うことができ、英文学術雑誌における掲載であり、国内外に成果を発信することができた。また多数の学会発表においても、交感神経系における新規知見を報告することができ、将来の研究につなげることが可能となった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 13 件)

1. Prajapati R, Fujita T, Suita K, Nakamura T, Cai W, Hidaka Y, Umemura M, Yokoyama U, Knollmann BC, Okumura S, and Ishikawa Y : Usefulness of Exchanged Protein Directly Activated by cAMP (Epac)1- Inhibiting Therapy for Prevention of Atrial and Ventricular Arrhythmias in Mice.
Circ J. 83(2), 2019, 295-303, DOI:10.1253/circj.CJ-18-0740 (査読有)
2. Kato Y, Yokoyama U, Fujita T, Umemura M, Kubota T, and Ishikawa Y : Epac1 deficiency inhibits basic fibroblast growth factor-mediated vascular smooth muscle cell migration.
J Physiol Sci. 69(2), 2019, 175-184, DOI:10.1007/s12576-018-0631-7. (査読有)

3. Suita K, Fujita T, Cai W, Hidaka Y, Jin H, Prajapati R, Umemura M, Yokoyama U, Sato M, Knollmann BC, Okumura S, and Ishikawa Y : Vidarabine, an anti-herpesvirus agent, prevents catecholamine-induced arrhythmias without adverse effect on heart function in mice.
Pflugers Arch. 2018 Jun;470(6):923-935. DOI:10.1007/s00424-018-2121-4. (査読有)
4. Tanaka R, Umemura M, Narikawa M, Fujita T, Yokoyama U, Ishigami T, Kimura K, Tamura K, and Ishikawa Y : Hydrostatic pressure suppresses fibrotic changes via Akt/GSK-3 signaling in human cardiac fibroblasts.
Physiol Rep. 6 (9), 2018, e13687, DOI:10.14814/phy2.13687. (査読有)
5. Narikawa M, Umemura M, Tanaka R, Fujita T, Yokoyama U, Ishigami T, Kimura K, Tamura K, and Ishikawa Y : Acute Hyperthermia Inhibits TGF-beta1-induced Cardiac Fibroblast Activation via Suppression of Akt Signaling.
Sci Rep. 8(1), 2018, 6277, DOI:10.1038/s41598-018-24749-6. (査読有)
6. Jin H, Fujita T (co-first author), Jin M, Kurotani R, Hidaka Y, Cai W, Suita K, Prajapati R, Liang C, Ohnuki Y, Mototani Y, Umemura M, Yokoyama U, Sato M, Okumura S, and Ishikawa Y : Epac activation inhibits IL-6-induced cardiac myocyte dysfunction.
J Physiol Sci. 2018 Jan;68(1):77-87. DOI: 10.1007/s12576-016-0509-5. (査読有)
7. Jin H, Fujita T, Jin M, Kurotani R, Namekata I, Hamaguchi S, Hidaka Y, Cai W, Suita K, Ohnuki Y, Mototani Y, Shiozawa K, Prajapati R, Liang C, Umemura M, Yokoyama U, Sato M, Tanaka H, Okumura S, and Ishikawa Y : Cardiac overexpression of Epacl in transgenic mice rescues lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction and inhibits Jak- STAT pathway.
J Mol Cell Cardiol. 2017 Jul;108:170-180. DOI:10.1016/j.yjmcc.2017.05.014. (査読有)
8. Umemura M, Kim JH, Aoyama H, Hoshino Y, Fukumura H, Nakakaji R, Sato I, Ohtake M, Akimoto T, Narikawa M, Tanaka R, Fujita T, Yokoyama U, Taguri M, Okumura S, Sato M, Eguchi H, and Ishikawa Y : The iron chelating agent, deferoxamine detoxifies Fe(Salen)-induced cytotoxicity.
J Mol Cell Cardiol. 2017 Jul;108:170-180. DOI:10.1016/j.yjmcc.2017.05.014. (査読有)
9. Fujita T, Umemura M, Yokoyama U, Okumura S, and Ishikawa Y : The role of epac in the Heart.
Cell Mol Life Sci. 2017 Feb;74(4):591-606. doi:10.1007/s00018-016-2336-5. (査読有)
10. Ohnuki Y, Umeki D, Mototani Y, Shiozawa K, Nariyama M, Ito A, Kawamura N, Yagisawa Y, Jin H, Cai W, Suita K, Saeki Y, Fujita T, Ishikawa Y, and Okumura S : Role of phosphodiesterase 4 expression in the epac1 signaling-dependent skeletal muscle hypertrophic action of clenbuterol.
Physiol Rep. 2016 May;4(10). pii: e12791. DOI: 10.14814/phy2.12791. (査読有)
11. Nakamura T, Fujita T, Kishimura M, Suita K, Hidaka Y, Cai W, Umemura M, Yokoyama U, Uechi M, and Ishikawa Y : Vidarabine, an anti-herpes virus agent, protects against the development of heart failure with relatively mild side effects on cardiac function in canine model of pacing-induced dilated cardiomyopathy.
Circ J. 2016 Nov 25;80(12):2496-2505. DOI: 10.1253/circj.CJ-16-0736 (査読有)
12. Cai W, Fujita T, Hidaka Y, Jin H, Suita K, Prajapati R, Liang C, Umemura M, Yokoyama U, Sato M, Okumura S, and Ishikawa Y : Disruption of Epacl protects the heart from adenylyl cyclase type 5-mediated cardiac dysfunction.
Biochem Biophys Res Commun. 2016 Jun 17;475(1):1-7. DOI:10.1016/j.bbrc.2016.04.123. (査読有)
13. Sato I, Umemura M, Mitsudo K, Fukumura H, Kim J, Hoshino J, Nakashima H, Kioi M, Nakakaji R, Sato M, Fujita T, Yokoyama U, Okumura S, Oshiro H, Eguchi H, Tohna I, and Ishikawa Y : Simultaneous hyperthermia-chemotherapy with controlled drug delivery using single-drug nanoparticles.

[学会発表] (計 15 件)

1. Prajapati R, Fujita T, Suita K, Nakamura T, Cai W, Hidaka Y, Okumura S, Ishikawa Y: The role of Epac1 in the development of ventricular arrhythmia in mice. 第 28 回日本病態生理学会大会. 2018.
2. 田中 遼, 梅村将就, 成川雅俊, 石川義弘: 線維芽細胞と組織内圧からみた心臓障害修復過程の病態生理. 第 28 回日本病態生理学会大会, 2018.
3. Kato Y, Yokoyama U, Fujita T, Kubota T, Ishikawa Y: Epac1 deficiency inhibits bFGF-induced neointimal formation via diminished phosphorylation of GSK3 β . The 95th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2018.
4. Fujita T, Prajapati R, Nakamura T, Cai W, Hidaka Y, Suita K, Okumura S, Ishikawa Y: The role of exchanged protein directly activated by cAMP 1 (Epac1) in the development of arrhythmias. 第 95 回日本生理学会大会, 2018.
5. Ishikawa Y: Molecular mechanisms of arterial duct closure via PGE2-EP4. The 5th International Congress on Cardiac Problems in Pregnancy, Bologna, 2018.
6. 田中 遼, 梅村将就, 成川雅俊, 石川義弘: 静水圧による力学的負荷と心臓線維芽細胞に関する検討. 心血管膜輸送研究会, 2017.
7. 成川雅俊, 梅村将就, 木村一雄, 田村功一, 石川義弘: 温熱刺激は、Akt/S6K 経路を介して心臓線維芽細胞の活性化を抑制する. 第 65 回日本心臓病学会, 2017.
8. 吉田裕紀, 藤田孝之, 日高祐子, 金 慧玲, 蔡 文倩, 中村 隆, Prajapati R, 石川義弘: 虚血による心筋細胞死における TCTP の役割について. 第 27 回日本病態生理学会大会, 2017.
9. Prajapati R, Fujita T, Nakamura T, Suita K, Cai W, Hidaka Y, Ishikawa Y: Epac1 plays an important role in the development of atrial fibrillation in mice. 第 27 回日本病態生理学会大会, 2017.
10. Ishikawa Y: EP4 Signal in Vascular Inflammation. International Union of Physiological Sciences (IUPS2017), Rio De Janeiro, 2017.
11. Cai W, Fujita T, Hidaka Y, Jin H, Suita K, Hasegawa N, Kubota K, Liang C, Ishikawa Y: TCTP down-regulation-induced cardiac cell death through BNIP3 may be a pivotal mechanism of Doxorubicin-induced heart failure. European Society of Cardiology, 2016.
12. Kato Y, Yokoyama U, Kubota T, Ishikawa Y: Exchange protein activated by cyclic AMP 1 (Epac1) promotes bFGF-induced arterial smooth muscle cell migration. The 32nd World Congress of Biomedical Laboratory Science, 2016.
13. 蔡 文倩, 藤田孝之, 日高祐子, 金 慧玲, Rajesh Prajapati, 梁 宸, 石川義弘: キノルビン誘発心不全発症における, p53 を介した translationally controlled tumor protein (TCTP) 発現抑制の役割. 第 37 回循環制御医学会総会, 2016.
14. Rajesh Prajapati, 藤田孝之, 蔡 文倩, 吹田憲治, 長谷川希望, 金 慧玲, 梁 宸, 日高祐子, 石川義弘: The role of Epac in the development of atrial fibrillation in mice. 第 37 回日本循環制御医学会総会, 2016.
15. 金 慧玲, 藤田孝之, 金 美花, 蔡 文倩, 日高祐子, 吹田憲治, Rajesh Prajapati, 梁 宸, 奥村 敏, 石川義弘: 敗血症性心不全における心機能低下に対する Epac1 の保護的役割. 第 37 回日本循環制御医学会総会, 2016.

〔図書〕（計 1 件）

石川義弘（総監訳）：エルゼビア・ジャパン社，ガイドン生理学，原著第 13 版，1100 ページ

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

名称：9 - β - D - アラビノフラノシルヒポキサンチンによる不整脈治療

発明者：藤田 孝之，石川 義弘，奥村 敏，吹田 憲治，中村 隆

権利者：公立大学法人横浜市立大学

種類：特許

番号：特願 2017-250478

出願年：2017 年

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

研究室ホームページ：<http://www-user.yokohama-cu.ac.jp/~seiril/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：奥村 敏

ローマ字氏名：(OKUMURA, satoshi)

所属研究機関名：鶴見大学

部局名：歯学部

職名：教授

研究者番号（8 桁）：60233475

研究分担者氏名：梅村 将就

ローマ字氏名：(UMEMURA, masanari)

所属研究機関名：横浜市立大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号（8 桁）：50595353

(2) 研究協力者 該当なし

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。