

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15198

研究課題名(和文)スタチンの多面的作用に着目した新しい心血管保護因子の機能解析

研究課題名(英文)Functional analysis of novel cardiovascular protective factor

研究代表者

下川 宏明(Shimokawa, Hiroaki)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00235681

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)：本研究では、新しい心血管病抑制蛋白SmgGDSの内皮機能保護機能や心血管病抑制における意義について基礎的・臨床的研究を進めた。特に、スタチン刺激により細胞外に分泌されるSmgGDSに血管内皮や心血管組織の保護作用があるか否かを検討するために、当科で開発済みである遺伝子欠損マウスや過剰発現マウスを用いた検証を進めた。細胞内SmgGDSはRac1抑制作用を有する一方で、細胞外SmgGDSも線維芽細胞増殖やMMPの抑制に重要な役割を有することが判明した。さらに、スタチン依存性に分泌されたSmgGDSは、未知の細胞外受容体もしくは機能蛋白修飾を介して大動脈瘤破裂を抑制する可能性があることが示された。

研究成果の概要(英文)：We conducted basic and clinical studies on the SmgGDS-mediated protective function of cardiovascular system. In particular, in order to investigate whether SmgGDS secreted extracellularly by statin stimulation has protective effects on vascular endothelium and cardiovascular system, we developed genetically-deficient mice and overexpressing mice in our department. Additionally, we performed in vitro studies on the role of intracellular SmgGDS which promoted Rac1 degradation while extracellular SmgGDS had an important role in suppressing fibroblast proliferation and MMP activities. Finally, in vivo study demonstrated that SmgGDS inhibits the development of thoracic aortic aneurysms and resulting aortic rupture.

研究分野：循環器内科

キーワード：循環器・高血圧 大動脈瘤 医歯薬学 内科系臨床医学 循環器内科学 分子血管学 臨床応用研究

### 1. 研究開始当初の背景

スタチン発見から40年。あらゆる心血管病における有効性が基礎的・臨床的研究で明らかにされた。しかし、そのコレステロール低下作用によらない心血管保護効果(多面的作用)の本質は未だに解明されていない。我々は最近、スタチンの多面的作用の原因蛋白探索・スクリーニングの結果、世界で初めて SmgGDS を同定した。さらにスタチンは、心筋線維芽細胞からの SmgGDS 分泌を促進し、Rac-1/Rho-kinase/ERK 活性を抑制すると共に、あらゆる炎症性サイトカインの分泌低下を引き起こすことを証明した。いっぽう我々は、Rho-kinase が、eNOS 抑制や Cyclophilin A 分泌を介して、血管内皮障害や血管炎症促進的に作用すると共に、あらゆる心血管疾患を促進することを証明してきた。従って、スタチンで誘導・分泌される SmgGDS は、Rho-kinase/CyPA 系とは対極に位置し、心血管病発症の抑制機構を担うことから、新たな治療標的および創薬ターゲットとしても期待できる。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、スタチンによる新規炎症制御蛋白 SmgGDS を介した多面的作用の制御機構について検討することにある。これまで我々は、スタチンに関する一連の基礎的・臨床的研究を行い、スタチンの心血管病に対するコレステロール低下作用に依らない多面的作用の原因分子として、世界で初めて SmgGDS を同定した。SmgGDS はスタチン依存性に主に血管内皮より産生・分泌され、Rac1 抑制を介して抗炎症効果を発揮する。さらに、SmgGDS は Rho-kinase/ERK1/2 を抑制し、様々な炎症性サイトカインの産生・分泌を抑制することを確認した。本申請研究では、これまで全く解明されていない、SmgGDS による心血管病発症抑制機構を、組織特異的欠損マウスと過剰発現マウスを用い、各種の心血管病モデルを作成し、動物レベルで詳細に検証する。

### 3. 研究の方法

本申請研究は、新しい心血管病抑制蛋白 SmgGDS の内皮機能保護機能や心血管病抑制における意義について基礎的・臨床的研究を行う。特に、スタチン刺激により細胞外に分泌される SmgGDS に血管内皮や心血管組織の保護作用があるか否かを検討するために、当科で開発済みである血管内皮特異的遺伝子改変マウス(SmgGDS, ROCK1, ROCK2, Rac1)や SmgGDS 過剰発現マウスを用いる。細胞内 SmgGDS は Rac1 抑制作用を有する一方で、細胞外 SmgGDS も線維芽細胞増殖や MMP の抑制に重要な役割を有する。従って、スタチン依存性に分泌された SmgGDS は、未知の細胞外受容体もしくは機能蛋白修飾を介して動脈硬化プラーク破綻や大動脈瘤破裂を抑制する可能性がある。

### 4. 研究成果

本研究では、新しい心血管病抑制蛋白 SmgGDS の内皮機能保護機能や心血管病抑制における意義について基礎的・臨床的研究を進めた。特に、スタチン刺激により細胞外に分泌される SmgGDS に血管内皮や心血管組織の保護作用があるか否かを検討するために、当科で開発済みである遺伝子欠損マウスや過剰発現マウスを用いた検証を進めた。細胞内 SmgGDS は Rac1 抑制作用を有する一方で、細胞外 SmgGDS も線維芽細胞増殖や MMP の抑制に重要な役割を有することが判明した。さらに、スタチン依存性に分泌された SmgGDS は、未知の細胞外受容体もしくは機能蛋白修飾を介して動脈硬化プラーク破綻や大動脈瘤破裂を抑制する可能性があることが示された。Rac-1/Rho-kinase 依存性に心血管組織から産生・分泌される各種の炎症性サイトカインは、血管内皮において、接着因子発現や炎症細胞浸潤、アポトーシス等、内皮機能を障害する。我々は、細胞内 SmgGDS が Rac1 分解を促進することを証明し、SmgGDS は細胞外へも分泌され、直接もしくは間接的な受容体阻害により、細胞外からも Rac1 や Rho-kinase を抑制することを確認した(Hypertension 2016)。また、Rho-kinase 活性化は酸化ストレス増幅蛋白 Cyclophilin A (CyPA)の分泌を促進することを我々は示してきたが、スタチンは SmgGDS 分泌促進とは逆に、CyPA 分泌抑制することが判明した。従って SmgGDS は、Rho-kinase/CyPA 系とは拮抗することが示唆している。実際、Rho-kinase/CyPA 系は血管平滑筋増殖作用や炎症細胞浸潤作用のみならず、血管内皮障害作用が示されており、SmgGDS とは全く相反する作用を示すことから、それぞれ、それらのバランスが内皮機能の恒常性維持に貢献している可能性があることが判明した。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計31件)全て査読あり

1. Kikuchi N, Satoh K, Kurosawa R, Yaoita N, Md. Elias Al-Mamun, Mohammad Abdul Hai Siddique, Omura J, Satoh T, Nogi M, Sunamura S, Miyata S, Shimokawa H. Selenoprotein P promotes vascular smooth muscle cell proliferation and pulmonary hypertension -A possible novel therapeutic target- Circulation 2018 (in press). doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.033113
2. Satoh K, Shimokawa H. Recent advances in the development of cardiovascular biomarkers. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2018;38:e61-e70. doi: 10.1161/ATVBAHA.118.310226.
3. Kozu K, Sugimura K, Aoki T, Tatebe S, Yamamoto S, Yaoita N, Shimizu T, Nochioka K, Sato H, Konno R, Satoh K, Miyata S, Shimokawa H. Sex differences in hemodynamic

- responses and long-term survival to optimal medical therapy in patients with pulmonary arterial hypertension. *Heart Vessels*. 2018 Feb 13. doi: 10.1007/s00380-018-1140-6.
4. [Satoh K](#). AMPK $\alpha$ 2 regulates hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  stability and neutrophil survival to promote vascular repair after ischemia. *Circ Res*. 120:8-10, 2017. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.310217
  5. 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
  6. 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
  7. [Shimokawa H](#), Kikuchi N, [Satoh K](#). Shrinking basic cardiovascular research in Japan: A tip of the iceberg. *Circ Res*. 121:331-334, 2017. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.310845
  8. [Satoh K](#). Development of novel therapies for cardiovascular diseases by clinical application of basic research (Review for the 2016 SATO award). *Circ J*. 81:1557-1563, 2017. doi: 10.1253/circj.CJ-17-1029
  9. [Satoh K](#), Takahashi J, Matsumoto Y, Tatebe S, Aoki T, Kikuchi Y, Hao K, Ohyama K, Nogi M, Suda A, Kasahara S, Sato K, Ichijo S, [Shimokawa H](#). European society of cardiology (ESC) annual congress report from Barcelona 2017. *Circ J*. 81:1758-1763, 2017. doi:10.1253/circj.CJ-17-1103
  10. Aoki T, Sugimura K, Tatebe S, Miura M, Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, Sato H, Kozu K, Konno R, Miyata S, Nochioka K, [Satoh K](#), [Shimokawa H](#). Comprehensive evaluation of the effectiveness and safety of balloon pulmonary angioplasty for inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension - Long-term effects and procedure-related complications - *Eur Heart J*. 38:3152-3159, 2017. doi:10.1093/eurheartj/ehx530
  11. 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*. 60:1138-1151, 2017. doi: 10.1007/s00125-017-4259-6
  12. 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  $\beta$ -adrenoceptor mediated bladder relaxation in mice. *Am J Physiol*. 312:F33-F42, 2017. doi: 10.1152/ajprenal.00137.2016
  13. Tatebe S, Sugimura K, Aoki T, Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, Sato H, Kozu K, Konno R, [Satoh K](#), Fukuda K, Adachi O, Saito R, Nakanishi N, Morisaki H, Oyama K, Saiki Y, Okada Y, [Shimokawa H](#). The efficacy of a genetic analysis of the BMPR2 gene in a patient with severe pulmonary arterial hypertension and an atrial septal defect treated with bilateral lung transplantation. *Intern Med*. 56:3193-3197, 2017. doi: 10.2169/internalmedicine.8686-16
  14. Omura J, [Satoh K](#), Kikuchi N, Satoh T, Kurosawa R, Nogi M, Otsuki T, Kozu 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
  15. 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
  16. 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
  17. 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
  18. 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

19. Minami T, Satoh K, Nogi M, Kudo S, Miyata S, Tanaka S, Shimokawa H. Statins up-regulate SmgGDS through  $\beta$ 1-integrin/Akt1 pathway in endothelial cells. *Cardiovasc Res.* 109:151-161, 2016. doi: 10.1093/cvr/cvv253

20. 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

21. 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

22. 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

23. 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

24. Aoki T, Sugimura K, Nochioka K, Miura M, Tatebe S, Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, Sato H, Kozu 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

25. 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

26. 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

〔学会発表〕(計 250 件)  
省略

〔図書〕(計 5 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 (全 670 ページ) 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 (全 320 ページ) Color & 73 B/W Illustrations, ISBN 9781498735452 - CAT# K26429
3. 佐藤 公雄, 下川 宏明. 科学評論社 『循環器内科』特集/SGLT2 心腎連関 解説 Cyclophilin A Vol.82 No.4, p.391 ~ 397 (全 540 ページ). (2017 年 10 月号)
4. 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 (全 210 ページ), 2016 年 12 月.
5. 佐藤 公雄. 南江堂「循環器専門医」(2016 年 2 月) 「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 (全 190 ページ), 2016 年 2 月.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 6 件)

1. 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: 国立大学法人東北大学  
種類: 特許  
番号: 特願 2016-121034  
PCT 出願番号: 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
2. 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: 国立大学法人東北大学  
種類: 特許  
番号: 特願 2016-120901  
PCT 出願番号: 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

3.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：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特願 2016-140474

PCT 出願番号：PCT/JP2017/25822

出願年月日：2016年(平成28年)7月15日

国内外の別：国内外

4.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：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特願 2016-141942

PCT 出願番号：PCT/JP2017/26313

出願年月日：2016年(平成28年)7月20日

国内外の別：国内外

5.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：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特願 2016-160588

PCT 出願番号：PCT/JP2017/29685

出願年月日：2017年(平成29年)8月18日

国内外の別：国内外

6.名称：メベンダゾール及びノもしくはイトラコナゾール又はその塩を含有する、肺高血圧症の予防又は治療剤

発明者：下川宏明、佐藤公雄、大村淳一、菊地順裕、黒澤亮

権利者：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特願 2017-233034

出願年月日：2017年(平成29年)12月8日

国内外の別：国内

#### 取得状況(計2件)

1.名称：サイクロフィリンAによる心血管疾患の検査方法

発明者：下川宏明、佐藤公雄

権利者：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：

特許第 6316200 号

米国特許；特許第 9,791,461 号

取得年月日：登録日 2017年10月17日

国内外の別：国内外

2.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：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特許第 6188929 号

取得年月日：2017年8月10日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.cardio.med.tohoku.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

下川 宏明 (SHIMOKAWA HIROAKI)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00235681

(2)研究分担者

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