

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 28 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21790744

研究課題名（和文） c-Abl を介する新しい心肥大シグナリングの解明

研究課題名（英文） The role of c-Abl in cardiac hypertrophy signaling pathway

研究代表者

東條 大輝（TOJO TAIKI）

北里大学・医学部・講師

研究者番号：70327344

研究成果の概要（和文）：

本研究の目的は、レニン・アンジオテンシン系を介する心肥大シグナリングにおいて、c-Abl を介する未知の経路が存在することを証明し、かつ、同分子が治療標的となりうることを明らかにすることである。

我々の検討から、アンジオテンシンⅡの慢性投与によるマウス高血圧モデルの心筋において c-Abl の発現が有意に亢進しており、アンジオテンシンⅡの急性投与によりマウス心筋において c-Abl のチロシンリン酸化が著しく亢進することが示された。これらより、心臓リモデリングの重要過程の一つである心筋細胞肥大に c-Abl 重要な役割を演じていることが示唆され、c-Abl を薬理的、genetic ablation などで阻害することによって、アンジオテンシンによる反応が減弱するかどうか、動物モデルや培養心筋細胞等を用いて検討が必要と考えられる。

研究成果の概要（英文）：

We investigated the role of c-Abl in a cardiomyocyte hypertrophy signaling on cardiac remodeling in response to angiotensin II provocation. The cAbl may be an important modulator for Angiotensin II induced cardiac hypertrophy, and further investigations were needed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：心肥大、アンジオテンシンⅡ

1. 研究開始当初の背景

Abl 非受容体型チロシンキナーゼファミリーは細胞の形態形成や遊走、接着、増殖、生存などを制御する多様な刺激のシグナルに関与していることが報告されている。臨床の

場においては c-Abl の突然変異による活性化がヒト慢性骨髄性白血病（CML）の 95%以上の原因とされ、新しい治療薬イマチニブ（Imatinib Mesilate）の分子標的となって臨床実績をあげている。しかしながら、循環

器病の主たる発現の場である心血管系における c-Ab1 の役割については未知の点が多い。

著者らはアンジオテンシン II 慢性投与によるマウス高血圧モデルにおいて、大動脈における c-Ab1 のチロシンリン酸化が著しく亢進していることを以前に報告した (*Circ Res.* 2005;97:829-36.)。さらに培養血管平滑筋細胞において、平滑筋の肥大に重要な役割をもつとされるアンジオテンシン受容体の細胞内シグナリングにも関与していることも明らかとした。一方、心筋細胞における c-Ab1 の役割に関する報告は研究開始当初までほとんど見られなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、レニン・アンジオテンシン系を介する心肥大シグナリングにおいて、c-Ab1 を介する未知の経路が存在することを証明し、かつ、同分子が治療標的となりうることを明らかにすることである。

3. 研究の方法

① 急性負荷実験 (*Ex vivo*)

8-9 週齢の C57BL/6J マウスの心臓をシャーレ上でアンジオテンシン II に暴露させ、c-Ab1 発現および、チロシンリン酸化をウエスタンブロット法を用いて評価した。

② 動物モデル作成

8-9 週齢の C57BL/6J マウスを、ketamine (87 mg/kg) および xylazine (13 mg/kg) の腹腔内投与にて麻酔。局所を剃毛した後、背部皮下にアンジオテンシン II 慢性投与用のオスモティックミニポンプを植え込む。2 週間経時的にテイルカフ法を用いて血圧を測定し、血圧の上昇を確認し、高血圧モデルを作成。

③ 蛋白質発現評価

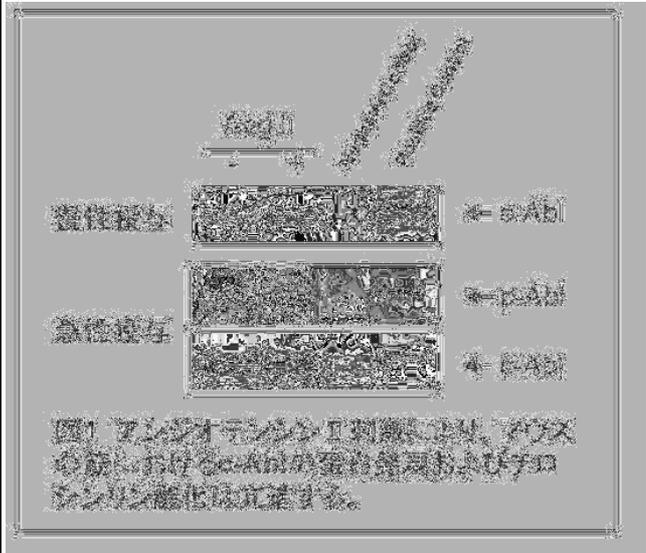
上記の方法で作成した高血圧モデルを用いて、心筋における c-Ab1 の発現レベルの検討をウエスタンブロット法を用いて行った。

4. 研究成果

Ex-vivo モデルを用いた急性期実験において、心臓に発現する c-Ab1 蛋白質発現に優位な変化は認められなかった。しかしながら、c-Ab1 のチロシンリン酸化は有意に亢進していた。

さらに、アンジオテンシン II 慢性投与による高血圧モデルマウスの心臓においては、急性投与実験で認められなかった c-Ab1 の発現上昇が確認された。

これらの実験結果より、血管のみならず、心筋細胞においても c-Ab1 がアンジオテンシン II の心肥大シグナリングに重要な役割を果たしていることが強く示唆された。



今後は c-Ab1 の発現・活性亢進の局在性、すなわち心筋細胞、繊維芽細胞、血管内皮もしくは平滑筋細胞など細胞特異性があるのかどうか、免疫組織学的アプローチで検討を行い、さらに c-Ab1 を薬理的、genetic ablationなどで阻害することによって、アンジオテンシンによる反応が減弱するかどうか、動物モデルや培養心筋細胞等を用いて検討を進めたいと考えている。

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 5 件)

- ① Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Takahira N, Masuda T, Kameda R, Wakaume K, Izumi T. Circulating interleukin-18: a specific biomarker for atherosclerosis-prone patients with metabolic syndrome. *Nutr Metab (Lond)*. 2011 Jan 20; 8:3. (査読あり)
- ② Kohro T, Yamazaki T, Izumi T, Daida H, Kurabayashi M, Miyauchi K, Tojo T, Nagai R; JCADII Investigators. Intensively lowering both low-density lipoprotein cholesterol and blood pressure does not reduce cardiovascular risk in Japanese

coronary artery disease patients. *Circ J.* 2011;75(9):2062-70. Epub 2011 Aug 3.

- ③ Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Takahira N, Masuda T, Izumi T. Ezetimibe and reactive oxygen species. *Curr Vasc Pharmacol.* 2011 Jan; 9(1): 109-20 (査読あり)
- ④ Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Takahira N, Matsunaga A, Aoyama N, Masuda T, Izumi T. Elevated circulating levels of an incretin hormone, glucagon-like peptide-1, are associated with metabolic components in high-risk patients with cardiovascular disease. *Cardiovascular Diabetology.* May 14; 9: 17, 2010 (査読あり)
- ⑤ Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Kosugi R, Hatakeyama Y, Yoshida Y, Machida Y, Aoyama N, Masuda T, Izumi T. Effects of ezetimibe add-on therapy for high-risk patients with dyslipidemia. *Lipids in Health and Disease.* Oct 12; 8: 41, 2009

[学会発表] (計 9 件)

- ① Kameda R, Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Wakaume K, Nemoto S, Kitasato L, Shichiri M, Izumi T. Salusin- β is a novel diagnostic biomarker of neutrally mediated syncope. The 76th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (PE-205) 3/17/2012, Fukuoka. (JCS 2012)
- ② Kitasato L, Yamaoka-Tojo M, Kameda R, Wakaume K, Nemoto S, Shimohama T, Tojo T, Izumi T. Effects of increasing physical activity on circulating levels of Tenascin-C in high risk patients with atherosclerosis. The 76th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (PE-140) 3/16/2012, Fukuoka. (JCS 2012)
- ③ Kameda R, Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Wakaume K, Nemoto S, Kitasato L, Yoshida Y, Shimohama T, Machida Y, Izumi T. Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase 1 is a novel predictor of cardiovascular disease progression in patients with coronary artery disease (11051/2023). 11/15/2011, Orland, FL, USA. *Circulation* (AHA2011 Supple)
- ④ Kameda R, Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Wakaume K, Nemoto S, Kitasato L, Yoshida Y, Hatakeyama Y, Machida Y, Izumi T. Association between Pentraxin

3 and renal function in patients at high risk of cardiovascular disease. The 15th Annual Scientific Meeting of Japanese Heart Failure Society (10/13/2011, Kagoshima, Japan), *Journal of Cardiac Failure*, 17 Supplement 1: S157 (P-018)

- ⑤ Wakaume K, Yamaoka-Tojo M, Nemoto S, Kameda R, Aiba N, Tojo T, Yoshida Y, Machida Y, Masuda T, Izumi T. Increased physical activity decreases circulating pentraxin 3 levels in patients at high risk of cardiovascular disease. ESC 2011, 8/29/2011, Paris, France (*European Heart Journal* (2011) 32 (Abstract Supplement p335), 1029)
- ⑥ Yamaoka-Tojo M, Kitasato L, Nemoto S, Wakaume K, Kameda R, Yoshida Y, Machida Y, Tojo T, Kasuda T, Izumi T. The plasma levels of B-type natriuretic peptide is a useful predictor of cardiac events for out-clinic patients with asymptomatic heart failure who are in stable condition. ESC 2011, 8/29/2011, Paris, France (*European Heart Journal* (2011) 32 (Abstract Supplement), 948)
- ⑦ Kameda R, Yamaoka-Tojo M, Wakaume K, Tojo T, Aiba N, Yoshida Y, Machida Y, Matsunaga A, Masuda T, Izumi T. The change of circulating interleukin-18 is associated with the change of arteriosclerosis, a 5-year observational study from Kitasato Registry of Cardiovascular Disease Prevention. The 75th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (日本循環器学会総会・学術集会), Yokohama (*Circ J.* 75: Suppl. I, MAR 19, 2011)
- ⑧ Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Wakaume K, Kameda R, Takahira N, Aoyama N, Matsunaga A, Masuda T, Izumi T. Lifestyle modification-improving systemic athero-protective factor, circulating pentraxin 3, in high-risk patients with metabolic syndrome. AHA2010, 11/15/2010, Chicago, IL, USA (*Circulation.* 2010;122:A10848)
- ⑨ Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Takahira N, Aoyama N, Masuda T, Izumi T. Anti-inflammatory effects of pentraxin 3 in human visceral

adipocytes by reducing reactive oxygen species production. ESC2010, 8/30/2010, Stockholm, Sweden (European Heart Journal (2010) 31 (Abstract Supplement), 544)

〔図書〕(計1件)

東條美奈子、東條大輝. エビデンスにもとづく循環器病予防医学, 疾病管理としての循環器予防医学、11 肥満 南山堂, 2012. 3. 15 発刊, 分担執筆 198-204。

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

東條 大輝 (TOJO TAIKI)
北里大学・医学部・講師
研究者番号：70327344