

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25年5月20日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390154

研究課題名（和文） 一酸化窒素合成酵素系（NOSs）の生物学的多様性に関する基礎的・臨床的研究

研究課題名（英文） Molecular mechanisms for NOSs-mediated responses in microvessels

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

研究成果の概要（和文）：

我々は、骨髄由来細胞が血管内皮機能制御に重要な役割を演じていることを証明した。正常マウスの骨髄置換により、特に微小血管の内皮機能が大きく回復し、高脂血症や糖尿病といった代謝機能をも改善することを報告した。また、内皮機能の回復には、脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンの増加が寄与していることを明らかにした。本研究の結果は、血管機能（特に微小血管）が骨髄由来細胞や脂肪細胞も関与した大きなネットワーク機構により見事に調節されていることを初めて示したものである。

研究成果の概要（英文）：

We demonstrated that bone marrow (BM) plays an important role in modulating microvascular endothelial and metabolic functions. We used male eNOS(-/-) mice which were transplanted with BM cells from wild-type (WT) or eNOS(-/-) mice. We demonstrated that endothelium-dependent relaxations and hyperpolarizations of mesenteric arteries to acetylcholine were reduced in eNOS(-/-) mice and were markedly improved when transplanted with WT-BM but not with eNOS(-/-)-BM. The enhanced component of endothelium-dependent relaxations was abolished by catalase, indicating that the improved responses were mediated by H₂O₂. In contrast, no such beneficial effect was noted in the aorta.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2011年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2012年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

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：血管内皮・内皮由来弛緩因子・一酸化窒素・過酸化水素・一酸化窒素合成酵素

1. 研究開始当初の背景

血管内皮は、内皮由来弛緩因子

(endothelium-derived relaxing factors, EDRFs)と総称される弛緩因子を産生・遊離して、短期的には血管トーンを弛緩優位に保ち、長期的には動脈硬化の発生・進展を抑制して、心血管系の恒常性の維持に極めて重要な働き

をしている。この EDRFs には3種類あり、第1のプロスタサイクリン(PGI₂)、第2の一酸化窒素(NO)は既に同定され、一部で臨床応用されている。第3の因子である内皮由来過分極因子(endothelium-derived hyperpolarizing factor, EDHF)の本体は不明であったが、我々は、NOとEDHFには血管径による明らかな

役割分担があり、種差や血管床の如何に関わらず、NOはより太い血管で、EDHFは微小血管で重要な働きをしていることを明らかにしてきた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、我々自身のこれまでの研究成果に基づき、一酸化窒素合成酵素(NOSs)系の生物学的多様性、特にこれまで全く明らかにされていないNOSsのNOを介さない機序での多彩な生体の恒常性維持機構に関して、血管反応性や、NOSs/Rho-Kinase経路の臓器連関、NOSsの代謝調節における生物学的多様性の観点から解明することである。

3. 研究の方法

研究方法としては、正常マウスおよび合計12種類の我々独自の遺伝子改変マウスを用いた病態生理の解析に加え、骨髄置換実験や選択的Rho-kinase阻害薬の慢性投与実験、張力測定実験等を行った。

4. 研究成果

本研究では、一酸化窒素合成酵素系(NOSs)に関する、以下のような点を明らかにした。

(1)血管径によるNOSs機能の顕著な多様性には多くの機構が関与していること、また、この血管径による顕著な機能分化に骨髄由来細胞が関与していること。

(2)急性心筋梗塞・腎病変・メタボリックシンドローム等の表現型がEDHF/H2O2反応が消失したNOSs完全欠損マウスで初めて顕在化し、NOSsの生体の恒常性維持作用の一部はNOを介さない作用で惹起されていること。

(3)我々がNOSs研究と平行して行ってきた血管反応性や動脈硬化の分子機構におけるRho-kinase経路の重要性が、これらのNOSsの生物学多様性と実は深く関与している可能性が出てきたこと。

本研究を通じて、これまで明らかにされていなかったNOSsの生物学的多様性が初めて明らかになった。

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(全て査読あり)](計107件)

1. Tanaka S, Fukumoto Y, Nochioka K, Minami T, Kudo S, Shiba N, Takai Y, Williams CL, Liao JK, Shimokawa H. Statins exert pleiotropic effects through SmgGDS up-regulation with a resultant Rac1 degradation. *Arterioscler Throm Vasc*

Biol. 2013(in press) doi: 10.1161/ATVBAHA.112.300922

2. Takagi Y, Yasuda S, Takahashi J, Tsunoda R, Ogata Y, Seki A, Sumiyoshi T, Matsui M, Goto T, Tanabe Y, Sueda S, Sato T, Ogawa S, Kubo N, Momomura S, Ogawa H, Shimokawa H. Clinical implications of provocation tests for coronary artery spasm: safety, arrhythmic complications and prognostic impact -Multicenter registry study of the Japanese Coronary Spasm Association- *Eur Heart J.* 34:258-267,2013. doi: 10.1093/eurheartj/ehs199.
3. Satoh K, Fukumoto Y, Sugimura K, Miura Y, Aoki T, Nochioka K, Tatebe S, Miyamichi-Yamamoto S, Shimizu T, Osaki S, Takagi Y, Tsuburaya R, Ito Y, Matsumoto Y, Nakayama M, Takeda M, Takahashi J, Ito K, Yasuda S, Shimokawa H. Plasma cyclophilin A is a novel biomarker for coronary artery disease. *Circ J.* 77:447-455,2013. doi:10.1253/circj.CJ-12-0805
4. Nakajima S, Ohashi J, Sawada A, Noda K, Fukumoto Y, Shimokawa H. Essential role of the bone marrow for microvascular endothelial and metabolic functions in mice. *Circ Res.* 111:87-96, 2012. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.112.270215.
5. Ohashi J, Sawada A, Nakajima S, Noda K, Takaki A, Shimokawa H. The mechanisms for enhanced endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated responses in microvessels in mice. *Circ J.* 76:1768-1779, 2012. doi:10.1253/circj.CJ-12-0197
6. Tsuburaya R, Yasuda S, Shiroto T, Ito Y, Gao JY, Aizawa K, Kikuchi Y, Ito K, Takahashi J, Ishibashi-Ueda H, Shimokawa H. Long-term treatment with nifedipine suppresses coronary hyperconstricting responses and inflammatory changes induced by paclitaxel-eluting stent in pigs *in vivo*: Possible involvement of Rho-kinase pathway- *Eur Heart J.* 33:791-799, 2012. doi: 10.1093/eurheartj/ehs145.
7. Satoh K, Shimokawa H. Vascular-derived reactive oxygen species for homeostasis and diseases. *Nitric Oxide.* 25:211-215, 2011. doi: 10.1016/j.niox.2011.04.005.
8. Satoh K, Fukumoto Y, Shimokawa H.

Rho-kinase: Important new therapeutic target in cardiovascular diseases. *Am J Physiol.* 301:H287-296,2011. doi: 10.1152/ajpheart.00327.2011.

[学会発表] (計 67 件)
<国際学会> (* 招待講演)

- 1. European Society of Cardiology Congress 2012 (August 25-29, Munich, Germany)**
<Hotline Session>
*Shimokawa H. The Great East Japan Earthquake Disaster and cardiovascular diseases.
- 2. 6th European Congress of Pharmacology (July 19, 2012, Granada, Spain)**
<Main Session: Rho/Rho-kinase Signaling in Health and Diseases>
*Shimokawa H. Role of Rho/Rho-kinase pathway in the cardiovascular system.
- 3. Rome Cardiology Forum 2012 (March 30, 2012, Rome, Italy)**
<Symposium: Update on coronary vasomotion>
*Shimokawa H. Update on coronary spasm.
- 4. Invited lecture at the San Raffaele University (March 30, 2012, Milano, Italy)**
*Shimokawa H. Rho-kinase as an important new therapeutic target in cardiovascular medicine.
- 5. Invited lecture at Royal Adelaide Hospital (April 30, 2012, Adelaide, Australia)**
*Shimokawa H. Recent progress in endothelial research.
- 6. Invited lecture at the Cardiac Society of Australia & New Zealand Meeting (May 1, 2012, Adelaide, Australia)**
*Shimokawa H. Coronary spasm in 2012: Mechanisms and treatment.
- 7. Invited lecture at Medical Grand Round of the Queen Elizabeth Hospital (May 1, 2012, Adelaide, Australia)**
*Shimokawa H. Rho-kinase as an important CV therapeutic target.
- 8. Invited lecture at the Cardiology Academic Meeting of the Queen**

Elizabeth Hospital (May 1, 2012, Adelaide, Australia)

*Shimokawa H. Recent progress in endothelial research.

9. Invited lecture at the Flinders Medical Center (May 2, 2012, Adelaide, Australia)

*Shimokawa H. Present status & future perspectives of heart failure in Japan.

[図書] (計 53 件)

1. 下川宏明: 日本人の虚血性心疾患に関する基礎的・臨床的研究. 日本医師会雑誌 141:2237-2242,2013. (日本医師会医学賞受賞記念総説)
2. 下川宏明、神戸茂雄: 内皮由来過分極因子の医学的意義. 血栓と循環 (メディカルレビュー社). 20:165-169,2012.
3. 下川宏明: 大震災と循環器・呼吸器疾患 (序文). 呼吸と循環 (医学書院). 60:895-895,2012.
4. 下川宏明: H₂O₂ が制御する血管弛緩反応. 日本薬理学雑誌. (日本薬理学会) 139:229-235,2012.
5. 下川宏明: 肺高血圧診療の進歩をみる. 特集にあたって (先端医学社). *Vascular Medicine.* 8:1-2,2012.
6. 下川宏明: 医学論文の書き方 -Circulation Journal 編集長からのアドバイス- 心臓 (日本心臓財団・日本循環器学会) 43:1414-1416,2011.

[産業財産権]

○出願状況 (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: 下川宏明、佐藤公雄 (国立大学法人東北大学)
種類: 特許
番号: 特願 2012-239615
出願年月日: 2012 年 10 月 30 日
国内外の別: 国内

2.

名称：「スタチンの用法、用量を決定する方法」

発明者：下川宏明、田中眞一

権利者：下川宏明、田中眞一

種類：特許

番号：特願 2011-197906

出願年月日：2011年9月12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・高等教育開発推進センター

・准教授

研究者番号：80436120