

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590256

研究課題名(和文)心房細動の発症・維持に関与する新しいイオンメカニズムの解明

研究課題名(英文)Possible Involvement of ion Channels in atrial fibrillation

研究代表者

飯野 健二 (Iino, Kenji)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：30400485

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：TRPチャネルの研究により、心筋細胞におけるCa<sup>2+</sup>シグナルの分子候補が明らかとなってきた。心臓のTRPチャネルは、膜電位や非収縮性のコンパートメントへのCa<sup>2+</sup>流入などに密接に関与している。この研究ではTRPチャネルの心房細動における役割について注目した。(a) TRPC1、TRPC3、TRPC6の活性化は、心肥大に関与し、心房負荷となり不整脈発症に関与する。また(b) TRPM4,7、TRPC3,6が不整脈の器質としての心房リモデリングやmechanical stretchに関与すると考えられる。以上よりTRPチャネルは、ヒト心疾患の治療における新規薬理的標的となり得る可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Studies of transient receptor potential (TRP) channels have significantly extended our knowledge regarding the molecular basis of Ca<sup>2+</sup> signals in cardiac myocytes. The functional significance of cardiac TRP channels is likely connected to the alteration of membrane potential or Ca<sup>2+</sup> entry into a noncontractile compartment, where gene expression responsible for various cardiac diseases is induced. This study highlights some aspects of TRP channels with anticipated roles in cardiac disease. Evidence suggests that (a) increased activities of TRPC1, TRPC3, or TRPC6 are involved in the development of cardiac hypertrophy, where these TRPC channels act as unique sensors for a wide range of hypertrophic stimuli, and (b) increased activities of TRPM4,7 and TRPC3,6 are involved in atrial remodeling or mechanical stretch on cardiac arrhythmia. Ultimately, TRP channels may become novel pharmacological targets in the treatment of human cardiac disease.

研究分野：医歯薬学

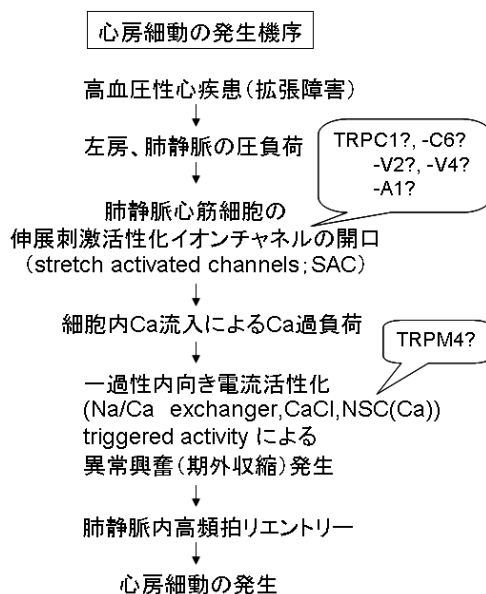
科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：心房細動 イオンチャネル TRPチャネル

1. 研究開始当初の背景

近年、心房細動治療の格段の進歩に呼応して、その分子メカニズムも徐々に解明され、心房細動の発症には肺静脈内心筋の寄与が、心房細動の維持には心房筋の電気的リモデリングが重要な役割を果たすことがわかってきた。心房細動の電気生理学的な発症因子としては、肺静脈心筋細胞を起源とする期外収縮が注目されている。その細胞内メカニズムの一つとして肺静脈心筋細胞内リアノジン受容体の機能異常の報告があるが、高血圧性心疾患による拡張障害などがある際には、下記(図1)のような機序が想定されている。しかし、肺静脈心筋細胞のメカノセンサーとなる SAC (Stretch activated channel) の分子実体は、未だ不明である。また Ca 過負荷で活性化し triggered activity の原因となる一過性内向き電流に関しても、詳細はよく分かっていない。Na/Ca exchanger や、私達が報告した Ca 活性化 Cl 電流 (Nakajima & Iino, Circ. J 2003) に加え、心房 Ca 活性化非選択性陽イオンチャンネル (Ca activated nonselective cation channels; NSC(Ca)) も、その候補としてあげられる。しかし、近年、これら SAC や NSC(Ca) の分子候補として transient receptor potential (TRP) チャンネルが発見された。TRP superfamily は 20 種類以上のホモログからなり TRPC, TRPV, TRPM などの subfamily に大別される。本研究では、心房細動における新たなイオンメカニズムとして、Ca 流入性イオンチャンネル Transient Receptor Potential (TRP) チャンネルに注目し、それらの心房細動発症・維持への関与を明らかにする。

図 1



2. 研究の目的

心房細動における Ca 流入性イオンチャンネル Transient Receptor Potential (TRP) チャンネルの心房細動発症・維持への関与を明らかに

する。

3. 研究の方法

心房細動の発症機序に関する研究は、心房筋における TRP チャンネルの発現状況を quantitative RT-PCR や Western blotting を行って調べる。また、Stretch activated channel (SAC), Ca activated nonselective cation channels (NSC(Ca)) の電気生理学的解析や TRP チャンネルの発現解析、さらに種々の TRP チャンネルブロッカーによる心房細動抑制効果を検討し、SAC や NSC(Ca) の分子実体を同定する。

4. 研究成果

心房細動の電気生理学的成因としては発症因子と維持機構の要素があると考えられることができる。高血圧性心疾患による肥大および拡張障害などがある際には、左房、肺静脈の圧負荷が肺静脈心筋細胞の伸展刺激活性化イオンチャンネルを開口し、細胞内への Ca 流入による Ca 過負荷を引き起こす。その結果として一過性内向き電流の活性化、Triggered activity による異常興奮が発生し肺静脈内のリエントリーを形成し心房細動発症へとつながる。不整脈に関わる Ca activated NSCCs として TRP チャンネルが存在する。TRP スーパーファミリーは、アミノ酸配列や分子構造の類似性から TRPC, TRPV, TRPM のほか TRPN, TRPP, TRPM, TRPA と計 7 つのサブファミリーに大別され、これら TRP チャンネルは、全身の臓器に広く発現している。その基本的な分子構造は膜電位依存性イオンチャンネルと類似しており、膜 6 回貫通型のイオンチャンネルで細胞質内に N, C 末端が存在する。しかし、膜電位依存性イオンチャンネルと異なり第 4 膜貫通領域に電圧センサーを持たず、多くはチャンネル活性化に膜電位変化を必要としないという特徴がある。これらチャンネルは、TRPC (C for canonical), TRPV (V for vanilloid), TRPM (from the tumor suppressor melastatin), TRPP (P for polycystin), TRPML (ML for mucolipin), TRPA (A for ankyrin), and TRPN (N for NOMPC-like) など多くが、心血管系細胞で確認された (Table 1)。左室肥大など左房負荷がかかる病態では、TRP チャンネルタンパクから構成される SAC や NSC(Ca) の活性化が起こり、それが心房細動の発症要因となると考えられる。我々は、SAC の分子候補として心肥大の際に発現している TRPC1, 3 の関与、および心房圧上昇に TRPC6 が関与する可能性を報告した。また、これらによる心肥大を抑制する薬剤として、BTP2 が TRPC1 やその他の RPCs を抑制すること、Pyr3 が TRPC3 を抑制すること、PDE5 inhibitor が TRPC6 を抑制することを報告した(図 2)。

Table 1

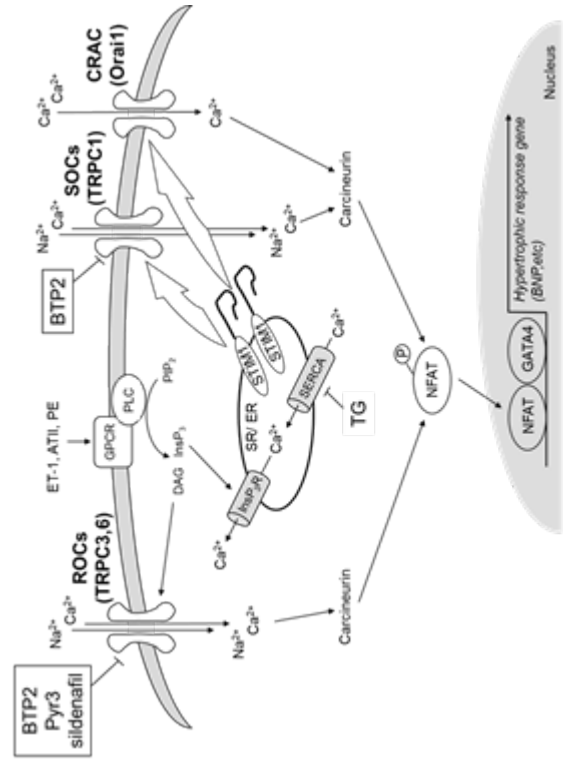
Table 1. Expression profile of TRP homologs, Ora1s and Stim1s in cardiomyocytes

TRP	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	V1	V2	V3	V4	V5	V6	P1	P2	P3
Human	NB				RT, WB	RT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NB	NB	ND
Rat	RT, WB	RT	RT, WB	RT, WB	RT, WB	RT, WB	NB, WB	WB	WB	ND	ND	ND	ND	RT	ND	ND
Mouse	RT, WB	RT	RT, WB	RT, WB	RT, WB	RT, WB	RT, NB, WB	RT, WB	RT, WB	ND	ND	ND	ND	ND	RT	ND
M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	Ora1	Ora2	Ora3	STIM1	STIM2				
Human	ND	ND	RT	ND	ND	ND	RT, WB	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Rat	ND	ND	ND	RT, WB	ND	ND	RT	RT, WB	RT, WB	RT	RT	RT, WB	RT	RT	RT	RT
Mouse	ND	ND	ND	RT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

RT indicates RT-PCR, NB; Northern blots; WB; Western blots, ND; not detectable.  
TRPC2 is pseudo-gene in human.

これらの TRPCs の抑制が心肥大や不整脈治療の新たな標的となる可能性が考慮される。また、ヒト心房筋において、Ca activated NSCC の分子候補が TRPM4 からなっていること、TRPM4 は心室筋よりも心房筋に多く発現していること、さらにこの発現パターンは心肥大によって変化することが明らかとなった。機能分析においては脱分極電位と細胞内 Ca transient と共に TRPM4 の活性が増加していることが明らかとなったことから、TRPM4 は Ca 過負荷における after depolarization に重要な役割を担っていること、また不規則な電気的活動を引き起こすことが考えられ、TRPM4 は心肥大における心房由来の不整脈の原因となる可能性がある。また、TRPM4 阻害薬である 9-phenanthrol が early afterdepolarizations (EAD) を抑制したことから、抗不整脈作用を示す可能性があると考えられる。

図 2



また、不整脈の器質としての心房の線維化も重要視されており、心房細動患者から得た心房の線維芽細胞 atrial fibroblasts において TRPM7 電流と Ca 流入が確認されていること、筋線維芽細胞 myofibroblast へと分化しやすいことから、TRPM7 の発現増加が関与していると考えられる。また、TGF- $\beta$  1 によるヒト心房線維芽細胞の分化は TGF- $\beta$  1 による TRPM7 の発現増加と密接に相関していることもわかってきた。したがって、TRPM7 は、TGF- $\beta$  1 による心房線維芽細胞における線維性増生に重要な役割を担っていると考えられる。また、atrial fibroblasts の増殖期において TRPC3 電流の存在が示され、TRPC3 の活性化も示された。TRPC3 依存性の fibroblasts への Ca 流入は fibroblasts の増生と myofibroblasts への分化を促した。一方、TRPC3 の抑制により fibroblast が抑制され、AF によるリモデリングを抑制する可能性が示された。これらの現象から、ヒトの心房細動の器質的变化においてはこのような cardiac fibroblasts における TRPC3 と TRPM7 が関与していると考えられる。

また、心肥大など圧負荷がかかる状態においては、心筋が拡張されるため、Mechanical stretch は心房細動の原因と考えられる。Mechanical stretch は SAC を活性化し、膜電位の脱分極、不応期の短縮、遅延電動、dispersion を引き起こす。SAC としては potassium-selective channels, chloride-selective anion channels, NSCCs など数種の SACc が報告されている。心房細動モデルにおいて、GsMTx4 での SACs の抑

制により心房細動を抑制したことが報告されている。しかしながら、SACs の分子候補は明確となっていない。近年、少なくとも 10 の TRP チャネルが mechanosensitivity を有していることが報告されている (TRPC1, 5, 6; TRPV1, 2, 4; TRPM3, 7; TRPA1; TRPP2) が、そのメカニズムはまだ明らかとなっていない。それら TRP のなかでも、心室の心筋細胞の機械的変形が TRPC6 を活性化すること、そして GsMTx4 によって抑制されることが明らかとなった。このように、TRPC6 のコントロールが mechanical stretch-induced arrhythmia における治療オプションとなるかもしれない。

以上、TRP チャネルと不整脈のかかわりについて報告した。しかし、TRP チャネルの活性化機序や電気生理学的特性には多様性があること、TRPC チャネルタンパクは hetero-multimer となって 1 つのチャネルを形成すること、細胞内 Ca イオン自身もユビキタスなセカンドメッセンジャーであることから、それらの関連性は複雑で、現時点においてもまだほんの一部しか明らかになっていない。今後は引き続き、TRP channel と不整脈の関わりについて検討し不整脈治療や心臓病治療の新たなターゲットとしての可能性について検討していく。

#### 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 2 件)

Watanabe H, Iino K, Ohba T, Ito H Possible involvement of TRP channels in cardiac hypertrophy and arrhythmia Curent Topics in Medical Chemistry 査読有、13,2013,283-294

Kiso H, Ohba T, Iino K, Terada Y, Murakami M, Ono K, Watanabe H, Ito H Sildenafil prevents the up-regulation of TRPCs in the development of cardiomyocytes hypertrophy Biochemical and Biophysical Research Communications 査読有、436,2013,514-518

##### [学会発表](計 2 件)

Watanabe H Transient receptor potential (TRP) Channel and Hypertensive Heart Disease The23th Scientific Congress of KSH (招待講演) 2013.5.10. Korea

Watanabe H TRP channel and cardiac hypertrophy The23th Scientific Congress of KSH (招待講演) 2013.5.11. Korea

##### [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

飯野 健二 (IINO Kenji)

秋田大学医学部・講師

研究者番号：30400485

##### (2) 研究分担者

渡邊 博之 (WATANABE Hiroyuki)

秋田大学大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：80323145

伊藤 宏 (ITO Hiroshi)

秋田大学大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10232464

小山 崇 (KOYAMA Takashi)

秋田大学医学部・助教

研究者番号：50508273

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：