

平成 26 年 5 月 20 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659386

研究課題名(和文) myocardinとMRTF-AのmiR1を介した相反的発現変化の血管病での意義

研究課題名(英文) Significance of reciprocal expression of myocardin and MRTF-A during the development of vascular disease

研究代表者

桑原 宏一郎 (Kawahara, Koichiro)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：30402887

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：rho依存性SRF転写共役因子myocardin-related transcription factor (MRTF)-Aの病的血管リモデリングにおける意義を検討したところ、血管障害モデル動物の傷害血管においてMRTF-Aの発現が亢進しており、活性化し脱分化した血管平滑筋の増殖、遊走に重要な役割を果たすことが示された。さらに血管障害モデルマウスにおいてMRTF-A阻害薬CCG-1423は有意に病的血管リモデリングを抑制し、MRTF-A阻害が新たな血管病治療・予防薬となりうる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Expression of myocardin-related transcription factor (MRTF)-A, a Rho signaling-responsive co-activator of serum response factor (SRF), was found to be increased in injured arteries and to be involved in the increase in proliferation and migration capacity in undifferentiated, activated vascular smooth muscle cells. Moreover, the MRTF-A inhibitor CCG1423 significantly reduced neointima formation following vascular injury in mice. MRTF-A could thus be a novel therapeutic target for the treatment of vascular diseases.

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：分子血管病態学 転写調節

1. 研究開始当初の背景

動脈硬化を基盤として発症する血管病変に起因する心血管病は、日本など先進国の死因の多くを占め、その病態解明に基づく新規治療標的の同定が望まれる。しかし動脈硬化やそれに伴う血管リモデリングにおいて重要な役割を果たす血管平滑筋の形質転換・病的増殖の過程で、増殖因子やサイトカインにより活性化した細胞内シグナルが下流の転写因子活性およびその標的遺伝子発現を変化させる詳細なメカニズムはまだ不明である。近年病的血管リモデリングにおいて small G 蛋白 rho とその下流標的である ROCK(rho キナーゼ)が血管平滑筋の収縮や形質転換に伴う遊走能・増殖能の亢進、炎症制御を介して、重要な役割を担うことが示された。しかし血管リモデリングにおける rho-ROCK 経路の下流の標的分子とそこに関わる分子機構は未だ不明な点が多く、その解明が動脈硬化性血管病変における新規治療標的の発見につながることを期待される。近年新たに同定された myocardin family に属する転写共役因子 MRTF-A は、rho/ROCK 経路に引き続くアクチンリモデリング活性化に伴い核内に移行し、転写因子 SRF 活性化を介して遺伝子発現を制御することが示され、rho/ROCK 活性化に引き続く病的遺伝子発現、組織リモデリングに関与することが明らかとなりつつある。更に冠動脈疾患患者の GWAS 解析により、MRTF-A 発現亢進に関与する SNP が冠動脈疾患発症と相関することも報告された。しかし病的血管リモデリングにおける MRTF-A の意義はまだ明らかでない。

2. 研究の目的

rho 依存性転写共役因子 MRTF-A の血管病変形成における役割を明らかにし、その血管病新規治療標的としての意義を検討する。

3. 研究の方法

3-1、血管障害モデル動物を用いた MRTF-A の病的血管リモデリングにおける役割の解析。

MRTF-A の病的血管リモデリングにおける意義を明らかにするため、大腿動脈ワイヤー擦過血管障害モデル、頸動脈縮窄モデル、ApoE ノックアウト動脈硬化モデルマウスを用いて、MRTF-A の傷害血管における発現を検討し、分化した血管平滑筋に発現する myocardin の発現と比較した。また通常の飼育条件では妊娠時のメスの乳腺発達以外には明らかな異常を呈さない MRTF-A ノックアウトマウス(KO)においてこれら血管障害モデルを作製し、その解析を生化学的、分子生物学的、生理学的、組織学的側面から多面的に解析し、MRTF-A^{+/+}マウスの血管病変と比較検討した。

3-2、培養平滑筋細胞を用いた MRTF-A の病的血管リモデリングにおける役割の解析。

合成型血管平滑筋の細胞モデルである培養血管平滑筋細胞を用いて、MRTF-A の病的血管リモデリングにおける発現亢進機序およびその役割に関して分子機序を含めて検討した。

3-3、MRTF-A 阻害薬を用いた MRTF-A の新規血管病治療薬としての意義の検討。

MRTF-A 阻害作用を有する CCG-1423 を傷害血管モデルマウスに投与し、その病的血管リモデリングに対する効果を検討した。

4. 研究成果

血管障害モデル動物の傷害血管において MRTF-A の発現が亢進しており、活性化し脱分化した血管平滑筋の増殖、遊走に重要な役割を果たすことを明らかにした。また MRTF-A 発現亢進には、分化した血管平滑筋細胞に発現する myocardin の脱分化型血管平滑筋細胞における発現低下に伴う、microRNA-1 の発現低下による MRTF-A 発現抑制解除が関与していることを見出した。さらに血管障害モデルマウスにおいて MRTF-A 阻害薬 CCG-1423 を投与したところ、有意に病的血管リモデリングを抑制し、MRTF-A 阻害が新たな血管病治療・予防薬となりうる可能性が示された。

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](計 15 件)

1. Nakagawa Y, Nishikimi T, Kuwahara K, Yasuno S, Kinoshita H, Kuwabara Y, Nakao K, Minami T, Yamada C, Ueshima K, Ikeda Y, Okamoto H, Horii K, Nagata K, Kangawa K, Minamino N, Nakao K. The Effects of Super-Flux (High Performance) Dialyzer on Plasma Glycosylated Pro-B-Type Natriuretic Peptide (proBNP) and Glycosylated N-Terminal proBNP in End-Stage Renal Disease Patients on Dialysis. **PLoS One**. 9(3):e92314. 2014.
2. Uosaki H, Magadum A, Seo K, Fukushima H, Takeuchi A, Nakagawa Y, Moyes KW, Narazaki G, Kuwahara K, Laflamme M, Matsuoka S, Nakatsuji N, Nakao K, Kwon C, Kass DA, Engel FB, Yamashita JK. Identification of Chemicals Inducing Cardiomyocyte Proliferation in Developmental Stage-Specific Manner with Pluripotent Stem Cells. **Circ Cardiovasc Genet**. 6(6):624-33. 2013.
3. Kuwahara K. Role of NRSF/REST in the Regulation of Cardiac Gene Expression and Function. **Circ J**. 77(11):2682-6. 2013.

4. Yasuno S, Kuwahara K, Kinoshita H, Yamada C, Nakagawa Y, Usami S, Kuwabara Y, Ueshima K, Harada M, Nishikimi T, Nakao K. Angiotensin II Type 1a receptor signaling directly contributes to the increased arrhythmogenicity in cardiac hypertrophy **Br J Pharmacol.** 170(7):1384-95. 2013.
 5. Nishikimi T, Kuwahara K, Nakagawa Y, Kangawa K, Nakao K. Adrenomedullin in Cardiovascular Disease: A Useful Biomarker, Its Pathological Roles and Therapeutic Application. **Curr Protein Pept Sci.** 14(4):256-267. 2013.
 6. Kuwabara Y, Kuwahara K, Takano M, Kinoshita H, Arai Y, Yasuno S, Nakagawa Y, Igata S, Usami S, Minami T, Yamada Y, Nakao K, Yamada C, Shibata J, Nishikimi T, Ueshima K, Nakao K. Increased Expression of HCN Channels in the Ventricular Myocardium Contributes to Enhanced Arrhythmicity in Mouse Failing Hearts. **J Am Heart Assoc.** 2(3):e000150. 2013.
 7. Funayama A, Shishido T, Netsu S, Narumi T, Kadowaki S, Takahashi H, Miyamoto T, Watanabe T, Woo CH, Abe JI, Kuwahara K, Nakao K, Takeishi Y, Kubota I. Cardiac nuclear High Mobility Group Box 1 prevents the development of cardiac hypertrophy and heart failure. **Cardiovasc Res.** 99(4):657-64.2013
 8. Nishikimi T, Okamoto H, Nakamura M, Ogawa N, Horii K, Nagata K, Nakagawa Y, Kinoshita H, Yamada C, Nakao K, Minami T, Kuwabara Y, Kuwahara K, Masuda I, Kangawa K, Minamino N, Nakao K. Direct Immunochemiluminescent Assay for proBNP and Total BNP in Human Plasma proBNP and Total BNP Levels in Normal and Heart Failure. **PLoS One.** 8(1):e53233. 2013.
 9. Matsumoto E, Sasaki S, Kinoshita H, Kito T, Ohta H, Konishi M, Kuwahara K, Nakao K, Itoh N. Angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and fibrosis are promoted in mice lacking Fgf16. **Genes Cells.** 18(7);544-553.2013
 10. Nishida M, Ishikawa T, Saiki S, Sunggip C, Aritomi S, Harada E, Kuwahara K, Hirano K, Mori Y, Kim-Mitsuyama S. Voltage-dependent N-type Ca²⁺ channels in endothelial cells contribute to oxidative stress-related endothelial dysfunction induced by angiotensin II in mice. **Biochem Biophys Res Commun.** 434(2):210-6. 2013.
 11. Kawai M, Yoshimura M, Harada M, Mizuno Y, Hiramitsu S, Shimizu M, Shoda T, Kuwahara K, Miyagishima K, Ueshima K, Nakao K. Determination of the B-type Natriuretic Peptide Level as a Criterion for Abnormalities in Japanese Individuals in Routine Clinical Practice: The J-ABS Multi-center Study (Japan Abnormal BNP Standard). **Intern Med.**52(2):171-7. 2013
 12. Hosoda K, Yasoda A, Ebihara K, Kuwahara K, Mukoyama M, Nakao K [109th Scientific Meeting of the Japanese Society of Internal Medicine: symposium: 2. Translational research and evidence-based medicine (EBM) in internal medicine in Japan, translational research; 4) Translational research of endocrinology and metabolism]. **Nihon Naika Gakkai Zasshi.** 101(9):2552-62. 2012
 13. Nishikimi T, Kuwahara K, Nakagawa Y, Kangawa K, Minamino N, Nakao K. Complexity of molecular forms of B-type natriuretic peptide in heart failure. **Heart.** 99(10):677-679.2012
 14. Minami T, Kuwahara K, Nakagawa Y, Takaoka M, Kinoshita H, Nakao K, Kuwabara Y, Yamada Y, Yamada C, Shibata J, Usami S, Yasuno S, Nishikimi T, Ueshima K, Sata M, Nakano H, Seno T, Kawahito Y, Sobue K, Kimura A, Nagai R and Nakao K. Reciprocal expression of MRTF-A and myocardin is crucial for pathological vascular remodeling in mice. **EMBO J** 31(23):4428-40. 2012.
 15. Shimizu K, Kawakami S, Hayashi K, Kinoshita H, Kuwahara K, Nakao K, Hashida M, Konishi S. In vivo site-specific transfection of naked plasmid DNA in mice using a tissue suction device. **Plos One.** 7(7):e41319.2012
- [学会発表](計22件)
1. 第29回国際心臓研究学会(ISHR)日本部会、福岡、2012年10月26~27日
N-Type Ca²⁺ Channel Blockade Prevents Sudden Death in Mice with Heart Failure
Yuko Yamada, Koichiro Kuwahara, Hideyuki Kinoshita, Yoshihiro Kuwabara, Yasuaki Nakagawa, Chinatsu Yamada, Takeya Minami, Shinji Yasuno, Kazuhiro Nakao, Toshio Nishikimi, Kenji Ueshima, Yasuo Mori, Wataru Shimizu, Kenji Kangawa, Kazuwa Nakao
 2. 第29回国際心臓研究学会(ISHR)日本

- 部会、福岡、2012年10月26~27日
 Reciprocal expression of MRTF-A and Myocardin is crucial for pathological vascular remodeling in mice
 Takeya Minami, Koichiro Kuwahara, Yasuaki Nakagawa, Hideyuki Kinoshita, Kazuhiro Nakao, Yoshihiro Kuwabara, Toshio Nishikimi, Kazuwa Nakao
3. 第29回国際心臓研究学会(ISHR)日本部会、福岡、2012年10月26~27日
 Neurohumoral regulation in the process of pathological cardiac remodeling
Koichiro Kuwahara, Kazuwa Nakao (Symposium)
 4. 第15回日本心血管内分泌代謝学会学術総会 2012/11/25-26 東京都
 左室リモデリング進行及び催不整脈性抑制におけるレニン阻害の有用性の検討
 山田千夏 桑原宏一郎 木下秀之 錦見俊雄 桑原佳宏 南丈也 中尾一泰 中川靖章 中尾一和
 5. The77th Annual Scientific Meeting of The Japanese Circulation Society March 15-17,2013, Pacifico Yokohama, Yokohama Japan
Koichiro Kuwahara
 Elucidation of molecular mechanisms underlying the regulation and action of cardiovascular hormones to find novel therapeutic targets for cardiovascular diseases
 6. The77th Annual Scientific Meeting of The Japanese Circulation Society March 15-17,2013, Pacifico Yokohama, Yokohama Japan
Koichiro Kuwahara, Kazuwa Nakao
 Multi-organ communication in sudden arrhythmic death accompanied with heart failure
 7. 第90回日本生理学会大会、2013/3/27-29、東京
桑原宏一郎、中尾一和
 心不全・突然死モデルマウスを用いた心不全の病態解明と新規治療標的の同定
 8. 第50回臨床分子医学会、2013/4/12-13、東京
 中尾一泰 桑原宏一郎 錦見俊雄 中川靖章 木下秀之 宇佐美覚 桑原佳宏 南丈也 山田千夏 山田優子 保野慎治 上嶋健治 曾根正勝 寒川賢治 中尾一和
 血管壁ナトリウム利尿ペプチド系の意義の解明 - 血管内皮細胞特異的C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)ノックアウトマウスの解析 -
 9. 第50回臨床分子医学会、2013/4/12-13、東京
 山田千夏、桑原宏一郎、木下秀之、錦見俊雄、中尾一泰、桑原佳宏、中川靖章、中尾一和
 拡張型心筋症モデルマウスにおける左室リモデリング及び不整脈源性基質形成におけるレニン-アンジオテンシン系の意義
 10. 第86回日本内分泌学会学術総会、2013.4.25-27. 仙台
 山田千夏、桑原宏一郎、木下秀之、錦見俊雄、中尾一泰、桑原佳宏、保野慎治、中川靖章、上嶋健治、中尾一和
 左室リモデリング進行及び催不整脈性抑制におけるレニン-アンジオテンシン系の検討
 11. 第2回臨床高血圧フォーラム 2013年5月25日~26日
 JPタワーホール&カンファレンス(東京)
 中川靖章、錦見俊雄、桑原宏一郎、保野慎治、木下秀之、桑原佳宏、中尾一泰、山田千夏、上嶋健治、中尾一和
 透析患者における血中N端 proBNPの糖鎖修飾と測定系への影響について
 12. 第2回日本肺循環学会学術集会 2013.6.22-23 東京
 木下秀之、桑原宏一郎、清中茂樹、森泰生、赤木達、中村一文、桑原佳宏、中川靖章、錦見俊雄、中尾一和
 肺動脈性肺高血圧症に対する新規治療標的としての TRPC3/6 阻害効果の検討
 13. 第30回国際心臓研究学会(ISHR)日本部会、San Diego、2013年6月29日
 Chinatsu Yamada, Koichiro Kuwahara, et al.
 Contribution of renin-angiotensin system to the generation of arrhythmogenic substrate in mice with dilated cardiomyopathy and lethal arrhythmia
 14. 第45回日本動脈硬化学会 2013.7.18-19. 東京
Koichiro Kuwahara, Kazuwa Nakao
 Myocardin-related transcription factor-A plays a pivotal role in vascular remodeling
 15. 心筋代謝研究会 2013年7月13日~14日 キャノンマーケティングジャパン株式会社3階ホール(東京)
 中川靖章、錦見俊雄、桑原宏一郎、保野慎治、木下秀之、桑原佳宏、中尾一泰、山田千夏、上嶋健治、中尾一和
 Effect of O-linked Glycosylation of plasma N-terminal proBNP on NT-proBNP assay in hemodialysis patients
 16. 第61回心臓病学会 2013年9月20日~9月22日 ホテル日航熊本、鶴やホ

- ール(熊本)
 中川靖章、錦見俊雄、桑原宏一郎、保野慎治、木下秀之、栞原佳宏、中尾一泰、山田千夏、上嶋健治、中尾一和
 透析患者における血中B型(脳性)ナトリウム利尿ペプチド前駆体 proBNP についての検討
17. 第1回日本肺高血圧学会学術総会、2013,10,13-14、横浜
 木下秀之、桑原宏一郎、清中茂樹、森泰生、赤城達、中村一文、山田千夏、栞原佳宏、中川靖章、中尾一和
 TRPC3/6 阻害による肺動脈性肺高血圧症抑制効果の検討
18. 第36回 日本高血圧学会 2013.10.24-26. 大阪
 中川靖章、錦見俊雄、桑原宏一郎、保野慎治、木下秀之、栞原佳宏、中尾一泰、山田千夏、上嶋健治、南野直人、中尾一和
 透析中の末期腎不全患者における血中 proBNP についての検討
19. 第36回 日本高血圧学会 2013.10.24-26. 大阪
 Kazuhiro Nakao, Koichiro Kuwahara, Toshio Nishikimi, Yasuaki Nakagawa, Satoru Usami, Hideyuki Kinoshita, Takeya Minami, Yoshihiro Kuwabara, Chinatsu Yamada, Yuko Yamada, Takeshi Tokudome, Yoko M. Nakao, Shinji Yasuno, Kenji Kangawa
 Impact of C-type Natriuretic Peptide Derived from Vascular Endothelial Cells on Blood Pressure.
20. 第17回日本心血管内分泌代謝学会総会 2013.11.22-23. 千里、大阪
 桑原宏一郎
 ナトリウム利尿ペプチド発現制御機構解明による心血管病治療標的の同定
21. 第17回日本心血管内分泌代謝学会総会 2013.11.22-23. 千里、大阪
 中川靖章、錦見俊雄、桑原宏一郎、保野慎治、木下秀之、栞原佳宏、中尾一泰、山田千夏、上嶋健治、中尾一和
 維持血液透析患者における血中B型(脳性)ナトリウム利尿ペプチド前駆体についての検討
22. 第17回日本心不全学会学術集会 2013年11月28日~30日大宮ソニックシティ(埼玉)
 中川靖章、錦見俊雄、桑原宏一郎、保野慎治、木下秀之、栞原佳宏、中尾一泰、山田千夏、上嶋健治、中尾一和
 維持血液透析患者における proBNP についての検討

〔図書〕(計2件)

1. **ガイドライン外来診療 2014**(日経メディカル開発)
 (編集) 泉 孝英 2014年4月1日 第

14 版

- 「心不全」の項執筆担 p455-460
 桑原宏一郎、木村剛
2. **変貌する心不全診療**(南江堂)2013.3
 (編集)伊藤浩
 「甲状腺機能障害」の項執筆担当
 中川靖章、桑原宏一郎

〔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
<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~med2/jpn/research/cardio.html>
 6. 研究組織
 (1)研究代表者
 桑原宏一郎(KUWAHARA, Koichiro)
 京都大学・大学院医学研究科・講師
 研究者番号：30402887