

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 18 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860597

研究課題名(和文)心筋リモデリングでのリンパ管新生・炎症制御を介したアドレノメデュリンの意義の解明

研究課題名(英文)Significance of adrenomedullin in cardiac remodeling through the regulation of lymphangiogenesis and inflammation

研究代表者

南 丈也(Minami, Takeya)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：00647208

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、心筋リモデリングでの心臓局所におけるアドレノメデュリン(ADM)の役割を検討した。まず心筋特異的にADMを欠失するマウス(ADM cckO)を作成したが、通常飼育時、圧負荷心肥大作成時ともに、心重量や心機能に対照群として明らかな差異を認めなかった。一方、線維芽細胞特異的にADMをノックアウトしたマウス(ADM fckO)も得たが、本マウス心臓の表現型も、対照マウスと比し、心重量や心機能に著明な差はやはり認められなかった。これらのことは上記細胞以外の細胞由来のADMが心代償しうることを示唆するものと思われた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the role of adrenomedullin (ADM) in pathological cardiac remodeling. We succeeded to create cardiac-specific ADM conditional knock out mice (ADM cckO) and found that their cardiac structure and function did not significantly differ from control mice in both basal- and pressure overloaded-conditions. We also created cardiac fibroblast ADM knockout mice (ADM fckO), whose cardiac function and structure were not significantly different from those of control mice. These results suggest that ADM produced by other cells than either cardiac myocytes or cardiac fibroblasts can compensate for the loss of ADM in cardiac myocytes or fibroblasts, respectively.

研究分野：循環器内科学

キーワード：循環器 遺伝子 液性因子 リモデリング

1. 研究開始当初の背景

現在、世界的な心血管病の有病率の増加に伴い、さまざまな心血管病の最終病態でありいまだ予後不良の症候群である慢性心不全の増加が問題となっており、その病態解明に基づく新規治療標的の同定と新規予防・治療法の開発が切に望まれる。

心不全発症に至る病的な心筋リモデリングの過程においては心筋細胞や線維芽細胞に加え、血管新生や浸潤してくる炎症細胞が重要な役割を果たすことは知られている。心筋リモデリングにおいてみられる炎症の慢性化の過程においては炎症細胞の浸潤に加えてこれら浸潤細胞が除去される機構の機能異常、破綻が重要であると考えられるが、現在までそのような浸潤炎症細胞の除去機構及びそこに重要な役割を果たすリンパ管新生の心臓リモデリングにおける役割についての研究は少ない。

2. 研究の目的

本申請研究では、最近リンパ管新生に重要な役割を果たすことが明らかとなった心血管ホルモンであるアドレノメデュリンの役割に特に注目し、遺伝子改変動物を駆使し、病的な心筋リモデリングにおけるアドレノメデュリンのオートクライン、パラクライン機構を介したリンパ管新生と炎症制御の分子機構の一端を明らかにし、その治療標的としての意義の解明を行う。

3. 研究の方法

3-1. 心筋あるいは線維芽細胞特異的アドレノメデュリン選択的コンディショナルノックアウトマウスにおける心負荷モデルを用いたアドレノメデュリンのリンパ管新生、炎症制御への作用の評価。

具体的には、最近申請者らが作製に成功した adrenomedullin(ADM)の flox マウス (ADM^{flox/flox})と心筋特異的に CRE を発現す

る α MHC-CRE マウス、または心線維芽細胞に CRE を発現する periostin-CRE マウスを交配させることにより、心臓を構成し、かつ心負荷に反応する細胞群において ADM を欠失したマウスを作成し、その表現型を解析した。またこれらマウスに大動脈縮窄による圧負荷心肥大を作成し、その表現型を同様に解析した。

3-2. アドレノメデュリンのリンパ管新生に対する作用の分子機序の解明。

上記研究において ADM の心臓組織における役割が示唆されれば、そのリンパ管新生との関連を組織学的、生化学的、分子生物学的手法にて解析する。

4. 研究成果

4-1. 心筋あるいは線維芽細胞特異的アドレノメデュリン選択的コンディショナルノックアウトマウスにおける心負荷モデルを用いたアドレノメデュリンのリンパ管新生、炎症制御への作用の評価。

まず心筋特異的に ADM を欠損するマウス(ADM ccKO)を作製した。これらマウスでは心臓における ADM 発現が減少していたが、心重量、心機能、心構造、心筋遺伝子発現などに対照マウスと比較して得有意な変化は認めなかった。そこでこれらマウスに大動脈縮窄による圧負荷を加え、心肥大を作製したが、心機能、心重量などにやはり明らかな変化を認めなかった。一方、心臓線維芽細胞で ADM を欠損するマウス (ADM fcKO) を作製し、その表現型も解析したが、対照マウスと比し、心重量や心機能に著明な差はやはり認められなかった。これらのことはホルモンとして循環する ADM、あるいは血管内皮からパラクラインとして働く ADM が心筋細胞や線維芽細胞由来の ADM 欠損を代償しうることを示唆するものと思われた。今後 ADM fcKO にも

心負荷を加え、より詳細な検討を行うと共に、心筋細胞、繊維芽細胞両者で ADM を欠損するマウスの作成も行い、心臓における ADM の局所因子としての意義の検討をさらに行っていく予定である。

4-2. アドレノメデュリンのリンパ管新生に対する作用の分子機序の解明。

本研究に関しては上記のように心機能、心臓形態に明らかな変化がなかったために解析を行うまでには至らなかった。今後上記遺伝子改変マウスに種々の負荷を加え、表現型に差が出るものを見出した時点で、リンパ管新生における意義とその分子機構を検討する予定である。

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2件)

1. Yamada Y, Kinoshita H, Kuwahara K, Nakagawa Y, Kuwabara Y, Minami T, Yamada C, Shibata J, Nakao K, Cho K, Arai Y, Yasuno S, Nishikimi T, Ueshima K, Kamakura S, Nishida M, Kiyonaka S, Mori Y, Kimura T, Kangawa K, Nakao K. Inhibition of N-type Ca²⁺ channels ameliorates an imbalance in cardiac autonomic nerve activity and prevents lethal arrhythmias in mice with heart failure. **Cardiovascular Research** 104(1): 183-93.2014.
doi: 10.1093/cvr/cvu185
2. 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.
doi: 10.1371/journal.pone.0092314.
eCollection 2014.

[学会発表](計2件)

1. The 18th International Vascular Biology Meeting (IVBM 2014), April 14-18, Kyoto
Minami T, Kuwahara K, Kuwabara Y, Cho K, Kinoshita H, Nakagawa Y, Ueda K, Kimura T.
Reciprocal expression of MRTF-A and myocardin is crucial for pathological vascular remodeling in mice
2. 第31回日本心電学会学術集会, 2014.7.22-25、東京
Yoshihiro Kuwabara, Koichiro Kuwahara, Makoto Takano, Hideyuki Kinoshita, Yuji Arai, Yasuaki Nakagawa, Shinji Yasuno, Sachiyo Igata, Satoru Usami, Takeya Minami, Yuko Yamada, Kazuhiro Nakao, Chinatsu Yamada, Junko Shibata, Toshio Nishikimi, Kenji Ueshima, Kazuwa Nakao
Increased Expression of HCN channels in the Ventricular Myocardium Contributes to Enhanced Arrhythmicity in Mouse Failing Hearts

[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：

出願年月日：

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.htm>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

南丈也 （MINAMI, Takeya）

京都大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：00647208