

病的心筋リモデリングにおける受容体活性化型CaチャンネルTRPC6を介したシグナルクロストークの意義の解明

京都大学大学院 医学研究科 内分泌代謝内科
桑原 宏一郎

1、目的

種々の心血管病の終末像としての心不全は予後不良の症候群であり、その病態解明に基づく新しい治療法の開発が望まれる。心不全に至る過程で認められる病的な心筋リモデリングに係る分子メカニズムの解明は、心不全治療、発症予防法開発につながると考えられる。申請者は以前、受容体刺激に応じて直接活性化される受容体活性化型カルシウムチャンネルTRPC6が、calcineurin-NFAT経路の活性化を介して病的な心筋リモデリングの過程に重要な役割を果たすことを世界に先駆けて報告した (Kawahara K, et al. *J. Clin. Invest.* 116;3114-3126. 2006)。最近申請者は、さらにTRPC6が複数の細胞内シグナルのクロストークの場として重要な役割を果たすことを新たに見出した。本研究では、この成果を詳細に掘り下げ、TRPC6をはじめとするTRPCイオンチャンネルの病的な心筋リモデリングにおける意義とそこに係る分子機序の詳細を明らかにし、さらにその治療標的としての可能性を明確にすることを目的とする。具体的には①TRPC6により活性化される病的なシグナルと他の病的、あるいは心保護的シグナルとのTRPC6を介したクロストークとその心筋リモデリングにおける意義、および②心肥大、心不全におけるTRPC6の治療標的としての意義、について研究を行なった。

2、方法

1)、TRPC6により活性化される病的なシグナルと他の病的あるいは心保護的シグナルとのクロストークとその心筋リモデリングにおける意義

アンジオテンシンIIなどの受容体刺激に伴うTRPC6からのCa²⁺細胞内流入をANPがTRPC6に存在するPKGリン酸化部位依存性に強く抑制することを培養心筋細胞やHEK293細胞を用いて検討した。またTRPC6の発現がcalcineurin-NFAT経路以外のシグナルによっても制御されている可能性、特にSRF依存性病的なシグナルによってもその遺伝子発現が制御されている可能性について培養細胞を用いて検討した。

2)、心肥大、心不全におけるTRPC6を含めたTRPC familyの治療標的としての意義の検討

TRPC6を抑制することが病的なリモデリング抑制につながる可能性がある。そこで本研究において各種心肥大・心不全動物モデルに対するTRPC阻害の効果を解析した。具体的には、それぞれ原因の異なる心筋障害モデル、例えば圧負荷心肥大モデルマウス、アンジオテンシンII投与マウス、心筋梗塞モデルマウス、拡張型心筋症モデルであるdnNRSF TgマウスなどにTRPC family選択的阻害薬であるBTP2や、TRPC3選択的阻害薬Pyr3を一定期間投与し、それぞれのモデルにおける病的な心筋リモデリングに対する抑制効果、およびその他の副作用などの存在について、生理学的、生化学的、分子生物学的な側面から検討した。

3、結果

1)、TRPC6により活性化される病的なシグナルと他の病的あるいは心保護的シグナルとのクロストークとその心筋リモデリングにおける意義

アンジオテンシンIIやエンドセリン-1などの受容体刺激に伴うTRPC6からのCa²⁺細胞

内流入およびNFAT活性化作用をANPがTRPC6に存在するPKGリン酸化部位依存性に強く抑制することを培養心筋細胞やHEK293細胞を用いて明らかにした。ANP,BNPの受容体であるGC-Aを欠失したGC-Aノックアウトマウスで見られる心肥大およびNFAT活性化はTRPC阻害薬であるBTP2にて強力的に抑制された。以上のことからANP,BNP-GC-A-cGMP-PKG経路がTRPC6を介した病的シグナルを負に制御していることが明らかとなった。

またTRPC6の発現制御機構に関して以前報告したcalcineurin-NFAT経路に加え、MAPK-SRF経路の関与について検討したところ、TRPC6プロモーター領域に3か所のSRF結合領域を見出し、同部位を介してSRFがelk1と協調してTRPC6遺伝子発現を正に制御していることを見出した。このことからTRPC6はcalcineurin-NFAT経路に加え、MAPK-SRF経路によっても制御されていることが示された。

2)、心肥大、心不全におけるTRPC6を含めたTRPC familyの治療標的としての意義の検討

GC-AノックアウトマウスおよびアンジオテンシンIIによる心肥大をTRPC阻害薬BTP2およびTRPC3特異的阻害薬Pyr3(TRPC3/6複合体も阻害可能)は有意に抑制した。心筋においてはTRPC3がTRPC6と同様に発現しており、TRPC3/6ヘテロ複合体からの病的シグナルが心肥大に関与しているものと思われ、TRPC3あるいはTRPC6選択的阻害薬の病的心筋リモデリングに対する新規治療薬としての可能性が示された。

4、まとめ

TRPC6が心筋細胞において病的シグナルおよび心保護シグナルのクロストークの場として重要な役割を果たしている可能性が示唆された。またTRPC6あるいは3選択的阻害薬が新規心臓病治療薬となりうる可能性が考えられる。

5、発表論文、参考文献

1, Kinoshita H, Kuwahara K, Nishida M, Jiang Z, Rong X, Kiyonaka S, Kuwabara Y, Kurose H, Inoue R, Mori Y, Li Y, Nakagawa Y, Usami S, Fujiwara M, Yamada Y, Minami T, Ueshima K, and Nakao K. Inhibition of TRPC6 Channel Activity Contributes to the Anti-hypertrophic Effects of Natriuretic Peptides-Guanylyl Cyclase-A Signaling in the Heart. **Circ Res**106(12): 1849-1860.2010

2, Kuwahara K, Wang Y, McAnally J, Richardson JA, Bassel-Duby R, Hill JA, Olson EN. TRPC6 fulfills a calcineurin signaling circuit during pathologic cardiac remodeling. **J. Clin. Invest.** 116(12);3114-3126. 2006.