

介在板からの物理情報の生理的意義と肥大発症への役割

片野坂友紀

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 システム生理学

【研究の背景】

心不全に至る疾患は多様であるが、多くの場合で、血行動態ストレス応答として心肥大が先行する。肥大応答の原因は、細胞内 Ca^{2+} の持続的な上昇であることが明らかになったが、その Ca^{2+} シグナルが、細胞内のどこで生じるか、どの分子によって伝達されるかについては、未だ不明である。

我々は、正常心において介在板に局在する心筋メカノセンサーの候補分子 TRPV2 を発見し (1, 2)、この分子が心臓の形や機能の維持に必須であることを、ノックアウト (KO) マウスの作製・解析から明らかにしたところである (3)。興味深いことに、TRPV2 が欠損した心筋では、適応シグナルを生み出す IGF-1 受容体/PI3K/Akt 経路が顕著に減弱していたため、このような細胞では適応的な肥大応答を引き起こすことができないのではないかと考えられた。

【目 的】

心臓は、心筋細胞が電氣的・機械的に連絡した合胞体である。最近、申請者は介在板に存在するメカノセンサー分子 TRPV2 を発現抑制したマウスの表現型解析から、心拍に伴って介在板から入力する TRPV2 を介したメカニカルシグナルが、心臓の形態と機能の維持に必須であることを報告した。本研究では、介在板に負荷されるメカニカルストレスは、TRPV2 を介してどのようなしくみで細胞内へと伝えられるかを明らかにし、心肥大・心不全発症における心筋細胞の物理刺激情報伝達経路の役割を解明することを目的とした。

【方 法】

① 介在板において物理情報を入力し、細胞内の化学情報へと変換するしくみを解明する。

これまでの我々の *in vitro* 再構成実験から、メカノセンサー TRPV2 は一分子ではその機能を十分に発揮することができないことが明らかとなってきた。このため、TRPV2 を中心としたメカノセンス複合体の実体解明を行う。メカノセンス複合体が存在する介在板には細胞骨格分子や接着因子が絡まるように局在しているので、生化学的に介在板分子を精製するのは困難を極める。そこで、我々は、現在までに、yeast-two hybrid 法を利用して、メカノセンサーに結合する分子を心筋 cDNA ライブラリーからスクリーニングした。

② 介在板からの物理情報の生理的意義および病態発症における介在板からの物理情報の意義を明らかにする。

現在までに、肥大シグナルは持続的な細胞内 Ca^{2+} の上昇によることが示されているが、心拍の度に収縮に必要な Ca^{2+} トランジェントが引き起こされている心筋細胞において、どの微小空間で、どのような時間幅のシグナルが生じ、肥大応答に繋がるのかはいまだ不明である。そこで、本研究では、メカノセンサー TRPV2KO マウスの成体心臓から、心筋細胞を単離し、その収縮力・形態変化および興奮収縮連関に関わる細胞内 Ca^{2+} トランジェントの詳細、および血行動態変化に伴った細胞内 Ca^{2+} トランジェントの変動の様子を Ca^{2+} イメージング法を用いて、生理学的・形態学的に解析した。使用したメカノセンサー TRPV2KO マウスは、任意のタイミングで腹腔内にタモキシフェンを投与することにより、TRPV2 の発現を心筋細胞のみで抑制できる。また、タモキシフェンによって発現抑制を誘導した TRPV2KO マウスの大動脈を結紮し、圧負荷応答に対する肥大応答能力を解析した。

【結 果】

これまでに、メカノセンサー結合因子として、約 50 個の陽性クローンを得た。これらは、①心筋細胞の肥大シグナル関連因子、②介在板膜構造の裏打ち細胞骨格因子、③機能不明の膜分子等であった。現在、TRPV2 発現細胞にこれらの分子を強制発現させる方法、あるいは培養心筋細胞においてこれらの分子をノックダウンする方法を用いて、メカノセンサー感度を精査し、メカノセンス複合体を同定している最中である。

個々の心筋細胞の機能低下は、心臓ポンプ機能を低下させる主要因となる。そこで、著しい心機能の低下を示した、薬物投与開始から 4 日後の TRPV2KO マウスの心臓から心筋細胞を単離して、電気刺激依存的な収縮力と、興奮収縮連関に伴う細胞内 Ca^{2+} トランジェントを解析した。驚くべきことに、単一心筋細胞の形態や収縮力、細胞内 Ca^{2+} ハンドリングは、いずれも低下しておらず、正常心から単離した細胞と違いがなかった。この結果は、TRPV2KO マウスの心機能が低下した原因は、個々の細胞機能の低下に起因するものではなく、介在板構造の崩壊によって隣り合う心筋細胞同士の機械的カップリングが低下したことが原因であることを示している。

一方、TRPV2KO マウスは、大動脈を結紮しても、心筋細胞の横断面積の増大や肥大シグナルの亢進が観察されず、肥大応答を示さないことが明らかとなった。

【考 察】

本研究から、TRPV2 の欠損は、直ちに細胞同士の機械的なカップリングを低下させ重篤な心機能低下を招くと同時に、心筋細胞が本来備えている肥大応答能力（血行動態変化に応じた予備応答能力）を著しく減弱させることが明らかとなった。TRPV2KO 細胞の心筋細胞収縮力に変動はないことから、介在板からの物理的情報は、収縮力よりも肥大応答に重要である可能性が示唆された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究成果は、メカノセンサーを介した心不全発症メカニズムの解明に繋がると考えられる。現行の血管拡張薬や体液調節因子阻害による降圧薬に加えて、本研究の成果としてメカノセンサーをターゲットとした心不全治療法を提案できれば、不全治療に新たな選択肢を供給することとなり、QOL を改善して国民を悩ます病気の克服に役立つことから、保健医療への貢献は計り知れない。

【参考・引用文献】

- (1) Yuko Iwata, Yuki Katanosaka, Yuji Arai, Kazuo Komamura, Kunio Miyatake, Munekazu Shigekawa. A novel mechanism of myocyte degeneration involving the Ca^{2+} -permeable growth factor-regulated channel. **J. Cell Biol.** **2003**, **161**:957-967
Yuko Iwata and Yuki Katanosaka contributed equally to this work.と論文に記載
- (2) Katuhiko Muraki, Yuko Iwata, Yuki Katanosaka, Tomohiro Ito, Susumu Ohya, Munekazu Shigekawa, Yuji Imaizumi. The vanilloid receptor homolog GRC is a novel component of stretch-sensitive nonselective cation channel in vascular smooth muscle cells. **Cir. Res.** **2003**, **93**: 829-838
- (3) Katanosaka Y, Iwasaki K, Ujihara Y, Takatsu S, Nishitsuji K, Kanagawa M, Sudo A, Toda T, Katanosaka K, Satoshi M, Naruse K. TRPV2 is critical for the maintenance of cardiac structure and function in mice. **Nature Communications**, **2014**, **10.1038/ncomms4932**