

## TRP チャネルと心血管病態

渡 邊 博 之

秋田大学大学院医学系研究科 循環器内科学講座

(平成 31 年 1 月 31 日掲載決定)

### TRP channels and cardiovascular conditions

Hiroyuki Watanabe

*Department of Cardiovascular Medicine, Akita University Graduate School of Medicine*

**Key words :**  $\text{Ca}^{2+}$  entry, TRP channels, endothelial function, vascular remodeling, cardiac hypertrophy

#### はじめに

$\text{Ca}^{2+}$  は細胞内外での濃度差が最も大きいイオンであり、その濃度は細胞外では 1 ~ 2 mM に、細胞内では 100 nM 以下に低く維持されている。しかし、いったん何らかの刺激が細胞外から加わると、小胞体からの  $\text{Ca}^{2+}$  放出と細胞膜イオンチャネル開口による  $\text{Ca}^{2+}$  流入によって細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は増加する。 $\text{Ca}^{2+}$  は化学的には金属原子が正の電荷を帯びたもので、非常に単純なものであるが、細胞内における  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の変化は幅広い細胞応答へとつながっている。それは細胞収縮などの non-genomic な反応だけでなく、転写因子の活性化など genomic な反応にも影響を及ぼす。例えば DNA 転写因子である NFAT や NF $\kappa$ B についてみると、NFAT 活性は  $\text{Ca}^{2+}$  上昇が高頻度あるいは持続的に起こるほど高くなるが、NF $\kappa$ B 活性は頻度によらず高振幅の  $\text{Ca}^{2+}$  上昇で高くなる。どのような時間的・空間的パターンで  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が変化するかによって、タンパク質ごとに活性変化の度合いが異なってくる。それらの結果として受精、細胞増殖、外分泌、内分泌、神経伝達物質放出、筋収縮、細胞死など、多くの生体反応が引き起こされることになる。したがって、 $\text{Ca}^{2+}$

はユビキタスなセカンドメッセンジャーとして捉えることができ、その流入経路である  $\text{Ca}^{2+}$  流入チャネルは細胞外からの刺激を、細胞反応に変換するトランスデューサーの役割を担っているといえるだろう。

$\text{Ca}^{2+}$  流入チャネルは、生理学的に電位依存性チャネル (VDCC)、リガンド依存性チャネル、受容体作動性チャネル (ROC)、ストア作動性チャネル (SOC)、温度感受性チャネル、伸展刺激活性化チャネル (SAC) などに大別される<sup>1,2)</sup>。しかし、VDCC 以外の  $\text{Ca}^{2+}$  流入チャネルに関しては、その分子の実体や制御機構は未だ十分に解明されていない。1989 年、これら VDCC 以外の  $\text{Ca}^{2+}$  流入チャネルの分子候補として transient receptor potential (TRP) チャネル蛋白が発見され<sup>3)</sup>、その後、現在にいたるまで数多くの研究成果が報告されてきている。

ここでは、これまで私に関わった心血管領域での TRP チャネルに関する知見を紹介したい。なお、TRP チャネルは、同じ心血管組織中の好酸球、好中球、リンパ球、マクロファージにも存在し、炎症や免疫反応にも関わっているが、それらに関しては割愛させていただきます。主に内皮機能異常・血管リモデリング・高血圧性心肥大などの心血管病態と TRPV4、TRPC1 チャネルとの関連に絞って解説する。

Correspondence : Hiroyuki Watanabe, M.D, Ph.D.  
Department of Cardiovascular Medicine, Akita University  
Graduate School of Medicine, 1-1-1 Hondoh, Akita 010-  
8543, Japan  
Tel : +81-18-884-6110  
E-mail : hirow@doc.med.akita-u.ac.jp

#### TRP チャネルとは

*trp* 遺伝子は、1989 年ショウジョウバエの光受容体  
答変異株の原因遺伝子として発見された。*trp* 変異株

のショウジョウバエではその名前が示すように光応答電位が一過性で、細胞外からの  $\text{Ca}^{2+}$  流入が減弱していた。電気生理学的研究から *trp* タンパク質 (TRP) は、ショウジョウバエ視細胞の微絨毛膜上に陽イオンチャンネルを構成していることが確認された。その後、多くの TRP ホモログが発見され、現在その TRP スーパーファミリーは分子構造の類似性から TRPC, TRPV, TRPM のほか TRPN, TRPP, TRPML, TRPA と計 7 つのサブファミリーに大別されている。これら TRP は、全身の臓器に広く発現しており、その生理機能も多種多様である。また、それらの多くは heteromultimer となってチャンネルを形成すると考えられることから、TRP タンパクから構成されるイオンチャンネルの多様性が示唆される。TRP は膜 6 回貫通型のチャンネル蛋白で、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、細胞質側に N, C 末端が存在している。しかし、膜電位依存性チャンネルと異なり、基本的に第 4 膜貫通領域に電圧センサーを持たず、N, C 末端にリン酸化部位を有する。つまり、チャンネルの活性化に膜電位の変化を必要としないという特徴がある。

この三十年間にこれらチャンネルの生体での機能解析も進み、TRPV1 チャンネルがカプサイシン受容体、TRPM8 チャンネルがメンソール受容体、TRPM5 チャンネルが味覚受容体を形成していること、TRPV1, V2, V3, V4, TRPM8, TRPA1 チャンネルは、それぞれ異なった温度閾値を持ち温痛覚の神経伝達に関与していること、*trpp* 遺伝子の変異が遺伝性疾患多発性嚢胞腎の原因となっていることなど、幾つかの驚くべき事実が明らかとなってきた。これらの発見とともに、循環器領域に関しても精力的に研究が進められた。例えば、心筋細胞においては、現在までのところ私達の知見も含め、TRPC1, C3, C6, C7, TRPV1, V2, V4, TRPM4, M6, M7, TRPP2 の発現が確認されている。ただし、成熟段階や各種病態において TRP の発現パターンは異なっており、かつそれらは homo- あるいは hetero-multimer となって一つのチャンネルを形成することから、循環生理機能を果たす上での TRP チャンネルの多様性・複雑性が推測される。

### TRPV4 チャンネルと血管内皮機能

先に心筋細胞における TRP の発現について述べてきたが、内皮細胞や平滑筋細胞などの血管組織にも多

くの TRP が存在しており、それらも重要な生理機能を担っていることが次第に明らかとなってきた。重要な内皮細胞機能である一酸化窒素 (NO)、プロスタサイクリン、platelet activating factor などの on demand な産生や tissue plasminogen activator (t-PA)、von Willebrand 因子の放出などは、アセチルコリン、ずり応力などの細胞外刺激が  $\text{Ca}^{2+}$  流入を引き起こし、 $\text{Ca}^{2+}$  依存性の細胞内シグナルが活性化された結果起こった反応である<sup>4)</sup>。現在までのところ少なくとも TRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC5, TRPC6, TRPC7, TRPV4, TRPM4 チャンネルの発現が、内皮細胞で確認されており、それらが上記の内皮機能に関わっていると考えられる。その中でも私が主に研究を行ったのは TRPV4 チャンネルであり、この章ではその活性化様式、生理的意義について述べる。

2000 年ドイツのグループによりクローニングされた TRPV4 は、パニロイド (カプサイシン) 受容体の TRPV1 と同じ TRPV subfamily に属する非選択性陽イオンチャンネルで、血管内皮、心筋、脳、腎尿細管上皮、交感、三叉神経節など全身の種々の臓器に分布していた。当初、その性質は低浸透圧刺激で活性化されることから、細胞容積の増大を感知するある種のメカノセンサー (SACs) と考えられていた<sup>5,6)</sup>。私達は、TRPV4 を過剰発現させた HEK 細胞を用いて、 $\text{Ca}^{2+}$  濃度測定システムによる活性化物質のスクリーニングを行った。その結果、4 $\alpha$ PDD というホルボール誘導体が TRPV4 チャンネルの活性化物質であることを発見した<sup>7,8)</sup>。4 $\alpha$ PDD は濃度依存性 ( $\text{pEC}_{50}$  6.7) に TRPV4 チャンネル電流を活性化し、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を増加させた。また、single channel 記録 (inside-out patch) で細胞内側から 4 $\alpha$ PDD を投与したところ、過分極側で 60 pS、脱分極側で 95 pS のコンダクタンスを有する TRPV4 チャンネルの活性化が確認された。このことから、当初メカノセンサーと考えられていたこの TRPV4 チャンネルが、実はリガンド依存性チャンネルでもあるという事実が明かとなった<sup>9)</sup>。TRPV4 チャンネルを発現しているマウス血管内皮細胞においても、培養細胞と同様の電気生理学的特性を持った 4 $\alpha$ PDD 誘発性 TRPV4 チャンネル電流の活性化と細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇が観察され生体機能との関連が示唆された。しかし、このチャンネルの生理的役割を考えるうえでは、その生体内アゴニストが存在するか否かが、非常に重要な問題であった。そこで、私達は 4 $\alpha$ PDD の化学構造と類似した生体内物質をスクリーニングし、その候補

としてアナンダミド, 2-arachidonoylglycerol (2AG) などのエンドカンナビノイド, アラキドン酸などをとりあげ, それら生体内物質の効果を TRPV4 を過剰発現させた培養細胞を用いて検討した. その結果, アナンダミド, 2AG, アラキドン酸は TRPV4 チャネル電流を活性化させ, 細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を増加させた. この反応は, 初代培養マウス内皮細胞でも確認された. さらにその活性化メカニズムを詳細に検討したところ, アナンダミド, 2AG, アラキドン酸は, それらの代謝産物である epoxyeicosatrienoic acids (EET) をかいて TRPV4 チャネルを活性化することがあきらかとなった<sup>10)</sup>. 興味あることにこれら内因性アゴニストは炎症性物質であり, 全て内皮依存性血管拡張反応を引き起こす物質として知られていたものであった. それまでアナンダミド, 2AG の血管拡張反応は, 血管周囲神経終末端でのカプサイシン受容体 (TRPV1) の活性化やカンナビノイド受容体をかいた反応と理解されてきたが, 一方でカプサイシン受容体やカンナビノイド受容体遮断薬を用いても, 残存する血管拡張反応があることも知られていた. また, 同様に EET の血管拡張反応は, 血管平滑筋の  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$  channel の活性化がその機序と考えられていたが, それとは独立した血管拡張反応メカニズムも一部存在することも報告されていた. これら機序不明の血管拡張反応の説明として, 内皮 TRPV4 チャネルがエンドカンナビノイド, アラキドン酸, EET の molecular target となり, 活性化をうけ持続的な  $\text{Ca}^{2+}$  流入を引き起こし, NO 産生を促して血管拡張性に働いていることが明らかになった. その後の Kohler らの報告によると TRPV4K.O. マウスでは, シェアストレスによる血管拡張反応が消失しており, 私達の基礎研究の結果を支持している.

TRPV1 が  $43^{\circ}\text{C}$  以上の熱刺激で活性化され, 熱の知覚刺激伝達系に寄与していることはわかっていたが<sup>11,12)</sup>, 私達は TRPV4 チャネルも温度刺激により活性化されることをあきらかにした. Voltage-clamp 法を用いて細胞膜電位を  $-50\text{ mV}$  に固定した状態で TRPV4 を過剰発現させた HEK 細胞に熱刺激を加えると, 内向き電流と共に細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇が認められた. 驚くべきことに temperature-current plot から得られた TRPV4 チャネル活性化の閾値は,  $24^{\circ}\text{C}$  と TRPV1 と比べ著しく低い温度であった<sup>13)</sup>. TRPV4 チャネルを発現しているマウス血管内皮細胞でも, 同程度の温度刺激により電流の活性化と, それに引き続く

$\text{Ca}^{2+}$  流入が生じることを確認した. これらの結果を生体反応と関連付けてみると, 通常生体内温度で TRPV4 チャネルは常に開口しており, 内皮細胞の静止時  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を規定していると考えられる. つまりこのことは TRPV4 チャネルが定常状態の NO 産生のみならず, 細胞の恒常性維持にも重要であることを示唆している. さらに私達は四肢末梢血管が寒冷下で収縮し, 温熱刺激下で拡張するといった生体反応をよく経験するが, このような温度変化を受けやすい四肢末梢血管において, 内皮 TRPV4 チャネルは warm & cold sensor として働き, 内皮細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を制御することによって, 末梢血管反応を調節しているものと推測される.

さらに臨床に関連づけて考えると, アンジオテンシン II (AngII) により血管内皮機能が障害され, レニンアンジオテンシン系 (RAS 系) の抑制により傷害された血管内皮機能が改善することがわかっている. 私達の冠動脈狭窄患者における Ach 誘発性冠動脈拡張反応の検討でも, AngII 受容体拮抗薬を半年間服用することにより Ach で誘発された内皮依存性冠動脈血流の増加が観察された<sup>14)</sup>. この細胞内メカニズムを解明するため基礎実験を行ったところ, 培養ヒト冠動脈内皮細胞に AngII を投与することにより TRPV4 の発現が低下しており, RAS 系の内皮機能障害の機序に TRPV4 のダウンレギュレーションが関与していることが示唆された.

その他, TRPV4 が熱, 炎症性物質などで活性化される特性をもつことから, 寒冷刺激で末梢微小循環が障害されるレイノー現象や炎症に伴う肺血管内皮透過性亢進が起こる急性呼吸窮迫症候群, 炎症に伴う血管抵抗低下が起こっている敗血症性ショックなどの病態に深く関わっている可能性がある.

### TRPC1 チャネルと血管リモデリング

臨床の場面では, 動脈硬化や PCI 後再狭窄病変において血管内膜が徐々に肥厚し血管リモデリングという病態が形成されることをよく経験する. 臨床的には, いかにもその進展を防ぐかが血管病の発症を防ぐ意味で重要である. その血管リモデリングを細胞レベルでみると, その主体をなしているのが血管平滑筋細胞の形質転換と増殖である. 血管平滑筋細胞に限らずどのような細胞でも増殖する際には細胞周期が回るが, その反応にも細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の増加が必要である<sup>15)</sup>.

実際、細胞培養液中の  $\text{Ca}^{2+}$  をキレートすると細胞増殖が起こらなくなることからも  $\text{Ca}^{2+}$  流入の重要性が示唆されよう。私達は、ヒト冠動脈平滑筋細胞を用いた *in vitro* 実験において、Ang II が細胞肥大・増殖をおこすこと、その反応は NF $\kappa$ B をかいた TRPC1 の発現増加とストア作動性  $\text{Ca}^{2+}$  流入 (SOCE) 増加を促し、平滑筋細胞肥大反応を促進することを明らかにした<sup>16)</sup>。この結果は、冠動脈形成術時に NF $\kappa$ B デコイを冠動脈壁内に投与することで再狭窄の予防効果をもたらすという臨床研究の報告<sup>17)</sup> からも支持されている。

その他の TRP チャネルと平滑筋細胞機能との関連については、TRPM4 と筋原性収縮・冠動脈血流量自動調節機能の関連、TRPP1 と大動脈解離・動脈瘤発生の関連が想定されているが、いまだ正確にその機序はわかっていない。

### TRPC チャネル/小胞体 $\text{Ca}^{2+}$ センサー (STIM1) と心肥大

高血圧性心疾患などで認められる心肥大は圧負荷に対する防御機構と考えられている。その適応現象ともいうべき反応の理論的裏付けは、ラプラスの法則から導かれる左室壁ストレスが高血圧により増大するのを防ぐために、壁を厚く (肥大) して壁ストレスを減少させていると説明されるが、心肥大がさらに進行すると心不全や不整脈発生につながり、生体にとって不都合な現象となってくる (病的な心肥大)。病的な心肥大が心血管死亡率の独立した危険因子であり、心疾患の予後を増悪させる重要な因子であることは、多くの大規模臨床試験で証明されている。つまり、心肥大のメカニズムを明らかにし病的な心肥大を抑制することは、心血管イベント発生を減少させ予後の改善につながることを意味している。

1998 年心肥大シグナル研究を大きく発展させることとなる研究成果が Molkenkin らにより報告された<sup>18)</sup>。彼らが提唱した心肥大の細胞内メカニズムは、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  上昇により活性化された calcineurin ( $\text{Ca}^{2+}$  /カルモジュリン脱リン酸化酵素) が NFAT (Nuclear Factor of Activated T Cells) と呼ばれる転写因子を活性化 (脱リン酸化) すると、NFAT が GATA4 と結合し肥大関連遺伝子の発現を亢進、最終的に心肥大が誘発されるというものであった。この仮説が注目されたのは、その後の研究で大動脈縮窄ラット、Dahl 食塩感受性高血圧ラットでの心肥大など、液性因子のみな

らず血行力学的負荷 (後負荷増大) による心肥大形成においても、calcineurin/NFAT が肥大反応の重要なシグナルであることが示されたことにある。つまり、機械刺激も液性因子もともに共通のシグナル calcineurin/NFAT 系を用いる、言い換えると calcineurin/NFAT 系は様々な肥大刺激のインテグレーターとして作用しているものと考えられる。

Calcineurin-NFAT シグナルの研究は、NFAT の名称が示すように循環器分野に先立ち免疫学の分野で先行していた。ここでは calcineurin が T 細胞の転写因子である NFAT を介して IL-2 の転写調節をしていることがわかるに及んで、T 細胞を中心とした広範な免疫現象に重要な転写因子と認められるに至った。T 細胞に抗原刺激が加わると、はじめに二層性の細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  上昇が起こり、それに続いて種々の免疫反応シグナルが惹起される。興味あることに、この過程で高振幅かつ持続の短い (high amplitude, transient)  $\text{Ca}^{2+}$  流入は NFAT を活性化させることができず、振幅の程度は軽いが持続時間の長い (low amplitude, prolonged)  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇のみが NFAT を活性化させることが明らかにされた。つまり、T 細胞では、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  上昇の振幅や持続時間の違いで、異なった転写因子が活性化されている。この視点から、心肥大形成における心筋細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  と NFAT の活性化を検討すると、 $\text{Ca}^{2+}$  上昇の振幅が大きくかつ数百 ms で収束する Ca induced Ca release (CICR) は NFAT 活性化に適当な  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルとはいえず、それとは異なった低振幅で遷延する  $\text{Ca}^{2+}$  流入が心肥大反応にかかわることが想定される。T 細胞においては、低振幅かつ持続性  $\text{Ca}^{2+}$  流入は、SOCs の活性化を介して起こっている。SOCs は、アゴニスト刺激によるホスホリパーゼ C 活性化、それに伴う  $\text{IP}_3$  産生、小胞体からの  $\text{Ca}^{2+}$  放出 ( $\text{IP}_3$  induced  $\text{Ca}^{2+}$  release) の結果、小胞体 (ストア) が枯渇したことが引き金となって活性化される細胞膜イオンチャネルである。心筋細胞においても SOCs の存在が Hunton らにより報告され、SOCE が NFAT の核内移行については心肥大反応に寄与すること示された。私達の研究でも、エンドセリン (ET-1) あるいは Ang II 刺激で肥大したラット培養心筋細胞では、細胞表面積や BNP の発現増加とともに、タブシガーギン処置後の小胞体内  $\text{Ca}^{2+}$  枯渇で活性化され流入した SOCE が対照の約 2.5 倍に増加していた。さらに SOC の分子実体と想定される TRPC1 の遺伝子、蛋白発現を調べたところ、肥大心筋細胞では発現増加が確認された<sup>19)</sup>。

つづいて、私達は TRPC チャンネルブロッカーである BTP2 (pyrazole 誘導体) の心筋肥大反応にたいする効果を検討したところ、BTP2 は ET-1 で誘発された細胞表面積増加や BNP 発現を著明に抑制した。さらに、siRNA を用いて TRPC1 をノックダウンさせた細胞では、ET-1 や Ang-II 刺激による心筋肥大反応は有意に減弱していた。さらに、TRPC1 はそのプロモーター領域に NFAT 結合領域を持つため、心肥大、不全心形成過程において、NFAT 活性化とその後の feed-forward なメカニズムによりその発現がさらに増加することを明らかにした。これらの結果から TRPC1 の発現増加と、その結果としての SOCE 増加は、心肥大反応において非常に重要な役割をはたしていることが示唆された<sup>20)</sup>。

心肥大を誘発する因子には大きく分けて、Ang II や ET-1 のような液性因子と、左室壁にかかる圧負荷という機械的因子の2つがある。ここまで液性因子による肥大刺激と TRPC1 の発現増加の関連について述べてきたが、機械的因子で誘発される心肥大に関しても TRPC1 活性化が関与しているのだろうか？ in vivo の実験から、私達は Dahl 食塩感受性ラットや腹部大動脈縮窄ラットの肥大心筋細胞においても TRPC1 の発現が増加することを明らかにしている。また、TRPC1 は SAC すなわちメカノセンサーとしても働くことが報告されており、今後、機械刺激による TRPC1 活性化と心肥大形成のメカニズムがさらに明らかとなっていくと推測される。

肥大心、不全心においては心筋細胞サイズの増大に加え ANP, BNP, skeletal  $\alpha$ -actin など心筋胎児型遺伝子が再発現することが知られている。私達がラット心発達過程での TRPC1 の発現を調べたところ、TRPC1 は胎生期に多く発現し、新生児期から成熟期にかけて減少していく心筋胎児型遺伝子の性格を有していた。最近 ANP, BNP 遺伝子の再発現調節に転写抑制エレメント (NRSE ; neuron-restrictive silencer element) に結合する転写抑制因子 NRSF (neuron-restrictive silencer factor) が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。桑原らの報告によると NRSE-NRSF system は健常心では心筋胎児型遺伝子発現を抑制しているが、肥大心、不全心においてはその抑制が解除され ANP, BNP さらには、T 型  $Ca^{2+}$  チャンネル、If チャンネルの発現を亢進させていた<sup>21)</sup>。興味深いことに TRPC1 もイントロン 4 に NRSF 結合領域をもち、私達の研究では NRSF との結合が確かめられている<sup>22)</sup>。

さらに、NRSF の dominant negative 変異体を強制発現したトランスジェニックマウスでは、拡張型心筋症と似た病態を示すが、その心筋においても TRPC1 が増加していた。TRPC1 も NRSF によって制御されながら、心発達過程や心肥大形成過程に寄与すると考えられる<sup>23)</sup>。

これら私達の結果と前後して、国内外のグループから TRPC3 あるいは TRPC6 が心肥大反応に関与するという結果があいついで報告されたが、TRPC チャンネルが互いに hetero-multimer となって SOCs, ROCs あるいは SACs を形成していることを考慮すると (その TRPCs 組み合わせも厳密に規定されたものではない)、肥大心において複数の TRPCs タンパク発現が亢進している可能性がある。このような肥大あるいは不全心筋細胞での TRPCs の増加は、その電位非依存性という性質から、収縮期よりも  $Ca^{2+}$  の電気的駆動力が大きくなる拡張期に細胞内  $Ca^{2+}$  増加をもたらし、拡張期心筋トーンス上昇、triggered activity の誘発、その他種々の細胞障害性シグナルの引き金になる可能性がある。

またその後 stromal interaction molecule 1 (STIM1) というタンパクが発見され、私達の研究成果から STIM1 も TRPCs と協調的に心筋や平滑筋細胞の肥大反応に関与していることが明らかとなってきた<sup>24)</sup>。STIM1 は小胞体膜に局在する一本鎖膜貫通型タンパク質で、小胞体  $Ca^{2+}$  レベルの低下を感知するセンサーとして機能している。STIM1 はユビキタスに発現しており、リンパ球や骨格筋機能にも重要な働きをしている。最近、重症免疫不全症<sup>25)</sup> や Tubular aggregate myopathy の原因遺伝子であることが報告された。私達は、培養ラット心筋細胞を用いた研究で、Ang II や ET-1 などによる細胞サイズの増大や BNP などの胎児性心筋遺伝子発現が、TRPC1 ノックダウンと同様 STIM1 のノックダウンでも抑制されることを明らかにした<sup>26)</sup>。STIM1 をノックダウンさせると SOCE の障害により  $Ca^{2+}$  流入および細胞内  $Ca^{2+}$  の上昇が、正常細胞に比し著しく抑制されていた。さらに STIM1 ヘテロ K.O. マウス (STIM1<sup>+/-</sup>) を用いた in vivo の実験で、同マウスでは大動脈縮窄による心肥大や心筋線維化が抑制されていた<sup>27,28)</sup>。このように、心肥大反応における TRPC チャンネル活性化の機序や STIM1 との関連も徐々に明らかになってきている。(図)

(14)

TRP チャンネルと心血管病態

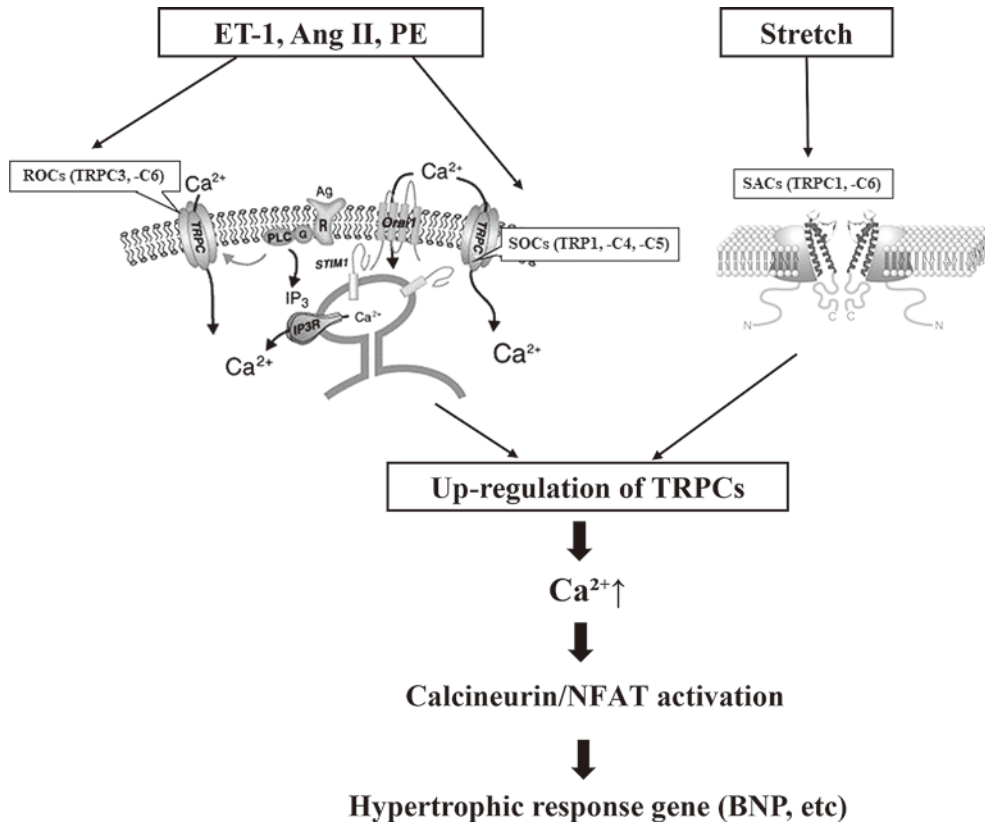


図. Ang II, ET-1, PE などの液性因子や圧負荷などの機械刺激は, TRP から構成される ROC, SOC, SAC などの Ca<sup>2+</sup> 流入チャネルを活性化させ, 持続的な細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度上昇, calcineurin/NFAT 系活性化を惹起させ心肥大反応を進行させる. これらの一連の反応において, TRPC チャンネルは様々な肥大刺激の polymodal sensor として, calcineurin/NFAT 系はそれらの integrator として働いているとも言えよう.

### おわりに

TRP チャンネルの心血管系細胞機能へのかかわりについて概説した. しかし, TRP チャンネルの活性化機構やその電気生理学的特性には多様性があり, また, 細胞内 Ca<sup>2+</sup> イオン自身もユビキタ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. しかし, 将来, さらに TRP チャンネルの病態生理学的役割が明らかになったとき, TRP チャンネルは心臓病・血管病の新しい治療対象分子となる可能性を秘めている.

### 文 献

- 1) Voets, T., Prenen, J., Fleig, A., Vennekens, R., Watanabe, H., Hoenderop, J.G., Bindels, R.J., Droogmans, G., Penner, R. and Nilius, B. (2002) CaT1 and the calcium release-activated calcium channel manifest distinct pore properties. *J. Biol. Chem.*, **276**, 47767-47770.
- 2) Watanabe, H., Nishio, M., Miura, M. and Iijima, T. (1995) L-type Ca<sup>2+</sup> channel block by highly hydrophilic dihydropyridines in single ventricular cells of guinea-pig hearts. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **27**, 1271-1279.
- 3) Montell, C. and Rubin, G.M. (1989) Molecular characterization of the *Drosophila* trp locus: a putative integral membrane protein required for phototransduction. *Neuron*, **2**, 1313-1323.
- 4) Suh, S.H., Watanabe, H., Droogmans, G. and Nilius, B.

- B. (2002) ATP and nitric oxide modulate a  $\text{Ca}^{2+}$ -activated non-selective cation current in macrovascular endothelial cells. *Pflugers Arch.*, **444**, 438-445.
- 5) Nilius, B., Watanabe, H. and Vriens J. (2003) The TRPV4 channel: structure – function relationship and promiscuous gating behaviour. *Pflugers Arch.*, **446**, 298-303.
- 6) Voets, T., Prenen, J., Vriens, J., Watanabe, H., Janssens, A., Wissenbach, U., Boddling, M., Droogmans, G. and Nilius, B. (2002) Molecular Determinants of Permeation through the Cation Channel TRPV4. *J. Biol. Chem.*, **277**, 33704-33710.
- 7) Watanabe, H., Vriens, J., Janssens, A., Wondergem, R., Droogmans, G. and Nilius, B. (2003) Modulation of TRPV4 gating by intra- and extracellular  $\text{Ca}^{2+}$ . *Cell Calcium*, **33**, 489-495.
- 8) Watanabe, H., Davis, J.B., Smart, D., *et al.* (2002) Activation of TRPV4 channels (hVRL-2/mTRP12) by phorbol derivatives. *J. Biol. Chem.*, **277**, 13569-13577.
- 9) Vriens, J., Watanabe, H., Janssens, A., Droogmans, G., Voets, T. and Nilius, B. (2004) Cell swelling, heat and chemical agonists use distinct pathways for the activation of the cation channel TRPV4. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **101**, 396-401.
- 10) Watanabe, H., Vriens, J., Prenen, J., Droogmans, G., Voets, T. and Nilius, B. (2003) Anandamide and arachidonic acid use epoxyeicosatrienoic acids to activate TRPV4 channels. *Nature*, **424**, 434-438.
- 11) Watanabe, H., Ohba, T., Satoh, K., Sano, M., Shioya, T. and Ito, H. (2011) TRPV1 and TRPA1 in pulmonary vagal afferents and their relations to airway sensitivity. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, **10**, 18-30.
- 12) Watanabe, H. and Ito, H. (2009) Pathological role of TRP channels in cardiovascular and diseases. *Folia Pharmacologica Japonica*, **134**, 127-130.
- 13) Watanabe, H., Vriens, J., Suh, S.H., Benham, C.D., Droogmans, G. and Nilius, B. (2002) Heat-evoked activation of TRPV4 channels in an HEK293 cell expression system and in native mouse aorta endothelial cells. *J. Biol. Chem.*, **277**, 47044-47051.
- 14) Iino, K., Watanabe, H., Iino, T., Katsuta, M., Koyama, T., Kosaka, T., Terui, G. and Ito, H. (2012) Candesartan Improves Impaired Endothelial Function in the Human Coronary Artery. *Coron. Artery Dis.*, **23**, 278-283.
- 15) Ohba, T., Watanabe, H., Murakami, M., Radovanovic, M., Iino, K., Ishida, M., Tosa, S., Ono, K. and Ito, H. (2008) Amlodipine inhibits cell proliferation via PKD1-related pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **369**, 376-381.
- 16) Takahashi, Y., Watanabe, H., Murakami, M., Ohba, T., Radovanovic, M., Ono, K., Iijima, T. and Ito, H. (2007) Involvement of transient receptor potential canonical 1 (TRPC1) in Angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell hypertrophy. *Atherosclerosis*, **195**, 287-296.
- 17) Egashira, K., Suzuki, J., Ito, H., Aoki, M., Isobe, M. and Morishita, R. (2008) Long-term follow up of initial clinical cases with NF-kappaB decoy oligodeoxynucleotide transfection at the site of coronary stenting. *J. Gene Med.*, **10**, 805-809.
- 18) Molkenkin, J.D., Lu, J.R., Antos, C.L., *et al.* (1998) A Calcineurin-dependent transcriptional pathway for cardiac hypertrophy. *Cell*, **93**, 215-228.
- 19) Ohba, T., Watanabe, H., Murakami, M., Takahashi, Y., Iino, K., Kuromitsu, S., Mori, Y., Ono, K., Iijima, T. and Ito, H. (2007) Up-regulation of TRPC1 in the Development of Cardiac Hypertrophy. *J. Mol. Cell Cardiol.*, **42**, 498-507.
- 20) Watanabe, H., Murakami, M., Ohba, T., Ono, K. and Ito, H. (2009) The pathological role of transient receptor potential channels in heart disease. *Circ. J.*, **73**, 419-427.
- 21) Kuwahara, K., Saito, Y., Takano, M., *et al.* (2003) NRSF regulates the fetal cardiac gene program and maintains normal cardiac structure and function. *EMBO J.*, **22**, 6310-6321.
- 22) Ohba, T., Watanabe, H., Takahashi, Y., *et al.* (2006) Regulatory role of neuron-restrictive silencing factor in the expression of TRPC1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **351**, 764-770.
- 23) Watanabe, H., Murakami, M., Ohba, T., Takahashi, Y. and Ito, H. (2008) TRP channels and cardiovascular disease. *Pharmacology & Therapeutics*, **118**, 337-351.
- 24) Takahashi, Y., Watanabe, H., Murakami, M., Ono, K., Munehisa, Y., Koyama, T., Nobori, K., Iijima, T. and Ito, H. (2007) Functional role of stromal interaction molecule 1 (STIM1) in vascular smooth muscle

(16)

TRP チャンネルと心血管病態

- cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **361**, 934-940.
- 25) Watanabe, H., Ohba, T. and Ito, H. (2012) ISOCE and TRPC/Stim/Orai Signaling in Cardiac Myocytes. In Groschner, K. (ed.) *Store-operated Ca<sup>2+</sup> entry (SOCE) pathways*. Springer-Verlag, Wien, pp. 347-360.
- 26) Ohba, T., Watanabe, H., Murakami, M., Sato, T., Ono, K. and Ito, H. (2009) Essential role of STIM1 in the development of cardiomyocyte hypertrophy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **389**, 172-176.
- 27) Ohba, T., Watanabe, H., Murakami, M., Iino, K., Adachi, T., Baba, Y., Kurosaki, T., Ono, K. and Ito, H. (2017) Stromal interaction molecule 1 haploinsufficiency causes maladaptive response to pressure overload. *PLoS One*, **12**, e0187950.
- 28) Watanabe, H., Iino, K., Ohba, T. and Ito, H. (2013) Possible involvement of TRP channels in cardiac hypertrophy and arrhythmia. *Curr. Top. Med. Chem.*, **13**, 283-294.