

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation
- 研究開発課題名： (日本語) 生体の機械受容機構の分子基盤と生理的意義の解明による革新的医療ターゲットの確立
(英語) Elucidation of the molecular mechanism of mechanotransduction and its physiological role for maintaining homeostasis
- 研究開発担当者 (日本語) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・助教・片野坂友紀
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University, Assistant Professor, Yuki Katanosaka
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語)
開発課題名： (英語)
- 研究開発分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

本プロジェクトでは、生体に広く発現している多機能メカノセンサーTRPV2の生理的役割を解明する。また、TRPV2を介したメカノトランスダクション機構を明らかにする。このため、これまで作成した、様々な組織を対象としたTRPV2ノックアウト(KO)マウスを利用して、その表現型の生理的特徴、細胞機能・構造や分子応答の変化を解析する。その結果、生体のメカニカルストレスを利用した巧みな適応機構とその破綻による病態発症機構を理解し、様々な疾患に対する革新的医療ターゲットを確立することを最終目標とする。

本年度は、昨年度に引き続き、これまでに作製してきた様々な組織を対象とした TRPV2KO マウスを用いて、分子から生体までの多階層・多組織の解析を行い、各組織のメカニカルストレスに起因する生理・病理現象を解析した。

具体的な成果は以下の通りである。

(1)TRPV2KO マウスの生理機能解析

昨年度と比較して、A, B および C 組織をターゲットとした TRPV2KO マウスの表現型解析が進み、生理条件およびメカニカルストレス条件下での組織応答が明らかとなった。この結果、生体では、TRPV2 を介したメカニカルストレス応答経路が、生理機能や構造の維持に広く利用されていることが明らかとなった。

(2)TRPV2KO 細胞の分化・成熟の解析

数種類の組織特異的な TRPV2KO マウスから、初代培養細胞を単離して、その分化・成熟の過程を、形態的・機能的に解析した。この結果、TRPV2 が関与するメカニカル刺激依存的な Ca^{2+} 応答に、細胞の分化・成熟や、形態・機能の維持に必要であることが明らかとなった。

(3)TRPV2 依存的に変動する分子の抽出

TRPV2 依存的なシグナル経路や、TRPV2 欠損により生じる組織変容の要因を明らかにするために、TRPV2KO 組織のマイクロアレイ解析を行った。得られたデータを基に、階層クラスタリング解析を行い、TRPV2 の発現抑制によって変動するシグナル経路を絞った。

以上の結果から、A, B および C 組織において、TRPV2 の発現抑制によって生じる生理的变化が、TRPV2 の発現抑制によって細胞に生じた機能や構造の変化に依存することが明らかとなった。また、対象組織において、TRPV2 を介したメカニカルシグナルを解明するための準備データを十分得ることができた。

Mechanical forces provide essential physiological information for homeostatic regulation and functional adaptation at the levels of cells and organs. However, the molecular details of the mechanosensor and mechanotransduction required to organ homeostasis have remained unclear. Members of the transient receptor potential (TRP) cation channel family are potential candidates for the mechanoreceptors responding to tension, flow or changes in cell volume. Previously, we reported that TRP vanilloid family type 2 channels (TRPV2) can be activated by hypotonicity- and stretch-induced mechanical stimulation.

In this project, we will analyze the remodeling of physiological function and structure in several types of tissue-specific TRPV2 knockout (KO) mice. We also clarify the mechano-feedback signal transmitted via TRPV2 required for the maintenance of cellular structure and function in several tissues. These studies will elucidate the molecular mechanism of mechanotransduction and its physiological role for maintaining homeostasis. In addition, we will propose the effective therapeutic target for several diseases caused by defects of mechano-feedback signal transmitted via TRPV2.

The results from this study are as follows.

(1) The analysis of pathophysiological role of TRPV2

We analyzed the effects of TRPV2-elimination on structure and function in several tissues. We get the information for understanding the role of TRPV2 in steady state or mechanical load condition. These results suggested that TRPV2 is crucial for the maintenance of structure and function in several tissues.

(2) The effect of TRPV2-elimination on cellular differentiation and maturation

We analyzed the cellular morphology and physiology during cellular differentiation and maturation on TRPV2-deficient cell. In several tissues, TRPV2-deficient cells showed the impairment of its differentiation and maturation. These results suggest that TRPV2 signal is required for the cellular differentiation and maturation.

(3) Microarray analysis of TRPV2-deficient tissues

To search for putative pathways and biological processes induced by deletion of TRPV2, we performed microarray analysis on WT and TRPV2-deficient tissues. We found that 72 genes were differentially expressed on the basis of a criterion of at least a 0.5-fold change and an adjusted value of $P < 0.05$ when TRPV2KO was compared with WT. Interestingly, pivotal transcriptional regulators of myocyte differentiation are noted to be downregulated. These findings suggest that the phenotype resulting from disruption of TRPV2 arise primarily perturbations in cellular differentiation and maturation.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 1 件、国際誌 2 件)

1. Ujihara Y, Iwasaki K, Takatsu S, Hashimoto K, Naruse K, Mohri S, **Katanosaka Y**. Induced NCX1 overexpression attenuates pressure overload-induced pathological cardiac remodeling. **Cardiovascular Res.** 2016, 111:348-361. Doi:10.1093/cvr/cvw113.
2. Ujihara Y, Mohri S, **Katanosaka Y**. Effects of induced Na⁺/Ca²⁺ exchanger overexpression on the spatial distribution of L-type Ca²⁺ channels and junctophilin-2 in pressure-overloaded hearts. **Biochem Biophys Res Commun.** 2016, 480:564-569. Doi:10.1016/j.bbrc.2016.10.090.
3. **片野坂友紀**, 「TRP シグナルを利用した機械受容～心臓の可塑性や生理機能を支える TRP チャネルを中心に～」『医学のあゆみ』2016, 257, 1015-1022, 医歯薬出版株式会社, 東京,

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. The critical role of TRPV2 within the working heart (オーガナイズドセッション、シンポジウム)、口頭、**片野坂友紀**、第 55 回日本生体医工学会大会 (富山)、2016/4/28、国内
2. The critical role of TRPV2 in the hearts (次世代シンポジウム)、口頭、**Yuki Katanosaka**、第 90 回日本薬理学会 (長崎)、2017/3/16、国内
3. TRPV2 is required for normal cardiac plasticity. (公募シンポジウム)、口頭、**Yuki Katanosaka**、第 94 回日本生理学会 (浜松)、2017/3/28、国内
4. 心不全進行過程における Na⁺/Ca²⁺交換体の強制発現が心筋細胞の微細構造に及ぼす影響、ポスター、氏原嘉洋, 橋本謙, 成瀬恵治, 毛利聡, **片野坂友紀**、第 55 回日本生体医工学会大会 (富山) 2016/04/27、国内
5. The role of stretch-activated channel on myogenic differentiation of skeletal myoblast (C2C12 筋芽細胞の融合・分化過程におけるメカノセンサーの役割)、千葉弓子、氏原嘉洋、**片野坂友紀**、第 4 回若手による骨格筋研究会 (名古屋)、2016/11/14、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし

(4) 特許出願
なし