

ジアシルグリセロール感受性 TRPC チャンネルを介した心肥大誘導のメカニズム

西田基宏,* 渡辺健太, 仲矢道雄, 黒瀬 等

Mechanism of Cardiac Hypertrophy via Diacylglycerol-sensitive TRPC Channels

Motohiro NISHIDA,* Kenta WATANABE, Michio NAKAYA, and Hitoshi KUROSE
Department of Pharmacology and Toxicology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences,
Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

(Received August 31, 2009)

Activation of Ca^{2+} signaling in cardiomyocytes induced by receptor stimulation or mechanical stress has been implicated in the development of cardiac hypertrophy. However, it is still unclear how intracellular Ca^{2+} targets specifically decode the alteration of intracellular Ca^{2+} concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) on the background of the rhythmic Ca^{2+} increases required for muscle contraction. In excitable cardiomyocytes, changes in the frequency or amplitude of Ca^{2+} transients evoked by Ca^{2+} influx-induced Ca^{2+} release have been suggested to encode signals for induction of hypertrophy, and a partial depolarization of plasma membrane by receptor stimulation will increase the frequency of Ca^{2+} oscillations. We found that activation of diacylglycerol (DAG)-responsive canonical transient receptor potential (TRPC) subfamily channels (TRPC3 and TRPC6) mediate membrane depolarization induced by G_q protein-coupled receptor stimulation. DAG-mediated membrane depolarization through activation of TRPC3/TRPC6 channels increases the frequency of Ca^{2+} spikes, leading to activation of calcineurin-dependent signaling pathways. Inhibition of either TRPC3 or TRPC6 completely suppressed agonist-induced hypertrophic responses, suggesting that TRPC3 and TRPC6 form heterotetramer channels. Furthermore, we found that hypertrophic agonists increase the expression of TRPC6 proteins through activation of G_{12} family proteins, leading to amplification of DAG-mediated hypertrophic signaling in cardiomyocytes. As heart failure proceeds through cardiac hypertrophy, TRPC3/TRPC6 channels may be a new therapeutic target for heart failure.

Key words—transient receptor potential; diacylglycerol; cardiac hypertrophy; G protein-coupled receptor

1. はじめに

慢性高血圧や大動脈狭窄による血行力学的負荷や虚血などのストレスによって心筋細胞の肥大（心肥大）が誘導される。心肥大の誘導には、心筋細胞内のカルシウムイオン（ Ca^{2+} ）濃度の持続的な上昇による Ca^{2+} シグナリングの活性化が深く関わっている。心肥大に係わる Ca^{2+} シグナリングの活性化は、ノルアドレナリン（noradrenaline; NAd）やアンジオテンシン（angiotensin; Ang），エンドセリン（endothelin; ET）などをリガンドとする G_q タンパク質共役型受容体を刺激することで誘発される。しかし、 G_q タンパク質による Ca^{2+} シグナリング活

性のメカニズムはいまだによく分かっていない。われわれは最近、ラット新生児の初代培養心筋細胞を用いて、ジアシルグリセロール（diacylglycerol; DAG）により活性化される Transient Receptor Potential Canonical (TRPC) チャンネル（TRPC3 と TRPC6 のヘテロ四量体チャンネル）が Ang II 刺激による脱分極応答を仲介することで、 Ca^{2+} シグナリング活性化及び心肥大を誘発することを明らかにした。さらに、Ang II や ET-1 刺激による G_{12} ファミリータンパク質の活性化が TRPC6 のタンパク発現量を増加させることで、長期的な Ca^{2+} シグナリングの活性化（シグナル増幅）に働く可能性を見出した。これらの知見は、DAG 感受性 TRPC チャンネルが心不全治療の新たな創薬標的になり得ることを強く示唆している。

2. 心臓の形態変化と機能不全

慢性心不全はあらゆる心疾患の終末像であり、そ

九州大学大学院薬学研究院薬効安全性学分野（〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1）

*e-mail: nishida@phar.kyushu-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 129 年会シンポジウム S18 で発表したものを中心に記述したものである。

の予後（5年生存率）も50%程度と悪性腫瘍に匹敵するほど悪い。日本国内の慢性心不全患者数は100万人以上と推定されており、高齢化に伴いその数は年々増加傾向にある。Ang変換酵素阻害剤や β アドレナリン受容体拮抗薬が心不全の標準治療に導入され、慢性心不全の予後は大きく改善しているものの決して十分とは言えず、患者のQOL改善や医療費軽減の観点からもより画期的な治療薬の開発が求められている。

心臓に血行力学的負荷が加わると、心臓は自身を大きく（肥大）することでポンプ機能を維持しようとする。心肥大は、心不全患者にみられる典型的な所見であり、心エコーで容易にかつ非侵襲的に診断することができる。初期の心肥大は負荷に適応するための代償機構と考えられているものの、負荷が取り除かれずと心肥大は心不全へと進行する（Fig. 1）。心肥大の初期段階では、心機能の低下を伴わない壁厚の増加を伴った求心性の心肥大が生じる。この段階で負荷が軽減すれば、心臓は元の大きさに戻ることから代償性心肥大とも言われる。しかし負荷が持続した場合、壁厚の薄化を伴った拡張性の心肥大（遠心性心肥大）が生じ、やがて時間の経過に従って心機能の低下（心不全）が引き起こされる。したがって、心不全の前段階で生じる心肥大の抑制が、結果的に心不全の予防・治療につながるであろうと期待されている。心肥大の発症・成因には、NAd, Ang II, ET-1などの神経体液性因子の関与が強く示唆されている。われわれは、三量体 G_q ファミリータンパク質だけでなく G_{12} ファミリータン

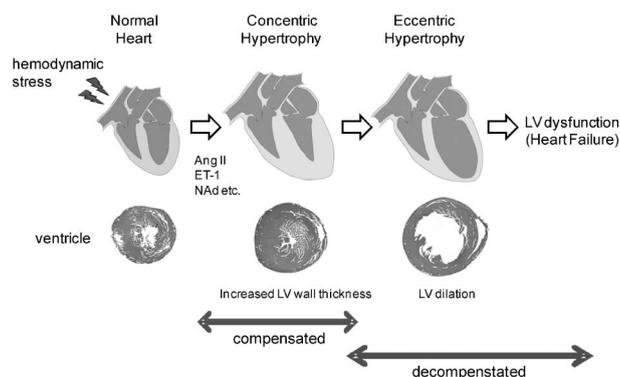


Fig. 1. Time-dependent Morphological Changes of the Heart Induced by Hemodynamic Stress, Such as Chronic Hypertension or Aortic Stenosis
LV; left ventricular.

パク質を介したシグナリング経路も、これらアゴニストにより誘発される心肥大応答に関与することを明らかにしている。¹⁻³⁾

3. Ca^{2+} シグナリングと心肥大

心臓は全身に血液を送り出すためのポンプとしての役割を担うため、常に収縮・弛緩運動を続けている。心臓の収縮・弛緩は、心筋細胞内 Ca^{2+} 濃度（ $[Ca^{2+}]_i$ ）によって精密に制御されている。すなわち、電氣的興奮（細胞膜の脱分極）による電位依存性L型 Ca^{2+} チャネルの活性化を介した細胞外からの少量の Ca^{2+} 流入とそれに続くリアノジン受容体を介した筋小胞体からの大量の Ca^{2+} 放出（ Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release; CICR）が筋収縮の引き金として働いている（Fig. 2）。一方、心肥大遺伝子の発現誘導には、calmodulin (CaM) 依存的に活性化されるシグナル分子群 [calcineurin や CaM kinase II (CaMKII), CaM-binding transcription factor (CAMTA)] が重要な役割を果たすことが明らかにされている。⁴⁻⁶⁾中でも特に、高 Ca^{2+} 感受性の calcineurin 及びその下流で活性化される転写因子 nuclear factor of activated T cells (NFAT) を介したシグナル経路が注目されている。⁴⁾ calcineurin-NFAT シグナルの研究は免疫細胞で最もよく進んでおり、受容体刺激によって誘発される容量性 Ca^{2+} 流入がNFAT活性化に関与することが分かっている。⁷⁾一方、興奮性の心筋細胞ではCICRに係わる電位依存性L型 Ca^{2+} チャネルとリアノジン受容体が主たる Ca^{2+} 供給源として働いている。しかし、電位依存性 Ca^{2+} チャネルの過剰発現やリアノジン受容体の機能亢進など、CICRが破綻した状態では確かに心肥大が誘発されるものの、普段の心筋興奮時に発生するCICRを介した $[Ca^{2+}]_i$ 上昇（ Ca^{2+} spike）でNFATは活性化されない。そのためNFATは、CICRによって生じる $[Ca^{2+}]_i$ 上昇経路とは異なる経路を介して活性化されると考えられる（Fig. 2）。そこでわれわれは、自発的な活動を保持しているラット新生児の心室筋細胞の初代



西田基宏

2001年東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了（長尾拓教授）。岡崎統合バイオサイエンスセンター助手、九州大学大学院薬学研究院・講師を経て現職。2006年文部科学大臣表彰若手科学者賞受賞。（趣味）妻の機嫌取り（掃除、子連れ散歩など）、熱血本（漫画合）の読書。

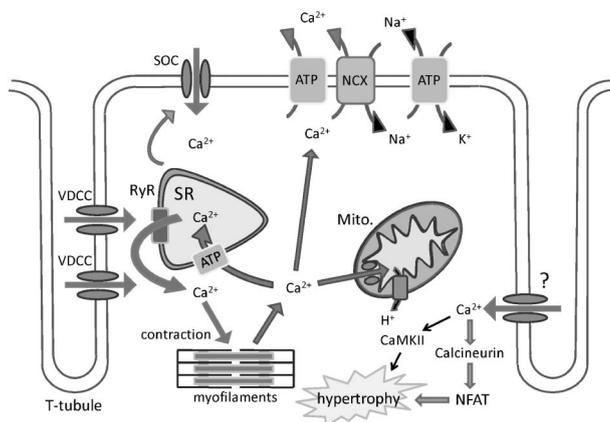


Fig. 2. Ca^{2+} Transport in Ventricular Myocytes

VDCC; voltage-dependent Ca^{2+} channel, NCX; $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger, ATP; ATPase, NFAT; nuclear factor of activated T cells, SOC; store-operated Ca^{2+} channel, SR; sarcoplasmic reticulum, RyR; ryanodine receptor, Mito.; mitochondria.

培養系を用いて、心肥大誘導を担う Ca^{2+} シグナリングの解析に着手した。

4. DAG を介した $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇と NFAT 活性化

非興奮性細胞における NFAT 活性化は、主にイノシトール-1,4,5-三リン酸 (IP_3) 受容体を介した Ca^{2+} 放出によって引き起こされる。しかし、心室筋細胞における IP_3 受容体の発現量がリアノジン受容体の発現量の約 1/100 程度であることや、実際の細胞の興奮によって生じる周期的な Ca^{2+} spike はリアノジン受容体を介した CICR によるものであることから、心筋の IP_3 受容体が非興奮性細胞と同じような役割を担うとは考え難い。そこで最初に、 IP_3 と DAG のどちらがアゴニスト刺激による NFAT 活性化に関与するか検討した。

NFAT は Ca^{2+} 依存性ホスファターゼ calcineurin によって脱リン酸化され、細胞質から核内に移行する。核内に移行した NFAT は、他の転写因子 (GATA4 など) と結合することで胎児型 β -ミオシン重鎖 (MHC) や脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) などの心肥大マーカー遺伝子の転写を促進する。心筋細胞に Ang II 刺激を 30 分間行うと、細胞質に局在していた GFP 融合 NFAT タンパク (GFP-NFAT) は核内に移行した。⁸⁾ Ang II による GFP-NFAT の核移行は、 IP_3 受容体を阻害するゼストスポンジン C (XestC) の処理あるいは IP_3 スポンジ (IP_3 受容体の IP_3 結合ドメインのみ) を発現させても抑制されなかった。これに対し、DAG をホスファチジン酸に変える DAG キナーゼ β

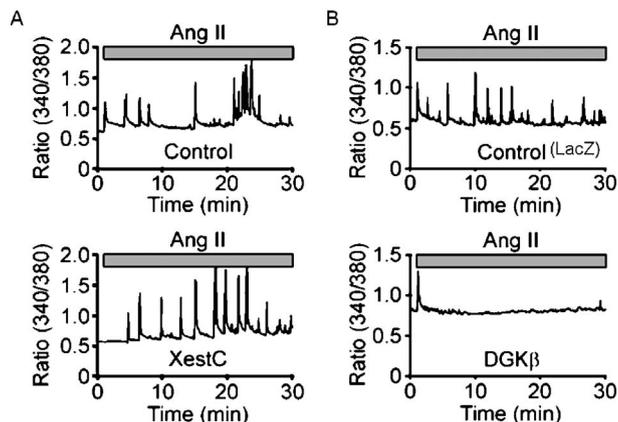


Fig. 3. Effects of Xestostonin C (XestC) and Diacylglycerol Kinase (DGK) β on Ang II-induced Ca^{2+} Responses in Rat Neonatal Cardiomyocytes

A portion of cells was treated with XestC for 30 min, and a part of cells was infected with LacZ or DGK β for 48 h before Ang II stimulation.

(DGK β) を発現させると GFP-NFAT の核移行は阻害された。Ang II 刺激による NFAT 転写活性の増大もまた XestC 処理あるいは IP_3 sponge の発現では抑制されず、DGK β の発現により抑制された。一方、心筋細胞は自発的な活動能を持っており、収縮時にはスパイク状の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 濃度上昇を示す (Fig. 3)。Ang II 刺激は、この間断的な Ca^{2+} spike の発生頻度を増加させた。さらに、XestC 及び DGK β を用いた結果、Ang II 刺激直後に観察される一過的な $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇は IP_3 依存的に起こり、その後の Ca^{2+} spike の頻度増加は DAG 依存的に起こることが分かった。以上の結果から、 IP_3 を介した $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇ではなく、DAG を介した持続した $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇が NFAT の活性化に関与していることが明らかとなった。

5. DAG による脱分極における TRPC チャンネルの関与

Ang II 刺激による持続した $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇が細胞外の Ca^{2+} を除去することで完全に抑制されたことから、細胞外からの Ca^{2+} 流入が NFAT 活性化に関与していることが分かった。そこで各種イオンチャンネル阻害剤を用いて Ca^{2+} 流入経路を調べたところ、Ang II 刺激による NFAT の核移行は受容体作動性チャンネル阻害剤 (SK&F96365) だけでなく電位依存性 L 型 Ca^{2+} チャンネル阻害剤 (nitrendipine) によっても抑制されることが分かった。次に current clamp 法を用いて膜電位を測定したところ、Ang II 刺激によって静止膜電位の脱分極側へのシ

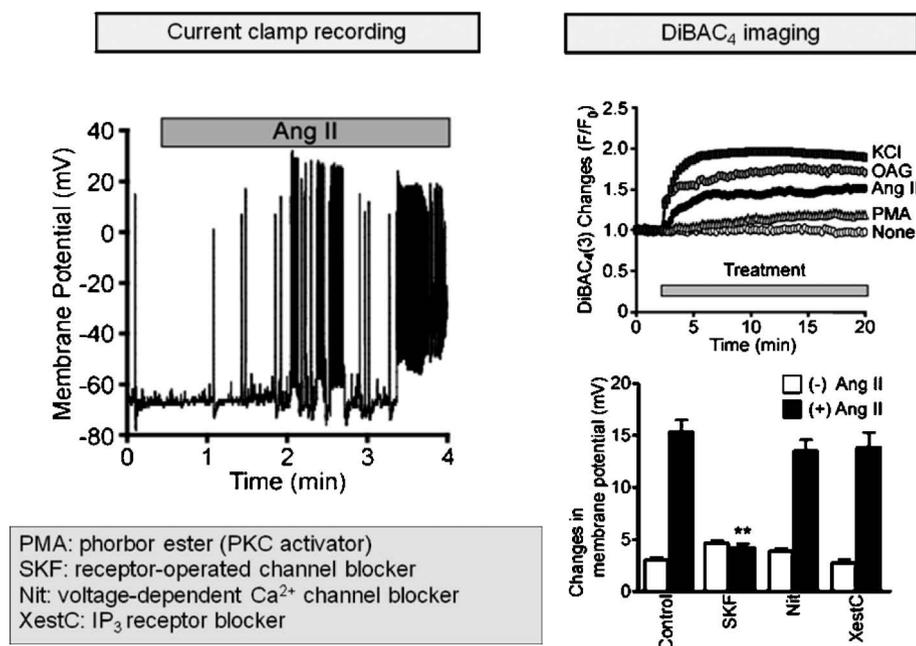


Fig. 4. Measurement of Membrane Potential Using Current-clamp Technique

Left, representative traces of time-dependent changes in the membrane potential and the frequency of action potential by Ang II stimulation in the current-clamp mode. Upper right, representative time courses of changes in Ang II-, OAG-, or PMA-induced F/F_0 of DiBAC₄(3) fluorescence. F_0 means the initial value of fluorescence. Lower right, maximal changes in resting membrane potential calculated from the changes in DiBAC₄(3) fluorescence intensity.

フト (約 15 mV) と、それに随伴した活動電位の発生頻度の増加が誘発された (Fig. 4). 電気生理学的手法では、長時間にわたる膜電位変化の測定が困難であったことから、膜電位感受性色素 (DiBAC₄(3)) を用いて長期的な膜電位変化を調べた. Ang II 刺激による蛍光強度の増加 (すなわち脱分極応答) は SKF96365 処置により完全に抑制され、nitrendipine では抑制されなかった. この脱分極応答は、DAG 誘導体 (1-oleoyl-2-sn-diacylglycerol; OAG) によっても生じたことから、Ang II 刺激が DAG を介して受容体作動性チャネルを活性化し、軽度な脱分極を誘発することで電位依存性 Ca^{2+} チャネルの活性化による Ca^{2+} 流入を増大させる可能性が示された (Fig. 5). さらに、whole cell patch clamp 解析によって得られた電流-電圧相関曲線から、Ang II 刺激で誘発される電流が TRPC6 チャネル様の電気的性質を持つことが明らかになった.

TRP チャネルは受容体作動性チャネルの分子実体として考えられている. TRP チャネルは、もともとショウジョウバエの眼の光受容に異常を示す変異体の原因遺伝子として同定された.⁹⁾ この遺伝子に変異が入ると、光への応答が一過性になり細胞外

からの Ca^{2+} 流入が減弱したことから、この遺伝子は *trp* (transient receptor potential) と命名された. 哺乳類の TRP は細胞膜を 6 回貫通するという共通の構造を持ち、配列の類似性から、TRPC, TRPV, TRPM, TRPA, TRPP, TRPML の 6 つのサブファミリーに分類される. このうち、TRPC はイノシトール代謝回転と関連した受容体刺激によって活性化されるチャネル群である. TRPC には 7 つのホモログ (C1-C7) が存在し、心筋細胞には TRPC2 以外のすべてのホモログが存在している.¹⁰⁾ また、DAG によって活性化される TRPC チャネル (TRPC3, TRPC6, TRPC7) が、血管の脱分極に関与することが既に報告されている.¹¹⁾ そこで DAG 依存性を示す TRPC を心筋細胞に過剰発現させ、Ang II 刺激による膜電位変化を検討したところ、TRPC3 と TRPC6 を発現させた細胞だけが Ang II 刺激による脱分極応答を増強させた. さらに、TRPC3 又は TRPC6 をノックダウンさせた細胞では、Ang II による脱分極応答が有意に抑制された.

6. DAG を介した心肥大形成のメカニズム

Ang II 刺激により心筋細胞は肥大用の形態変化 (アクチン再構築) や肥大関連遺伝子 (brain

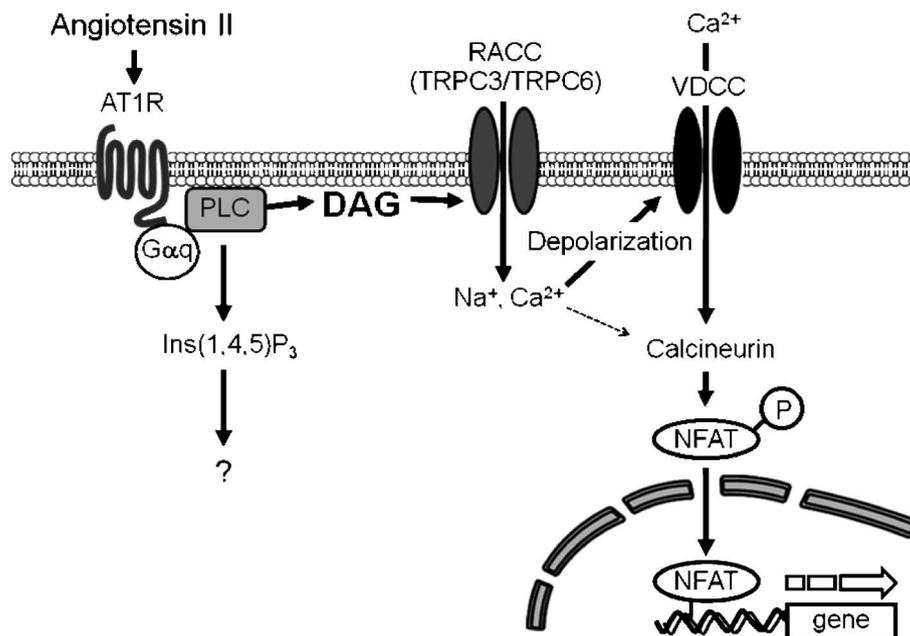


Fig. 5. Schema of Ang II-induced NFAT Activation in Cardiac Myocytes

natriuretic peptide; BNP) の発現を引き起こす。Ang II 刺激による心肥大応答 (BNP の発現誘導, タンパク合成の促進, アクチン再構築) は, IP₃ sponge では抑制されず, DGK β の発現によって完全に抑制された。DAG が心肥大に係わるという結果は, DGK ζ を心筋特異的に過剰発現させたマウスが Ang II の持続注入によって誘発される心肥大を抑制するという報告と一致している。¹²⁾ さらに, TRPC3 及び TRPC6 の siRNA を処置した心筋細胞では, Ang II 刺激による NFAT の核移行及び肥大応答が完全に抑制された。以上の結果から, TRPC3 及び TRPC6 が Ang II 刺激による NFAT の核移行及び心肥大応答を仲介していることが明らかになった。

7. NFAT 活性化を担う電位依存性 Ca²⁺ チャンネル

Nitrendipine 処置によって Ang II 刺激で誘発される肥大応答は完全に抑制された。自発的な Ca²⁺ spike 発生時における L 型 Ca²⁺ チャンネルを介した Ca²⁺ 流入によって NFAT は活性化されないものの, 軽度な脱分極による Ca²⁺ spike 発生頻度の増加が肥大遺伝子の発現を誘導することが報告されている。¹³⁾ したがって, L 型 Ca²⁺ チャンネルが最終的な Ca²⁺ 流入源として働く可能性は極めて高い。しかし最近, T 型 Ca²⁺ チャンネルの遺伝子欠損マウスが圧負荷で誘発される心肥大を抑制することも報告

されている。¹⁴⁾ われわれも予試験レベルではあるが, Ang II 刺激によって誘発される Ca²⁺ spike 頻度の増加と NFAT 活性化が T 型 Ca²⁺ チャンネル阻害剤 (ミベフラジル) によっても抑制されることを見出ししている。nitrendipine は T 型 Ca²⁺ チャンネルも抑制し得ることから,¹⁵⁾ T 型 Ca²⁺ チャンネルが NFAT 活性化を誘導する Ca²⁺ 流入経路として働いているかもしれない。Ca²⁺ 流入経路の実体解明については, 今後さらに検討していく必要がある。

8. G $\alpha_{12/13}$ タンパク質を介した TRPC6 チャンネルの発現増加

圧負荷や虚血によって生じるイオンチャンネルの量的・質的变化 (イオンチャンネルリモデリング) もまた不整脈や心機能低下を引き起こす原因になると考えられている。複数のグループが, 肥大心や不全心において TRPC チャンネルの発現量が増加することを報告している。¹⁰⁾ 例えば, Kuwahara らは, マウスへの圧負荷処置や心不全患者で TRPC6 の発現が増加していることを見出ししている。¹⁶⁾ さらに, TRPC6 の発現増加と肥大マーカー分子 (ANP) の発現上昇とが相関することから, TRPC6 が単に心肥大を仲介しているだけでなく, 心疾患時にみられた発現上昇がポジティブフィードバック的に働いている可能性もあると指摘している。Bush らは, ラットへの圧負荷処置で TRPC3 の発現が増加すること, また β アドレナリン受容体を刺激しても

TRPC3 の発現が増加することを示した.¹⁷⁾ さらに、恒常的活性型のカルシニューリンを発現させたマウスでも TRPC3 の発現が増加していることを示した。一方、ヒトの心不全末期の患者では、Kawahara らが報告した TRPC6 ではなく TRPC3 の発現上昇がみられたと報告している。Ohba らはラット腹部大動脈の狭窄による圧負荷をかけた際に、TRPC1 の発現が増加することを示している。¹⁸⁾ このように、動物種や実験モデルによって発現誘導される TRPC サブタイプに違いはあるものの、TRPC チャンネルを介したシグナリングが心肥大の発症・進展に関与するという点では一致した見解が得られている。

われわれは以前、心線維芽細胞を用いて、Ang II 刺激が G_{12} ファミリー ($G_{12/13}$) タンパク質依存的に NFAT を活性化することを報告した。¹⁹⁾ さらに、恒常的活性型変異体の $G_{\alpha 13}$ を発現させた心線維芽細胞では basal level での Ca^{2+} 流入量の増加が認められた。²⁰⁾ この Ca^{2+} 流入が SK&F96365 で抑制されたことから各 TRPC チャンネルの発現量を調べたところ、TRPC6 の発現量だけが増加していた (Fig. 6)。この過程には、 $G_{\alpha 12/13}$ を介した c-Jun NH₂-terminal kinase (JNK) 及び AP-1 転写活性の

増加が関与していた。心筋細胞の $G_{12/13}$ タンパク質の α サブユニット ($G_{\alpha 12/13}$) の機能を阻害しておくと、Ang II や ET-1 刺激により誘発される心肥大応答が抑制される。^{5,6,21)} したがって、Ang II や ET-1 刺激は、 G_q タンパク質を介して TRPC3/TRPC6 チャンネルを活性化するとともに、 $G_{12/13}$ タンパク質を介して TRPC6 の発現量を増加させることで、 Ca^{2+} -NFAT シグナリングを活性化している可能性が考えられる (Fig. 7)。一方、心線維芽細胞に低濃度の ET-1 刺激を行うと $G_{\alpha 12/13}$ シグナル依存的に線維化が誘導される。ところが ET-1 刺激による NFAT の活性化は、 $G_{\alpha 12/13}$ シグナル依存的な線維化応答に対して抑制的に働く。そのため、 $G_{\alpha 12/13}$ 依存的な TRPC6 の発現増加は、過度なアゴニスト刺激に対する抑制 (ネガティブフィードバック) に働くと考えられる。われわれは最近、 $G_{\alpha 12/13}$ タンパク質の α サブユニットが圧負荷による心臓の線維化 (コラーゲンの蓄積) 誘導に係わることを *in vivo* で明らかにしている。²²⁾ 線維化は心臓の炎症応答であり、心臓の硬化を引き起こすことから、拡張機能障害の原因として注目されている。線維化と TRPC チャンネルとの関連については *in vivo* での解析が必要であるが、例えば、心線維芽細胞で線維化

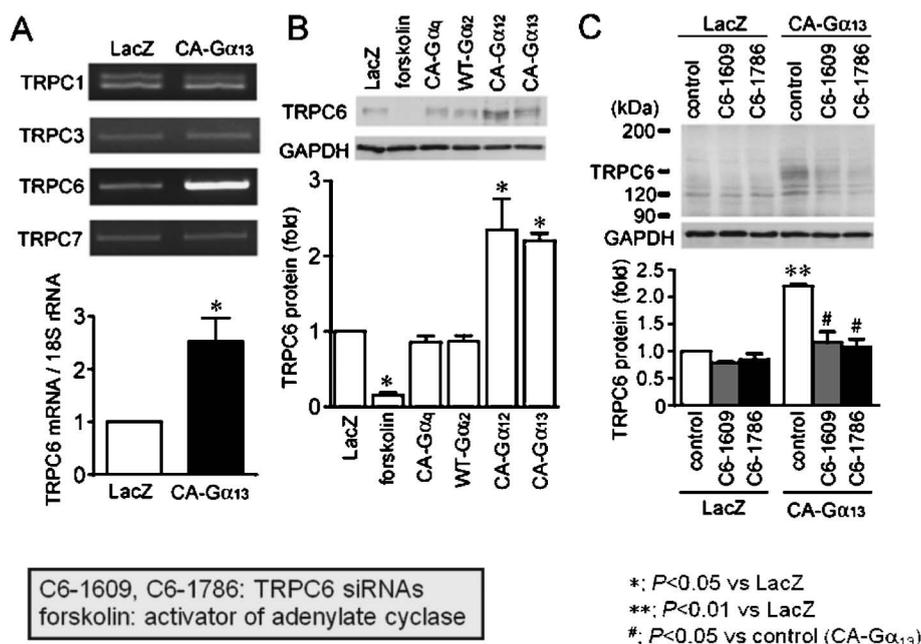


Fig. 6. Upregulation of TRPC6 by $G_{\alpha 13}$ Activation

A, RT-PCR analysis of RNA expression of TRPC channels in LacZ- and constitutively active (CA) mutant of $G_{\alpha 13}$ -expressing cardiac fibroblasts. B, expression of TRPC6 protein in LacZ- and the respective G_{α} -overexpressing cells. In order to activate G_{α} -dependent signaling, cells were treated with forskolin. C, effects of TRPC6 siRNAs on TRPC6 protein expression.

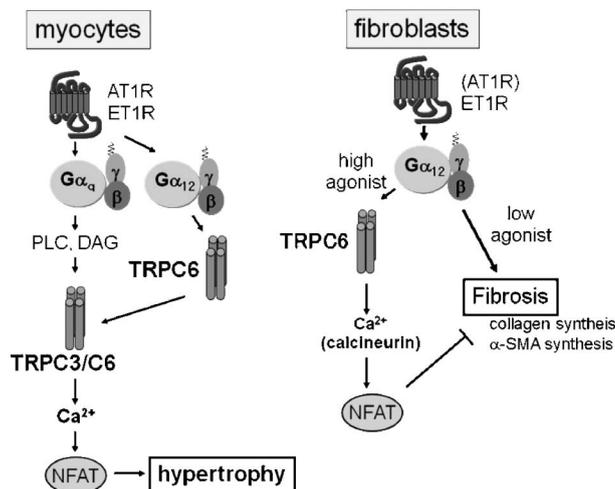


Fig. 7. Hypothetical Schema for the Different Roles of $G\alpha_{12/13}$ -mediated Upregulation of TRPC6 in Cardiomyocytes and Cardiac Fibroblasts

In cardiomyocytes, $G\alpha_{12/13}$ -mediated upregulation of TRPC6 amplifies $G\alpha_q$ -mediated activation of NFAT signaling induced by hypertrophic agonist stimulation. In contrast, $G\alpha_{12/13}$ -mediated TRPC6 upregulation negatively regulates agonist-induced fibrotic responses in cardiac fibroblasts.

抑制に働く TRPC6 チャンネルを抑制せず，心筋細胞の TRPC3 チャンネルを抑制する化合物を開発できれば，副作用の少ない心肥大・心不全の治療薬につながると考えられる。²³⁾

9. おわりに

NFAT 活性をリードアウトにして心肥大形成に係わる Ca^{2+} シグナリングの解析を行ったところ，DAG 感受性 TRPC チャンネル (TRPC3/TRPC6) という新たな分子の発見につながった。また，心肥大・心不全時に TRPC チャンネルタンパク発現量が増加することが複数のグループによって明らかにされ，発現増加の分子機序も明らかにされてきた。しかし依然として，TRPC3/TRPC6 チャンネルの生理機能 (つまり普段何をしているか) についてはよく分かっておらず，今後検討していかなければならない。一方， IP_3 シグナリングが心肥大誘導に係わるという報告もされている。^{24,25)} 彼らは，細胞質の IP_3 ではなく核内の IP_3 産生が心肥大応答に重要であると指摘している。つまり，核内の局所的な Ca^{2+} 濃度上昇による CaMKII の活性化がヒストン脱アセチル化酵素をリン酸化し，転写の脱抑制をかけることで心肥大を引き起こすというものである。現段階でわれわれとの矛盾を説明することは難しいが，一方で心不全時に IP_3 受容体の発現量が増加することも報告されており，求心性肥大から遠心性肥

大へと進行する過程では DAG ではなく IP_3 経路が重要かもしれない。この点についても，今後詳細に検討する必要があるだろう。

尚，本研究は九州大学の動物実験委員会及び遺伝子組換え委員会で承認されており，九州大学及び文部科学省の定める動物実験ガイドラインに従って実施されています。

謝辞 本研究を遂行するにあたり，多大なるご支援・ご協力を賜りました，福岡大学医学部・井上隆司先生，京都大学大学院工学研究科・森 泰生先生，並びに九州大学医学部・住本英樹先生に心から感謝申し上げます。

REFERENCES

- 1) Maruyama Y., Nishida M., Sugimoto Y., Tanabe S., Turner J. H., Kozasa T., Wada T., Nagao T., Kurose H., *Circ. Res.*, **91**, 961–969 (2002).
- 2) Arai K., Maruyama Y., Nishida M., Tanabe S., Kozasa T., Mori Y., Nagao T., Kurose H., *Mol. Pharmacol.*, **63**, 478–488 (2003).
- 3) Nishida M., Tanabe S., Maruyama Y., Mangmool S., Urayama K., Nagamatsu Y., Takagahara S., Turner J. H., Kozasa T., Kobayashi H., Sato Y., Kawanishi T., Inoue R., Nagao T., Kurose H., *J. Biol. Chem.*, **280**, 18434–18441 (2005).
- 4) Molkenkin J. D., Lu J.-R., Antos C. L., Markham B., Richardson J., Robbins J., Grant S. R., Olson E. N., *Cell*, **93**, 215–228 (1998).
- 5) Frey N., McKinsey T. A., Olson E. N., *Nat. Med.*, **6**, 1221–1227 (2000).
- 6) Song K., Backs J., McAnally J., Qi X., Gerald R. D., Richardson J. A., Hill J. A., Bassel-Duby R., Olson E. N., *Cell*, **125**, 453–466 (2006).
- 7) Gallo E. M., Canté-Barrett K., Crabtree G. R., *Nat. Immunol.*, **7**, 25–32 (2006).
- 8) Onohara N., Nishida M., Inoue R., Kobayashi H., Sumimoto H., Sato Y., Mori Y., Nagao T., Kurose H., *EMBO J.*, **25**, 5305–5316 (2006).
- 9) Montel C., Rubin G. M., *Neuron*, **2**, 1313–1323 (1989).
- 10) Nishida M., Kurose H., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **378**, 395–406

- (2008).
- 11) Inoue R., Okada T., Onoue H., Hara Y., Shimizu S., Naitoh S., Ito Y., Mori Y., *Circ. Res.*, **88**, 325–332 (2001).
 - 12) Arimoto T., Takeishi Y., Takahashi H., Shishido T., Niizeki T., Koyama Y., Shiga R., Nozaki N., Nakajima O., Nishimaru K., Abe J., Endoh M., Walsh R. A., Goto K., Kubota I., *Circulation*, **113**, 60–66 (2006).
 - 13) Colella M., Grisan F., Robert V., Turner J. D., Thomas A. P., Pozzan T., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 2859–2864 (2008).
 - 14) Chiang C. S., Huang C. H., Chieng H., Chang Y. T., Chang D., Chen J. J., Chen Y. C., Chen Y. H., Shin H. S., Campbell K. P., Chen C. C., *Circ. Res.*, **104**, 522–530 (2009).
 - 15) Perez-Reyes E., Van Deusen A. L., Vitko I., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **328**, 621–627 (2009).
 - 16) Kuwahara K., Wang Y., McAnally J., Richardson J. A., Bassel-Duby R., Hill J. A., Olson E. N., *J. Clin. Invest.*, **116**, 3114–3126 (2006).
 - 17) Bush E. W., Hood D. B., Papst P. J., Chapo J. A., Minobe W., Bristow M. R., Olson E. N., McKinsey T. A., *J. Biol. Chem.*, **281**, 33487–33496 (2006).
 - 18) Ohba T., Watanabe H., Murakami M., Takahashi Y., Iino K., Kuromitsu S., Mori Y., Ono K., Iijima T., Ito H., *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **42**, 498–507 (2007).
 - 19) Fujii T., Onohara N., Maruyama Y., Tanabe S., Kobayashi H., Fukutomi M., Nagamatsu Y., Nishihara N., Inoue R., Sumimoto H., Shibasaki F., Nagao T., Nishida M., Kurose H., *J. Biol. Chem.*, **280**, 23041–23047 (2005).
 - 20) Nagamatsu Y., Nishida M., Onohara N., Fukutomi M., Maruyama Y., Kobayashi H., Sato Y., Kurose H., *J. Pharmacol. Sci.*, **101**, 144–150 (2006).
 - 21) Nishida M., Onohara N., Sato Y., Suda R., Ogushi M., Tanabe S., Inoue R., Mori Y., Kurose H., *J. Biol. Chem.*, **282**, 23117–23128 (2007).
 - 22) Nishida M., Sato Y., Uemura A., Narita Y., Tozaki-Saitoh H., Nakaya M., Ide T., Suzuki K., Inoue K., Nagao T., Kurose H., *EMBO J.*, **27**, 3104–3115 (2008).
 - 23) Kiyonaka S., Kato K., Nishida M., Mio K., Numaga T., Sawaguchi Y., Yoshida T., Wakamori M., Mori E., Numata T., Ishii M., Takemoto H., Ojida A., Watanabe K., Uemura A., Kurose H., Morii T., Kobayashi T., Sato Y., Sato C., Hamachi I., Mori Y., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 5400–5405 (2009).
 - 24) Wu X., Zhang T., Bossuyt J., Li X., McKinsey T. A., Dedman J. R., Olson E. N., Chen J., Brown J. H., Bers D. M., *J. Clin. Invest.*, **116**, 675–682 (2006).
 - 25) Higazi D. R., Fearnley C. J., Drawnel F. M., Talasila A., Corps E. M., Ritter O., *Mol. Cell*, **33**, 472–482 (2009).