

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06870

研究課題名(和文) 生下後の心筋分化誘導因子の同定：インビトロ心筋最終分化誘導法の開発

研究課題名(英文) Identification of factors promoting final differentiation of cardiac myocytes after birth

研究代表者

山田 充彦(yamada, mitsuhiko)

信州大学・学術研究院医学系・教授

研究者番号：10263237

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトを含めた哺乳類の心筋細胞は、一般的ドグマと異なり出生時にはまだ最終分化しておらず、胎児期の分裂能を残したまま、形態学的・生理的・生化学的に未成熟である。マウスでは、心筋細胞は出生後1週間ごろようやく分裂を停止し、ほぼ離乳期の約1か月齢で成獣レベルまで分化する。本研究では、この時期の左心室筋細胞の制御因子を検索し、意外にもインターロイキン-6/gp130シグナルが初期分裂の重要刺激因子であり、その抑制は20日齢段階の左心室の総心筋細胞数、壁厚、収縮能を有意に低下させることを見出した。したがって本研究により、この信号系が乳幼児期心筋疾患の新たな薬物標的となる可能性が判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、哺乳類の出生後早期の一過性心筋細胞分裂が、成長後の心臓の形態・機能形成に重要であること、それが主としてインターロイキン-6/gp130シグナルにより駆動されることを見出したことである。近年、ヒトの心筋細胞も胎児期・新生児期の後も、わずかながら継続的に分裂していることが知られ、再生療法への応用が期待されている。また近年、小児がん治療を受けた小児が、永年後心機能低下生じることが知られ、Oncocardiology的課題となっている。本研究は、小児心臓病治療にサイトカイン/gp130系が応用できる可能性をはじめ示した社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：Different from the widely accepted belief, cardiac myocytes of mammals including human are not 'terminally differentiated' at birth. They are still both structurally and functionally too immature to ensure their robust aerobic extrauterine life. In the case of mice, for instance, they cease cell division around 1 week old, and then, start to differentiate to the mature level by approximately one month. Interestingly, we here found for the first time that the most important driver of the initial cell division in the left ventricle is the interleukin 6/gp130 signaling system, and that it is necessary for establishing the normal myocyte number, wall thickness, and the contractility of the left ventricle. Thus, this pathway might be druggable in the regenerative medicine for the late-onset left ventricular dysfunction sometimes manifested in pediatric cancer survivors.

研究分野：薬理学

キーワード：新生児 心臓 細胞分裂 分化 インターロイキン6 gp130 腫瘍心臓病学 小児がん

1. 研究開始当初の背景

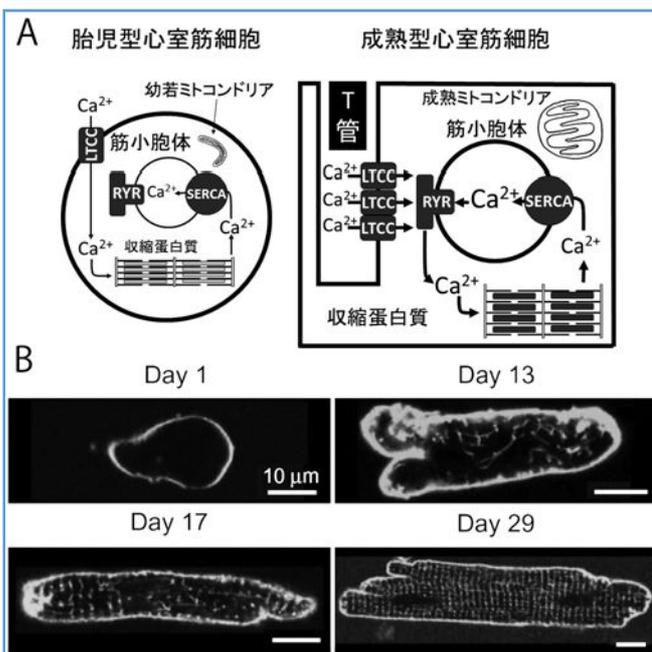


図 1: 出生後の心室筋細胞の形態・興奮収縮連関・ミトコンドリアの変化

A: LTCC: L 型 Ca^{2+} チャネル; RyR: ライアノジン受容体; SERCA: 筋小胞体 Ca^{2+} ポンプ B: 出生後のラットの左心室筋細胞の T 管の発達過程 各日齢のラットの左心室筋細胞を単離して、細胞膜染色用色素 di-8-ANEPPS で染色した。成長に伴い、細胞内に網目状の T 管が形成されるのが分かる。

ると、脱分極に伴い細胞全体の奥深くで LTCC が同期的に開口し Ca^{2+} が流入し、これが近傍の RyR を刺激して開口させ、SR から大量の Ca^{2+} を細胞質に遊離させる (Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release (CICR))。この現象により、左心室筋細胞は活動電位にトリガーされた大きな Ca^{2+} トランジエントを発生するようになる。またこの時期には、筋原線維も急速に増え、成熟型ミトコンドリアが筋原線維間に密に配列し、筋原線維と SERCA に効率的に ATP を分配するようになる。また離乳期までには冠動脈も発達し、厚い左心室壁内に効率的に酸素が運搬されるようになる。こうして、左心室は末梢組織に子宮外生活を支えるのに十分な拍出量を生み出す強い収縮力を獲得し、恒温動物の活発な有酸素運動を可能とする。

この左心室筋の分化は、生理的発達に極めて重要なので、種々の小児心臓病の新たな薬物標的になる可能性がある。しかし、その大部分の分子機構は現在でも不明である。

2. 研究の目的

そこで本研究では、哺乳類出生後離乳期までの左心室筋細胞分化メカニズム、特にその制御因子とその受容体を同定することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 左心室筋分化因子スクリーニング

過去の研究から出生後、表 1 に示すような増殖因子・ホルモン・サイトカインの筋内濃度が、変化することが知られている。しかしこれらの因子、またはその受容体のノックアウトマウスは、多くの場合胎生致死であり、仮に生存しても出生後心不全を生じ筋形質が二次的に変化してしまう。そのため、出生後の筋最終分化因子の研究は余り進んでいない。本研究は、これら従来の方法の欠点を補うべく、薬理的に心不全を生じないように薬物用量を調

哺乳類は、出生時に胎盤循環停止、肺循環開始、体血圧上昇という劇的な循環動態変化を経験する。この「循環移行」に耐えられない個体は、全て自然淘汰される。そこで体循環を支える左心室の筋細胞は、ほぼ離乳期までに、胎児型から成熟型にまで高度な分化を遂げる。中でも顕著なのは、細胞内構築・興奮収縮連関 (ECC)、代謝の分化である (図 1A)。

胎生期の左心室の負荷は、出生後に比較すると軽いので、胎児の左心室筋細胞は未熟で小さく、疎な筋小胞体 (SR)、収縮蛋白質、ミトコンドリアしか持たない。しかし、出生後は活発な子宮外生活に適応するため、急速に肥大し、細胞膜が細胞の長軸に直角方向に細胞内に折れ込み、「T 管」という構造を形成する (図 1B)。T 管は多くの膜電位依存性 L 型 Ca^{2+} チャネル (LTCC) を集積し、ECC の要となる。一方、細胞内では、SR が大きく発達し、その Ca^{2+} ポンプ (SERCA) の活性が急速に高まって大量の Ca^{2+} を貯蔵するようになる。そして、SR の終末槽は T 管の近傍に配置されるので、T 管の LTCC と SR 終末槽の Ca^{2+} チャネルであるライアノジン受容体 (RyR) が極めて近接するようになる。このような形態となった心室筋細胞に活動電位が発生す

表 1

生下後筋内濃度 が変化する因子	その 阻害薬
Angiotensin II	candesaltan
FGF -2, 16, 21, 23	nintedanib
VEGF-A, B	
PDGF-AA, AB, BB	
Insulin	linsitinib
IGF-2	
Cardiotrophin-1	SC144
Urocortin-1	astressin ₂ -B
Thyroid Hormone	DBD
Glucocorticoid	mifepristone

整することで、心筋分化誘導因子をスクリーニングした。

具体的には、表 1 に示した各種受容体阻害薬を、心不全を生じない用量に調整して、C57/BL6 マウスに出生後 1 日 (P0) から P19 まで連日皮下投与し、P20 に心臓の形態・機能を評価した。その結果、興味深いことにサイトカイン受容体 gp130 の阻害薬 SC144 が最も顕著な効果を示した。

そこで本研究は gp130 とそのリガンドの出生後心筋細胞分化における役割を検討した。

(2) 心機能解析

P20 のマウスの左心室収縮率 (LVEF) を、小動物用超音波高解像度イメージングシステム Vevo[®]2100 を用いて測定した。マウスを、イソフルラン麻酔下で保温ステージ (37 °C) に仰臥位に固定し、超音波検査を行った。また、マウスを三種混合麻酔薬 (メドミジン、ミダゾラム、ブトルファノール) で麻酔し、約 30 分の保温パッド上で心電図 (第二誘導) を測定した。

(3) 左心室心筋細胞の興奮収縮連関の解析

マウスに三種混合麻酔薬を投与したのち、摘出した心臓の大動脈から左心室内にコラゲナーゼ、プロテイナーゼを含む溶液をシリンジポンプにて 30 分間継続注入した。その後、溶解した左心室をピンセットで切り取り、眼科剪刀で組織をホモジナイズした。遠心分離後、上澄みを取り除き、単離心筋細胞を得た。これらに蛍光 Ca²⁺インジケータ Fluo4-AM を加え、室温で 45 分間培養した。その後、line-scanning 共焦点顕微鏡を用いて、フィールド刺激 (50 V x 1 ms x 0.2 Hz) により活動電位を誘発しながら、蛍光シグナルを解析し細胞内 Ca²⁺動態を解析した。

またラミネンコートしたカバーガラスに貼り付けた単離心筋細胞にパッチクランプ法のホールセルモードを適用し、膜電位固定により L 型 Ca²⁺チャネルの活性を測定した。

(4) 左心室心筋細胞の分裂増殖能の解析

P1 のマウスから左心室筋細胞を単離し、24 時間培養した。その後、低血清条件下で SC144 を加え、さらに分裂細胞をマーキングする 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) を添加した。24 ~ 48 時間後に細胞を 4% パラホルムアルデヒド溶液で固定し、それぞれ Click-iT[®] EdU Alexa Fluor[®] Imaging kit を用いて EdU のシグナルを、cardiac troponin-T 抗体および蛍光ラベルマウス二次抗体を用いて心筋細胞を検出した。また、*in vivo* で心臓内の分裂増殖している細胞をラベルするために、P2 および P4、または P4 に、EdU 溶液を皮下投与した。P5 に心臓を回収、凍結切片を作成し、免疫組織染色し、分裂心筋細胞数の定量解析を行った。

(5) CRISPR-Cas9 システム誘導を利用したアデノ随伴ウイルス (AAV) による心筋細胞特異的遺伝子ノックアウトマウスの作製

Loxp-STOP-loxp-Caspase9-GFP 配列をゲノム DNA に有するトランスジェニックマウスに、心筋トロポニン T プロモーターで駆動される Cre と gp130 標的ガイド RNA (gRNA) を含む AAV を感染させることで、心筋細胞特異的に gp130 遺伝子をノックアウトした (AAV gp130KO)。P1 のトランスジェニックマウスに、AAV (2 x 10¹⁰ virus genome/g) を皮下注射し、標記の日齢において実験を行った。またマウスゲノム DNA 上に特異的な標的を持たない non-targeting gRNA を含む AAV を感染させ、コントロールマウスを作製した (AAV control)。

(6) 二次元画像情報を基にした三次元構造シミュレーションによる左心室内総心筋細胞数の推定

P20 の AAV control, AAV gp130KO マウスの心臓を回収し、凍結ブロックを作製した。心尖部から心基部まで長軸方向に厚さ h_i で 6 等分し、計 7 断面から厚さ 20 μm の切片を作成し、トルイジンブルー染色し面積 S_i を測定した。これを用いて、左心室筋体積 (VLV) を以下の Eq. 1 で計算した。

$$V_{LV} = \sum_{i=1}^6 h_i * \left(\frac{S_i + S_{i+1} + (S_i * S_{i+1})^{0.5}}{3} \right) \quad \text{Eq. 1}$$

また 6 つの区画のそれぞれの中央部から厚さ 40 μm の切片を作成し、核マーカーを PCM-1 抗体で染色し、共焦点顕微鏡で 1 心筋細胞当たりの核数 ($N_{NUC,i}$) と単位体積 ($V_U = 50 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$) あたりの心筋細胞核数 ($N_{CMNUC,i}$) を計測した。以上より 1 左心室あたりの心筋細胞数 (N) を、Eq. 2 を用いて計算した。

$$N = \frac{N_{CMNUC,i}}{N_{NUC,i}} * \frac{V_{LV}}{V_U} \quad \text{Eq. 2}$$

4. 研究成果

(1) SC144 の LVEF に対する効果

SC144 慢性投与群では、溶媒投与群より、P20 の段階で LVEF が有意に低下した (図

2)。一方で、心電図では心拍数、リズム、波形に大きな影響は見られなかった。しかし SC144 は、個々の心室筋細胞の活動電位に伴う L 型 Ca^{2+} チャネル活性や細胞内 Ca^{2+} トランジェントに有意な影響を与えなかった。

以上のことから SC144 は、左心室筋細胞の ECC を変えず、左心室全体の収縮力を低下させたことが判明した。つまり SC144 を投与したマウスでは、左心室筋の組織構造または左心室筋の大きさか数に変化が生じて LVEF が低下した可能性があると考えられた。

(2) SC144 による左心室壁菲薄化

SC144 は、心筋細胞のアポトーシスやネクローシス、心筋組織の繊維化などは生じなかった。しかし SC144 は左心室壁を特異的に菲薄化することが判明した。そして SC144 は個々の心筋細胞の大きさをわずかではあるが有意に小さくし、さらに興味深いことに

右心室心筋細胞分裂には影響を与えず、左心室心筋細胞分裂を特異的かつ著しく抑制することが判明した(図3)。このことから、gp130 受容体が新生児期の左心室筋細胞分裂に重要である可能性が考えられた。

(3) AAV gp130 KO マウスの LVEF と左心室筋細胞分裂

薬理学的実験では、常に薬物の off-target effect に注意が必要である。そこで我々は AAV gp130 KO マウスを作製して、分子生物学的に心筋細胞特異的に gp130 をノックアウトした。AAV gp130 KO マウスは、概ね SC144 投与マウスと同等の形質を示した。すなわち AAV gp130 KO マウスは、AAV control マウスより有意な LVEF の低下を呈し、左心室壁菲薄化が生じた。さらに、AAV gp130 KO マウスでは左心室筋細胞の分裂頻度が有意に低下していた(図4)。

また AAV gp130 KO マウスでは、左心室心筋細胞数が有意に減少していた。(図5) 以上のことは、SC144 の効果は off-target effect ではなく、確かに gp130 を介する on-target effect であったと判断された。

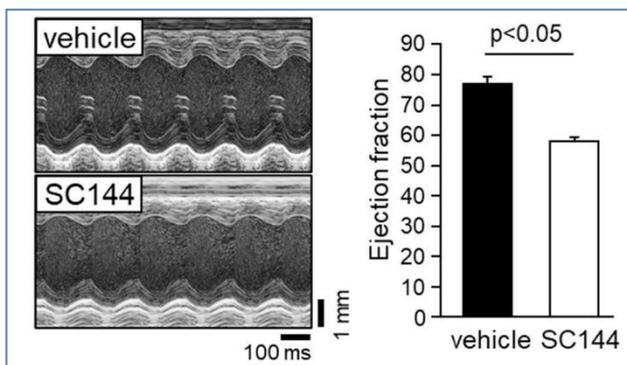


図 2: SC144 による左心室収縮能低下

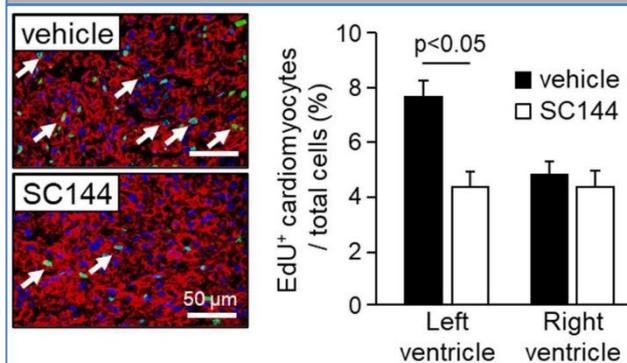


図 3 : SC144 による左心室筋分裂抑制

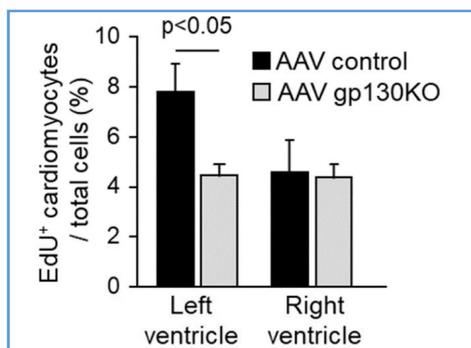


図 4 : 心筋細胞特異的 gp130 ノックアウトの左心室筋細胞分裂能に対する効果

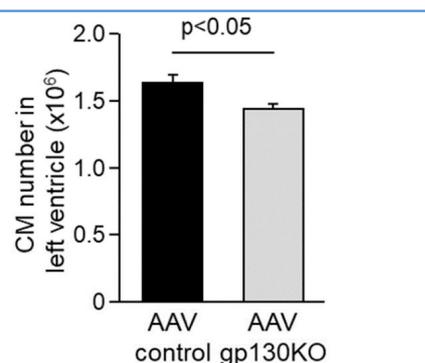


図 5 : gp130 ノックアウトの左心室筋総細胞数に対する効果

(4) 左心室筋細胞分裂を誘導する gp130 リガンド

サイトカイン受容体 gp130 のリガンドとしては、インターロイキン (IL) 6, カルジオリピン 1, 白血病抑制因子などがある。そこで、どの gp130 リガンドが、新生児期の左心室筋分化に重要であるかを、培養新生児心室筋細胞を用いて検討した。その結果、IL6 が gp130 を介して最も強く細胞分裂を刺激することが判明した。さらに、P1, 3 の

マウスに抗 IL6 抗体を注射すると、P4-5 の心室筋細胞の分裂が有意に抑制された。

IL6 は以前に、マウス心筋組織内で、の濃度が出生直後に一過性に増加することが報告されている。したがって本研究は、IL6 が出生直後に gp130 を介して左心室筋細胞の分裂を誘導し、将来の左心室機能を確保する役割を果たすことを、世界で初めて明らかとした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Cui, N., Sakurai, T., Kamiyoshi, A., Ichikawa-Shindo, Y., Kawate, H., Tanaka, M., Tanaka, M., Wei, Y., Kakihara, S., Zhao, Y., Aruga, K., Kawagishi, H., Nakada, T., Yamada, M., Shindo, T.	4. 巻 162
2. 論文標題 Adrenomedullin-RAMP2 and -RAMP3 Systems Regulate Cardiac Homeostasis during Cardiovascular Stress	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 bqab001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/endo/bqab001.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kashihara, T.*, Kawagishi, H.*, Nakada, T., Numaga-Tomita, T., Kadota, S., Wolf, E.E., Du, C.K., Shiba, Y., Morimoto, S., and Yamada, M.	4. 巻 5
2. 論文標題 Beta-Arrestin-Biased AT1 Agonist, TRV027 Causes a Neonatal-Specific Sustained Positive Inotropic Effect without Increasing Heart Rate.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JACC: Basic to Translational Science	6. 最初と最後の頁 1057-1069
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jacbts.2020.08.011.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ichimura, H., Kadota, S., Kashihara, T., Yamada, M., Ito, K., Kobayashi, H., Shiba, N., Chuma, S., Seto, T., Okada, K., Kuwahara, K., and Shiba, Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 Increased Predominance of the Matured Ventricular Subtype in Embryonic Stem Cell-Derived Cardiomyocytes In Vivo.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci. Rep	6. 最初と最後の頁 11883
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-68373-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kashihara Toshihide, Kawagishi Hiroyuki, Nakada Tsutomu, Numaga-Tomita Takuro, Kadota Shin, Wolf Elena E., Du Cheng-Kun, Shiba Yuji, Morimoto Sachio, Yamada Mitsuhiro	4. 巻 5
2. 論文標題 -Arrestin-Biased AT1 Agonist TRV027 Causes a Neonatal-Specific Sustained Positive Inotropic Effect Without Increasing Heart Rate	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JACC: Basic to Translational Science	6. 最初と最後の頁 1057 ~ 1069
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jacbts.2020.08.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Guo Ran, Hu Xiao, Yamada Yosuke, Harada Makoto, Nakajima Takero, Kashihara Toshihide, Yamada Mitsuhiko, Aoyama Toshifumi, Kamiyo Yuji	4. 巻 42
2. 論文標題 Effects of hypertension and antihypertensive treatments on sulfatide levels in serum and its metabolism	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 598 ~ 609
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-018-0160-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Zhang Hao, Kashihara Toshihide, Nakada Tsutomu, Tanaka Satoshi, Ishida Kumiko, Fuseya Satoshi, Kawagishi Hiroyuki, Kiyosawa Kenkichi, Kawamata Mikito, Yamada Mitsuhiko	4. 巻 368
2. 論文標題 Prostanoid EP4 Receptor-Mediated Augmentation of Ih Currents in A Dorsal Root Ganglion Neurons Underlies Neuropathic Pain	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics	6. 最初と最後の頁 50 ~ 58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1124/jpet.118.252767	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Guo Xiaoguang, Kashihara Toshihide, Nakada Tsutomu, Aoyama Toshifumi, Yamada Mitsuhiko	4. 巻 470
2. 論文標題 PDGF-induced migration of synthetic vascular smooth muscle cells through c-Src-activated L-type Ca ²⁺ channels with full-length CaV1.2 C-terminus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pflugers Archiv - European Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 909 ~ 921
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00424-018-2114-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakada Tsutomu, Kashihara Toshihide, Komatsu Masatoshi, Kojima Katsuhiko, Takeshita Toshikazu, Yamada Mitsuhiko	4. 巻 115
2. 論文標題 Physical interaction of junctophilin and the CaV1.1 C terminus is crucial for skeletal muscle contraction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 4507 ~ 4512
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1716649115	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawagishi Hiroyuki, Xiong Jianhua, Rovira Ilsa I., Pan Haihui, Yan Ye, Fleischmann Bernd K., Yamada Mitsuhiko, Finkel Toren	4. 巻 123
2. 論文標題 Sonic hedgehog signaling regulates the mammalian cardiac regenerative response	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Molecular and Cellular Cardiology	6. 最初と最後の頁 180 ~ 184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yjmcc.2018.09.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamada Yosuke, Harada Makoto, Hashimoto Koji, Guo Ran, Nakajima Takero, Kashihara Toshihide, Yamada Mitsuhiko, Aoyama Toshifumi, Kamijo Yuji	4. 巻 36
2. 論文標題 Impact of chronic kidney dysfunction on serum Sulfatides and its metabolic pathway in mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Glycoconjugate Journal	6. 最初と最後の頁 1 ~ 11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10719-018-9850-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 Mitsuhiko Yamada, Hiroyuki Kawagishi, Shin Kadota, Yuji Shiba, Sachio Morimoto
2. 発表標題 Cardiac AT Receptor/ -Arrestin Pathway is a Neonatal-Specific Druggable Target for Pediatric Heart Failure
3. 学会等名 Experimental Biology 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mitsuhiko Yamada
2. 発表標題 Cardiac AT1 receptor/beta-arrestin pathway is a neonatal-specific druggable target for pediatric heart failure
3. 学会等名 CVMV2020 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mitsuhiko YAMADA, Toshihide KASHIHRA, Hitoshi NISHIMURA
2. 発表標題 Cardiac AT1 receptor/beta-arrestin axis is a novel druggable target for pediatric heart failure.
3. 学会等名 The 12th Annual Meeting of Japanese Safety Pharmacology Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mitsuhiko YAMADA, Toshihide KASHIHRA, Hitoshi NISHIMURA
2. 発表標題 Molecular mechanism underlying cardiac early afterdepolarization induced by IKr and IKs suppression
3. 学会等名 The 11th Annual Meeting of Japanese Safety Pharmacology Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroyuki Kawagishi, Tsutomu Nakada, Takuro Numaga-Tomita, Mitsuhiko Yamada
2. 発表標題 Postnatal loss of gp130 caused impaired cardiac contractility accompanied by inhibition of physiological proliferation of cardiomyocytes.
3. 学会等名 NIPS International Meeting on Cardiovascular Physiology 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 富田拓郎、高橋弘毅、山田充彦
2. 発表標題 小胞体Caセンサー-STIM1によるCaV1.2チャネル抑制メカニズムの解明
3. 学会等名 第142回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川岸裕幸、柏原俊英、富田拓郎、中田勉、山田充彦
2. 発表標題 アレスチンバイアスアンジオテンシン1型受容体アゴニストは、新生児特有の持続性陽性変力作用を示す
3. 学会等名 第142回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中田勉、川岸裕幸、富田拓郎、山田充彦
2. 発表標題 ジャンクトフィリン2変異体の強制発現による心機能低下
3. 学会等名 第67回中部日本生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 富田（沼賀）拓郎、川真田樹人、山田充彦
2. 発表標題 HCN チャネル阻害薬による神経障害性疼痛の治療法
3. 学会等名 第143回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川岸 裕幸、山田 充彦
2. 発表標題 新たな方法でAT1 受容体を利用した小児心不全治療薬の開発
3. 学会等名 第143回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田 充彦
2. 発表標題 Ca ²⁺ チャネルアゴニストFPL64176の分子作用メカニズム
3. 学会等名 第143回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田充彦
2. 発表標題 小児心不全では、AT1アンジオテンシン受容体を抑制すべきか刺激すべきか？
3. 学会等名 第56回日本小児循環器学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川岸裕幸、柏原俊英、富田拓郎、中田勉、山田充彦
2. 発表標題 アンジオテンシンII 1型受容体- アレスチン経路を活性化する小児心不全治療薬の開発
3. 学会等名 第30回日本循環薬理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 富田拓郎、小林誠、川岸裕幸、中田勉、山田充彦
2. 発表標題 血管平滑筋細胞におけるL型電位依存性カルシウムチャネルとストア作動性カルシウムチャネルの関係性解明
3. 学会等名 第30回日本循環薬理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田充彦
2. 発表標題 AT1受容体 / アレスチン経路は小児心不全の治療標的となる
3. 学会等名 第12回日本安全性薬理研究会・学術年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yamada, M
2. 発表標題 A beta arrestin-bias AT1 receptor agonist improves the survival of neonatal knock-in mice bearing a human dilated cardiomyopathy mutation
3. 学会等名 The 50th NIPS International Symposium. 'MIRACLES' in Cardiovascular Physiology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kashihara, T., Guo, X., Nakada, T., Yamada, M.
2. 発表標題 PDGF induces migration of synthetic vascular smooth muscle cells through c-Src-dependent activation of full-length CaV1.2 L-type Ca2+ channels
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018)（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakada, T., Kashihara, T., Komatsu, M., Yamada, M.
2. 発表標題 Physical interaction of junctophilins and CaV1.1 subunits is essential for the excitation-contraction coupling of the skeletal muscle.
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018)（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamada, M.
2. 発表標題 Molecular mechanisms underlying spatiotemporal regulation of L-type Ca ²⁺ channels in muscles.
3. 学会等名 Logic of life: ion channel structure, function and physiology. International commemorative symposium in celebration of retirement of Professor Yoshihisa Kurachi (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsutomu Nakada, Toshihide Kashihara, Masatoshi Komatsu, Mitsuhiko Yamada
2. 発表標題 Interaction of junctophilins and the CaV1.1 is essential for the skeletal muscle contraction
3. 学会等名 FAOPS 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamada, M., Zhang, H., Kashihara, T., Nakada, T., Tanaka, S., Ishida, K., Fuseya, S., Kawagishi, H., Kiyosawa, K., Kawamata, M.
2. 発表標題 EP4 receptor-mediated augmentation of Ih currents in A-beta DRG neurons underlies neuropathic pain
3. 学会等名 FAOPS 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 山田充彦	4. 発行年 2019年
2. 出版社 洋學社	5. 総ページ数 244
3. 書名 熱血 循環器学 (井上信孝 編)	

1. 著者名 井上信孝、山田充彦	4. 発行年 2019年
2. 出版社 洋學社	5. 総ページ数 244
3. 書名 熱血 循環器学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>信州大学医学部分子薬理学教室ホームページ http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/medicine/chair/i-yakuri/index.html 信州大学医学部分子薬理学教室ホームページ http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/medicine/chair/i-yakuri/index.html 信州大学医学部ホームページ http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/medicine/department/medical_science/course/course06.php Shinshu University Graduate School of Medicine http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/medicine/eng/graduate/course/36518.html</p>
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
ドイツ	ドレスデン工科大学		